

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

1. สไลด์
2. คอปเปอร์ และลูกยาง
3. คอปเปอร์ปลายแตก
4. สายยาง
5. หลอดทดลอง
6. ขวดโหลแก้ว
7. กระบอกตวง
8. ปีกเกอร์ขนาด 50 มล. 100 มล. และ 1,000 มล.
9. ไมโครทิว
10. คิวเวต
11. สไลด์นับเม็ดเลือด
12. ที่กดยับจำนวน
13. เครื่องมือวัดแสง
14. เทอร์มิเตอร์
15. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
16. เครื่องปั่นเหวี่ยง
17. กล้องจุลทรรศน์
18. กล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพ
19. ฟอर्मาลีน

3.2 แผนการทดลอง

1. ศึกษาการใช้เกลือแทนน้ำทะเลต่อการเจริญเติบโตของคีโตซีรอส และคลอเรลลา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการเพาะเลี้ยงคีโตซีรอส และคลอเรลล่า เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตที่เพาะเลี้ยงในน้ำเกลือ และน้ำทะเลที่ระดับความเค็มต่างกัน โดยแบ่งชุดทดลองออกเป็น 5 ชุด ตามระดับความเค็ม 20, 25, 30, 35 และ 40 ppt ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ

1.1 การเตรียมคลอเรลล่า และคีโตซีรอส

เลี้ยงคลอเรลล่า และคีโตซีรอสในอาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตรคอนวีย์ (Conwy medium) ที่ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน

1.2 เตรียมสูตรอาหารคอนวีย์สำหรับเลี้ยงสาหร่าย

1.3 การเตรียมน้ำ

1.3.1 การเตรียมน้ำทะเล

นำน้ำทะเลไปฆ่าเชื้อโดยวิธีการต้มให้เดือด หลังจากนั้นปรับความเค็มให้ได้ 20, 25, 30, 35 และ 40 ส่วนในพันส่วน

1.3.2 การเตรียมน้ำเกลือ

นำเกลือเม็ดมาละลายในน้ำต้มในอัตราส่วน เกลือเม็ด 1.2 กรัม/น้ำ 1 ลิตร จะได้ความเค็มเท่ากับ 1 ส่วนในพันส่วน ให้ได้ความเค็ม 20, 25, 30, 35 และ 40 ส่วนในพันส่วน

1.4 การทดลอง

นำน้ำเค็มที่เตรียมได้จากข้อ 1.3.1 และ 1.3.2 ใส่ลงในโหลแก้วขนาด 650 มิลลิลิตร ในปริมาตร 460 มิลลิลิตร และเติมอาหารเลี้ยงสาหร่ายปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แบ่งการทดลองเป็นสองชุด คือ ชุดแรกจะศึกษาการเจริญเติบโตของคลอเรลลาก็จะใส่หัวเชื้อคลอเรลลาลงไปในปริมาตร 40 มิลลิลิตร และชุดที่สองศึกษาการเจริญเติบโตของคีโตซีรอสก็ใส่หัวเชื้อคีโตซีรอส ลงไปในปริมาตร 40 มิลลิลิตร

2. ศึกษาการใช้เกลือแทนน้ำทะเลต่อลักษณะเซลล์ของคีโตซีรอส และคลอเรลลา

2.1 ศึกษาลักษณะของเซลล์คลอ

2.1.1 นำเซลล์คีโตซีรอสไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge 1,500 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง

2.1.2 เตรียมน้ำเกลือที่ความเข้มข้น 0 ppt และ 150 ppt สำหรับปรับความเค็มให้ได้ 0, 5, 10, 15 และ 50, 60, 70, 80 และ 90 ppt

2.1.3 นำเซลล์ในแต่ละความเค็มไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และผนังเซลล์

2.2 ศึกษาลักษณะของเซลล์คลอเรลลา

2.2.1 นำเซลล์คลอเรลลาไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge 1,500 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง

2.2.2 เตรียมน้ำเกลือที่ความเข้มข้น 0 และ 150 ppt สำหรับปรับความเค็มให้ได้ 0, 10, และ 80, 90 และ 100 ppt

2.2.3 นำเซลล์ในแต่ละความเค็มไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และผนังเซลล์

2.2.4 ถ่ายภาพเซลล์

3.3 การบันทึกข้อมูล

บันทึกความหนาแน่นของเซลล์คลอเรลล่า และคีโตซีรอส วันเว้นวัน เป็นเวลา 14 วัน นำเซลล์ที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร และนับจำนวนเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟ ส่วนการศึกษาลักษณะของเซลล์คีโตซีรอส และคลอเรลล่า ที่ปรับความเค็มระดับต่างๆไปถ่ายภาพเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเซลล์

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลค่าดูดกลืนแสงมาเทียบเป็นจำนวนเซลล์ในแต่ละชุดการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวน และหาค่าเฉลี่ยแบบ One-way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS

3.5 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคุณภาพน้ำ และห้องเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล
หลักสูตรวิทยาศาสตรการประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6 ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนตุลาคม 2554 – เดือนกันยายน 2555