บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. สารเคมีและการเตรียมสารเคมี (ภาคผนวก ค)

1.1 Aceton 90 %
1.2 Ammonium cloride stock solution
1.3 Ammonium Molybdate reagent
1.4 Catalyst
1.5 Digestion solution
1.6 Feroin indicator
1.7 Ferrous ammonium sulfate
1.8 Nessler reagent
1.9 Petroleum ether
1.10 Phenoldisulfonic acid solution
1.11 Phenolphthatein indicator
1.12 Screened methylred indicator
1.13 Sodium hydroxide (1.25 %)
1.14 Sodium hydroxide (6 N)
1.15 Sodium hydroxide (0.1 N)
1.16 Stabilizer reagent (EDTA reagent)
1.17 Standard nitrate solution
1.18 Standnous chloride reagent
1.19 Sulfuric acid (0.1 N)
1.20 Sulfuric acid (1.25 %)
1.21 Sulfuric acid reagent
1.22 Zinc sulfate solution

2. เครื่องแก้ว

2.1 กระบอกตวงขนาดต่าง ๆ
2.2 จานเลี้ยงเชื้อ (Petridish)
2.3 หลอดทดลอง (Test tube)
2.4 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
2.5 บีกเกอร์ (Beaker)
2.6 ปิเปต (Pipette)
2.7 ขวดบีโอดี (BOD bottle)
2.8 บิวเรต (Burette)
2.9 หลอดหยด (Dropper)
2.10 ขวดน้ำเกลือขนาด 2 ลิตร
2.11 กระดาษกรอง Millipore AA filter paper
2.12 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
2.13 ผ้ากรองไนลอนขนาด 100 μm

3. วัสดุอุปกรณ์อื่น ๆ

3.1 <u>เครื่องมือ</u>

3.1.1 เครื่อง spectrophotometer

3.1.2 ความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)

3.1.3 เครื่องวัดออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO meter)

3.1.4 เครื่องวัดออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD Prob meter)

3.1.5 เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Electrical balance)

3.1.6 เครื่องปั๊มอากาศ (Air pump)

3.1.7 เครื่องกรองสุญญากาศ (Suction pump)

3.1.8 เครื่องดูดความชื้น (Desiccator)

3.1.9 ตู้อบแห้งอุณหภูมิสูง (Hot air oven)

3.1.10 ตู้ถ่ายเชื้อ (Transfer chamber)

3.1.11 ตู้อบ (Incubator)

3.1.12 hot plate ที่อุณหภูมิ 50 – 100 องศาเซลเซียส

3.1.13 หม้อนึ่งอัดไอ (Autocave)

3.1.14 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.1.15 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

3.1.16 กล้องถ่ายรูปพร้อมกับกล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ

3.1.17 ชุดย่อยและกลั่น (Digestion and Distillation set)

3.1.18 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน

3.1.19 เครื่องย่อยเยื่อใยอาหาร (Crude fiber apparatus)

3.1.20 เตาเผา (Muffle furnace)

3.1.21 เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)

3.2 <u>อุปกรณ์อื่น ๆ</u>

3.2.1 stock culture ของ *S. platensis*

3.2.2 น้ำเสียจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกรจากบ่อ UASB โครงการก๊าซชีวภาพไทย - เยอรมัน สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

3.2.3 น้ำประปาเพื่อใช้ปรับความเข้มข้นต่างๆของน้ำเสียจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกร

3.2.4 ถังน้ำ

3.2.5 ถาดอลูมิเนียม

3.2.6 บ่อซีเมนต์เลี้ยง *S. platensis* ขนาดความจุ 200 ลิตร 18 บ่อ

3.2.7 ถุงมพลงก์ตอนพืช

แผนการดำเนินงานและวิธีการวิจัย

1. เตรียมหัวเชื้อสาหร่าย (algal inoculum)

1.1 นำ *S. platensis* เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร Zarrouk's medium ในขวดน้ำเกลือขนาด 2 l. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ (Optical Density ; OD) ที่ความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร ได้ประมาณ 1.0 แล้วใช้เป็นสาหร่ายตั้งต้นต่อไป

1.2 นำ *S. platensis* ที่มีค่า OD เท่ากับ 1.0 เพาะเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 200 l (ภาพ 10) โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงตามสูตร ดังตาราง 18 (ภาคผนวก ค)

ภาพ 5 Stock Culture ของ *S. platensis*

1.3 เติมหัวเชื้อ (inoculum) ตั้งต้น 20 % โดยปริมาตร ให้อากาศโดยใช้เครื่องปั๊มอากาศ เพื่อให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำและป้องกันไม่ให้สาหร่ายตกตะกอน ให้แสงสว่างความเข้มแสงประมาณ 5,500 ลักซ์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง วัดการเจริญโดยวัดค่า OD เมื่อค่า OD เท่ากับ 1 แล้วใช้เป็นหัวเชื้อสาหร่ายในการทดลองต่อไป

2. วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) แบ่งเป็น 3 treatment ซึ่งมีน้ำเสีย 10 , 30 , 50 % (T1 , T2 , T3) แต่ละ Treatment มี 3 ซ้ำและชุดควบคุม ทำการเพาะเลี้ยงใช้เวลา 30 วัน ใช้บ่อซีเมนต์ปริมาตร 200 ลิตร จำนวน 18 บ่อ

ภาพ 6 บ่อเพาะเลี้ยง *S. platensis*

3. ขนน้ำจากบ่อ UASB ตรงบริเวณบ่อน้ำทิ้ง จุด A (ภาพ 7) ไปภาควิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

ภาพ 7 บ่อแบบ UASB

4. เตรียมน้ำสำหรับเพาะเลี้ยง นำน้ำทิ้งจากบ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกรมาพักในถังไฟเบอร์ ขนาด 1 ตัน (ภาพ 8) ประมาณ 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นใช้ผ้าไนลอนขนาดตาข่าย 100 µm กรองตะกอนทิ้ง ส่วน

น้ำที่ได้นำไปเติมในบ่อเพาะเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 10 , 30 , 50 % เพื่อเป็นอาหารในการเลี้ยง *S . platensis* ปรับ pH โดยใช้ NaOH 6 N ให้ได้ pH อยู่ในช่วง 10 ± 1 แล้วนำน้ำไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และ ชีวภาพก่อนการทดลอง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ในข้อ 5.2

ภาพ 8 ถังพักน้ำจากบ่อ UASB

5. นำหัวเชื้อสาหร่าย (inoculum) จากข้อ 1.3 ที่มีค่า OD เท่ากับ 1 เติมลงบ่อเพาะเลี้ยง *S . platensis* แต่ละ treatment โดยเติมบ่อละ 20 % โดยปริมาตร ส่วนชุดควบคุมไม่ได้เติมเชื้อสาหร่าย

5.1 เก็บผลผลิตเบื้องต้นของ *S . platensis* ทั้ง 3 ความเข้มข้น ยกเว้นชุดควบคุมทุก 3 วัน ในรูปของมวลชีวภาพ (Biomass) โดยการกรองสาหร่ายด้วยผ้าในลอนขนาดตาข่าย 100 μm นำไปตากแห้ง บรรจุในถุงพลาสติกโดยแยกเก็บแต่ละ treatment เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ *S . platensis* และตรวจวัดปริมาณ Chlorophyll – a โดยวิธี Cold acetone 90 % (APHA , AWW and WPCF, 1985 ; ศิริเพ็ญ, 2543) ในการตรวจวัด Chlorophyll – a เมื่อมีค่า Chlorophyll – a ลดลงจะเก็บมวลชีวภาพทั้งหมดในบ่อเพาะเลี้ยง *S . platensis*

5.2 เก็บคุณภาพน้ำด้านกายภาพ เคมี และ ชีวภาพ ในน้ำเสีย 10 , 30 , 50 % และชุดควบคุม (Control) ทุก 3 วัน โดยใช้คู่มือวิเคราะห์น้ำ (APHA , AWW and WPCF, 1985 ; ศิริเพ็ญ, 2543)

- วัดอุณหภูมิของน้ำและอากาศโดยใช้ Thermometer
- วัด pH ของน้ำโดยใช้ pH meter
- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen ; DO) โดยใช้ DO meter
- ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand ; BOD) โดยใช้ BOD Probe meter

- ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical Oxygen Demand ; COD) โดยใช้วิธี Closed Reflux
- ปริมาณแอมโมเนีย - ไนโตรเจน (NH_3-N) โดยวิธี Direct Nesslerzation
- ปริมาณไนเตรท - ไนโตรเจน (NO_3 - N) โดยวิธี Phenoldisulphonic Acid Method B
- ปริมาณ Orthophosate - P โดยวิธี Stannous Chloride

5.3 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของ *S. platensis* นำ *S. platensis* ในข้อ 5.1 ไปวิเคราะห์โดยใช้คู่มือวิเคราะห์อาหาร (นิวุติและสุฤทธิ์, 2539)

- โปรตีน โดยวิธี Semi - micro Kjeldahl method
- ไขมัน โดยวิธี Simple extraction
- คาร์โบไฮเดรต โดยวิธีของนิวุติและสุฤทธิ์
- ความชื้น โดยวิธีอบแห้ง (drying method)
- เถ้า โดยการเผาที่อุณหภูมิ 450 ^{0}C
- เยื่อใย โดยวิธี Uric acid และ Potassium hydroxide

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

6.1 เปรียบเทียบผลผลิตเบื้องต้นของ *S. platensis*

6.2 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และ ชีวภาพ ก่อน ระหว่าง และหลังการเพาะเลี้ยง *S. platensis*

6.3 ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของ *S. platensis*

สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. บ่อหมักก๊าซชีวภาพมูลสุกรไทย – เยอรมัน สถาบันวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. หน่วยวิจัยแพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต. หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2541 – มิถุนายน 2542 รวมระยะเวลา 1 ปี