

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

บ่อทดลองและขั้นตอนต่างๆในการทดลอง



ภาพผนวก 1 สถานที่ใช้ในการทดลอง



ภาพผนวก 2 ชุดการทดลองที่ 1 (T1) ป่อดินปูพลาสติก



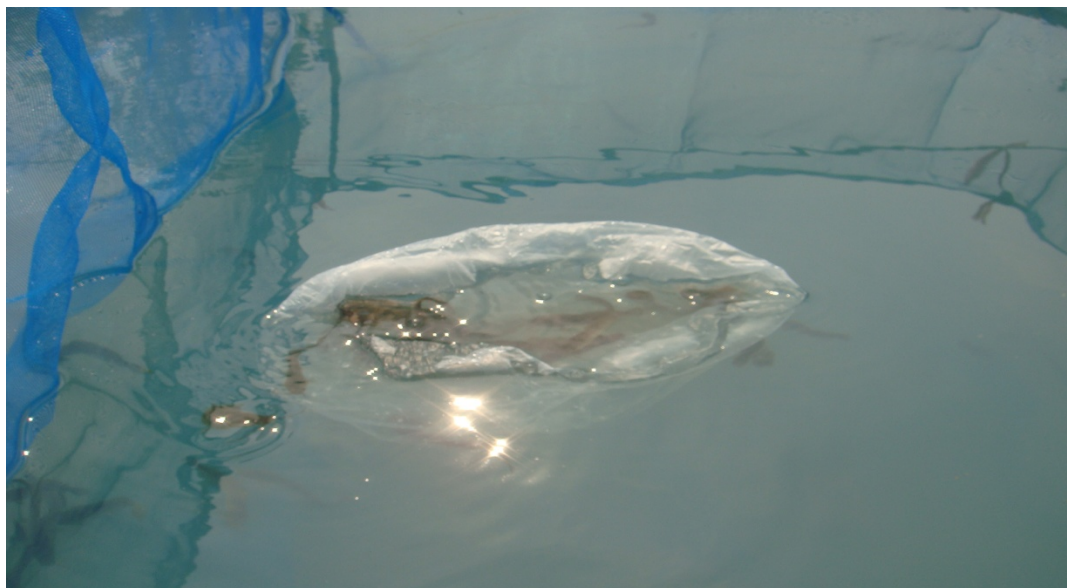
ภาพผนวก 3 ชุดการทดลองที่ 2 (T2) ป่อซีเมนต์



ภาพผนวก 4 ชุดการทดลองที่ 3 (T3) ป่อซีเมนต์ในโรงเรือนพลาสติก



ภาพผนวก 5 การวางกระชังในบ่อในแต่ละชุดการทดลอง



ภาพผนวก 6 การปล่อยลูกปลูกลูกปลาตุกรัสเซีย



ภาพผนวก 7 การสุ่มชั่งน้ำหนักขณะดำเนินการทดลอง



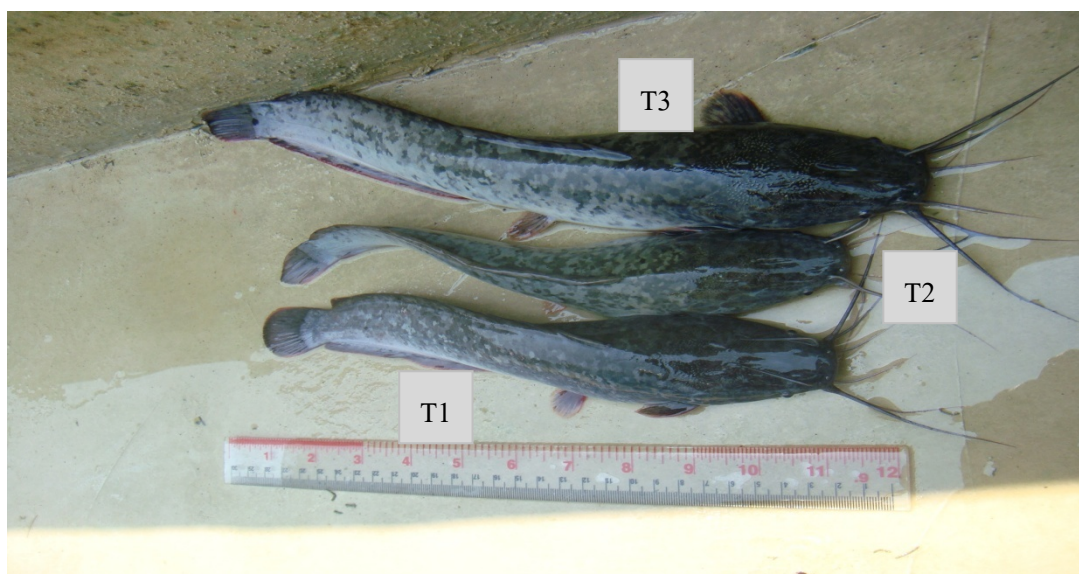
ภาพผนวก 8 การวัดความยาวขณะดำเนินการทดลอง



ภาพผนวก 9 การเก็บอุณหภูมิในรอบวันขณะดำเนินการทดลอง



ภาพผนวก 10 การถ่ายน้ำขณะดำเนินการ



ภาพผนวก 11 เปรียบเทียบขนาดของปลาคูกรัสเซียในบ่อเลี้ยงที่ต่างกัน



ภาพผนวก 12 ขนาดปลาที่จับขายในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนพลาสติก

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen)

การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia nitrogen)

แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในแหล่งน้ำเกิดขึ้นจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ เช่น โปรตีนและการขับถ่ายของเสียของสัตว์น้ำ แอมโมเนียในแหล่งน้ำ ปรากฏอยู่ 2 รูปแบบคือ NH_3 และ NH_4^+ จะเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิของแหล่งน้ำ แอมโมเนียในรูป NH_3 ในปริมาณที่เข้มข้นจะเกิดพิษต่อสัตว์น้ำหลายอย่าง เช่น การระคายเคืองของเหงือก การหายใจ การขับถ่ายของเสีย ความเป็นกรด-ด่าง ในเลือดสูง รบกวนกระบวนการบางอย่างของเอนไซม์บางตัว เป็นต้น ระดับความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อมอื่นๆประกอบด้วย

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer และ Cuvette
2. กระดาษกรอง
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปิเปต

สารเคมี

1. Oxidizing solution

เตรียมสารโซเดียมโปคลอไรด์ (5%) หรือ ใช้น้ำยาฟอกสี เช่น ไฮเตอร์, คลอโรกซ์ ที่มีคลอรีน ประมาณ 5% จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ระหว่าง 6.5-7.0 ด้วยกรดเกลือ (HCL) สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกอาทิตย์

2. Rochelle salt solution

ละลายสาร Rochelle salt ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 50 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรแล้วต้ม 30 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วเติม Manganoussulphate (MnSO_4) 50 มก. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

3. Phenate solution

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 2.5 กรัม และฟีนอล (Phenol) 10 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร ให้เก็บไว้ในตู้เย็น (ควรเตรียมใหม่ทุกอาทิตย์)

4. Standard ammonium chloride solution

ชั่ง NH_4Cl อบแห้ง 3.819 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1,000 มก./ลิตร จากนั้นดูดสารละลายมาจำนวน 5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10 มก./ลิตร จากนั้นดูดสารละลาย 15 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.3 มก./ลิตร ใช้เป็น Standard ammonium chloride solution

วิธีการ

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรอง Syringe Filters จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง (test tube)

2. ขณะที่เข่าน้ำตัวอย่างใน หลอดทดลอง (test tube) เติมสารละลายเหล่านี้ลงในน้ำตัวอย่าง

- Rochelle salt solution 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- Oxidizing solution 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- Phenate solution 300 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3. ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที เพื่อให้สารละลายทำปฏิกิริยาเต็มที่

4. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่คลื่น 630 นาโนเมตร (nm)

พร้อม Reagent blank โดยใช้ น้ำกลั่น และเตรียม Standard solution โดยใช้ Standard Ammonium chloride (0.3 มก./ลิตร) อย่างละ 5 มิลลิลิตร แทนน้ำตัวอย่างและเติมสารละลายในข้อ 2

5. คำนวณค่าความเข้มข้นแอมโมเนียโดยเปรียบเทียบกับสารละลายแอมโมเนีย

มาตรฐาน

ดังนี้ คำนวณปริมาณ Total ammonia nitrogen ด้วยสมการ

$$C1 = A1 \quad \text{หรือ} \quad C2 = \frac{C1 \times A2}{A1}$$

$$C2 = A2$$

C1 = ความเข้มข้นของ Total ammonia nitrogen ใน Standard solution (0.3)

C2 = ความเข้มข้นของ Total ammonia nitrogen ใน Sample

A1 = ค่า Absorbance ของ Standard solution

A2 = ค่า Absorbance ของ Sample

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจน (Nitrite-nitrogen)

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจน (Nitrite nitrogen)

ไนไตรท์-ไนโตรเจน เป็นสารประกอบไนโตรเจนรูปแบบหนึ่ง โดยเกิดกึ่งกลางระหว่างการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียเป็นไนเตรท (Nitrification) และไนเตรทเปลี่ยนกลับเป็นแอมโมเนีย (Denitrification) ถ้าน้ำมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอไนไตรท์จะออกซิไดส์ (Oxidation) ไปเป็นไนเตรท ได้รวดเร็ว แต่ถ้าน้ำขาดออกซิเจนพวกจุลินทรีย์จะรีดิวซ์ (Reduced) ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ ทำให้สีโมโกบินในเลือดปลามีประสิทธิภาพรับออกซิเจนน้อยลง ความเป็นพิษของไนไตรท์-ไนโตรเจน ต่อปลาและสัตว์น้ำจะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลาและสัตว์น้ำ แต่มักเกิดในปริมาณต่ำ

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer และ Cuvette
2. กระดาษกรอง
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปิเปต

สารเคมี

1. Diazotizing Reagent

ชั่งสาร Sulfanilamide 5 กรัม ละลายในสารละลายกรดเกลือ โดยใช้กรดเกลือ (HCL) เข้มข้นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร 500 มิลลิลิตร

2. Coupling Reagent

ชั่ง N-(1-naphthyl)-ethylenediamine-dihydrochloride 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา เตรียมสารละลายใหม่ทุกเดือนหรือเมื่อสารละลายเป็นสีน้ำตาล

3. Standard Nitrite Solution

เตรียมสารละลาย Standard nitrite (NaNO_2) 0.4925 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (ได้สารละลายความเข้มข้น 100 มิลลิลิตร $\text{NO}_2\text{-N}$) คุ้ดสารละลาย Standard Nitrite

Solution (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม $\text{NO}_2\text{-N}$) จำนวน 10 มิลลิกรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิกรัม (ได้สารละลายความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม $\text{NO}_2\text{-N}$) ใช้สารละลาย $\text{NO}_2\text{-N}$ ที่มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมเป็น Standard Solution เจือจางสารละลาย (ตารางผนวก 2)

ตารางผนวก 1 ระดับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไนโตรเจน

ปริมาตร $\text{NO}_2\text{-N}$ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ ปริมาตรครบ 100 มิลลิกรัม	ความเข้มข้นสารละลาย $\text{NO}_2\text{-N}$ (มก./ลิตร)	ค่า Abs ของ สารละลาย $\text{NO}_2\text{-N}$ ที่ วัดได้ (มก./ลิตร)
0.00	0.00	
1.00	0.01	
2.00	0.02	
4.00	0.04	
6.00	0.06	
8.00	0.08	
10.00	0.10	
15.00	0.15	
20.00	0.20	

ปริมาตร $\text{NO}_2\text{-N}$ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิกรัม ต้องทำการดูดด้วย Volumetric pipet ลงใน Volumetric flask จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์สารละลายโดยวิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจน แล้วสร้างกราฟมาตรฐาน (เลือกกราฟแบบ XY กระดาษ) ซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น $\text{NO}_2\text{-N}$ (แกน X) กับค่าการดูดซับแสง (แกน Y) โดยนำเข้าสมการ Regression ลงในโปรแกรม Excel

วิธีการ

1. ตวงน้ำตัวอย่างที่กรองด้วยกระดาษกรอง 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง (test tube)
2. เติมสารละลาย Diazotizing Reagent 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมสารละลาย Coupling Reagent 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ อย่างน้อย 10 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่คลื่น 543 นาโนเมตร (nm) พร้อม Reagent blank โดยใช้น้ำกลั่น และเตรียม Standard solution โดยใช้ Standard Ammonium chloride ที่เจือจาง แทนน้ำตัวอย่างและเติมสารละลายในข้อ 2 และ 3
5. คำนวณค่าความเข้มข้น nitrite nitrogen ($\text{NO}_2\text{-N}$) จากกราฟมาตรฐานที่ได้
6. แปลงค่าความเข้มข้น nitrite nitrogen ($\text{NO}_2\text{-N}$) ให้เป็น Nitrite (มก./ลิตร)

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen)

การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท – ไนโตรเจน (Nitrate nitrogen)

ไนเตรท – ไนโตรเจน เป็นสารประกอบของไนโตรเจนที่พบมากที่สุดในลำธาร ทะเลสาบ ซึ่งจะพบในปริมาณมากหรือน้อยขึ้นกับลักษณะ และวิธีการใช้ที่ดินในทางการเกษตร เนื่องจากไนเตรทเป็นสารประกอบที่สามารถถูกชะล้างได้ง่าย เมื่อมีการไหลผ่านของน้ำบนพื้นดิน ดังนั้น ปริมาณไนเตรทจะลงสู่แหล่งน้ำมากขึ้น เมื่อมีการพังทลายของดินมาก ปริมาณของไนเตรทสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความสมบูรณ์ของแหล่งน้ำได้ โดยปกติจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำน้อย เมื่อเทียบกับไนไตรท์และแอมโมเนีย นอกจากนี้ไนเตรทยังมีประโยชน์ต่อพืชในการดูดซึมไปใช้ในกระบวนการสร้างโปรตีนอีกด้วย ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ จะทำการวิเคราะห์โดยวิธีการเทียบสีกับสารประกอบมาตรฐานที่เตรียมขึ้นจากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทต้องใช้หลักการ Reduce ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ก่อน โดยการผ่านน้ำตัวอย่างไปลงในคอลัมน์ที่บรรจุแคดเมียมเคลือบด้วยทองแดง จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยวิธีการเดียวกับการหาปริมาณไนไตรท์

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer และ Cuvette
2. กระดาษกรอง
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปิเปต
4. คอลัมน์ (Reduction Column)

สารเคมี

1. Diazotizing Reagent

ซึ่งสาร Sulfanilamide 5 กรัม ละลายในสารละลายกรดเกลือ โดยใช้กรดเกลือ (HCl) เข้มข้นปริมาตร 50 ml. ละลายในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

2. Coupling Reagent

ซั่งสาร N – (1 - naphthyl) – ethylenediamine – dihydrochloride 0.500 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา เตรียมสารละลายใหม่ทุกเดือนหรือเมื่อสารละลายเป็นสีน้ำตาล

3. NH_4Cl – EDTA Solution (เข้มข้น)

ซั่งสารละลาย NH_4Cl 125 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

4. NH_4Cl – EDTA Solution (เจือจาง)

ดูดสารละลาย NH_4Cl – EDTA Solution (เข้มข้น) 50 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้เป็น 2,000 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Disodium EthylenediamineTetracetate จำนวน 0.3 กรัม ทำการปรับ pH ให้ได้ 7.5 (โดยเติมสารละลาย NaOH)

5. Stock Nitrate Solution (เข้มข้น)

ซั่งสารละลาย KNO_3 ที่ผ่านการอบแห้ง 0.7218 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

6. Standard Nitrate Solution

ดูดสารละลาย Stock Nitrate Solution (เข้มข้น) ในข้อ 5 ด้วย volumetric pipette จำนวน 50 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

7. Copper sulfate 2%

ซั่งสารละลาย Copper sulfate จำนวน 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

8. กรดเกลือ (HCl) เข้มข้น 6 N

9. ผง Cadmium

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมแคดเมียม (Cadmium)

นำผง Cadmium ประมาณ 25 กรัม แช่ในกรด HCl (กรดเกลือ) เข้มข้น 6 N กวนด้วยแท่งแก้วจนสะอาด (ประมาณ 5 นาที) เทกรดทิ้งและล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้งจนหมดกลิ่นกรด จากนั้นนำสารละลาย Copper sulfate 2% ประมาณ 200 มิลลิลิตร เทลงไป กวนด้วยแท่งแก้วนาน ประมาณ 5 นาที หรือจนกระทั่งสีน้ำเงินจางหายไป สะเก็ดสารละลายให้แห้ง แล้วเติม Copper sulfate 2% ของใหม่ลงไป กวนด้วยแท่งแก้วเหมือนเดิม ทำตามขั้นตอนหลายๆ ครั้ง จนเกิดผลึกสีน้ำตาลเกิดขึ้น จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งไม่มีผลึกสีน้ำตาลติดอยู่

2. การเตรียมคอลัมน์แคดเมียม (Cadmium Column)

เติมน้ำกลั่นลงในคอลัมน์เปล่า จากนั้นตักแคดเมียมที่เตรียมไว้ลงในคอลัมน์ให้ได้ ความสูงประมาณ 18.5 เซนติเมตร รักษาระดับน้ำให้ท่วมแคดเมียม ทำการล้างแคดเมียม โดยใช้สารละลาย $\text{NH}_4\text{Cl} - \text{EDTA}$ Solution (เจือจาง) จำนวน 200 มิลลิลิตร ผ่านคอลัมน์ลงอย่างช้าๆ และให้เตรียมสารละลาย Standard Nitrate Solution จำนวน 100 มิลลิลิตร กับสารละลาย $\text{NH}_4\text{Cl} - \text{EDTA}$ Solution (เข้มข้น) 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทสารละลายลงในคอลัมน์ให้ไหลในอัตรา 7 – 10 มิลลิลิตรต่อนาที

3. การเตรียมน้ำตัวอย่างและการผ่านลงในคอลัมน์

คูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง จำนวน 100 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $\text{NH}_4\text{Cl} - \text{EDTA}$ Solution (เข้มข้น) จำนวน 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงในคอลัมน์ ปล่อยให้ไหลผ่านในอัตรา 7 -10 มิลลิลิตรต่อนาที (ใช้เวลาประมาณ 10 – 15 นาที) ทิ้งไว้ 25 มิลลิลิตรแรกทิ้งและเก็บปริมาตรที่เหลือไว้

4. การสร้างสีและการวัดค่า Abs (การวิเคราะห์ค่าไนเตรท)

คูดสารละลายหลังจากผ่านคอลัมน์ จำนวน 50 มิลลิลิตร โดยผ่านคอลัมน์ต้องไม่เกิน 15 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Diazotizing Reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 2-4 นาที แล้วเติมสารละลาย Coupling Reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้อย่างน้อย 10

นาที่ แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดซับแสง (Abs) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่คลื่น 543 นาโนเมตร (nm)

5. การหา Recovery factor

โดยการดูดสารละลาย Standard Nitrate Solution (0.1 มก./ลิตร) จำนวน 100 มิลลิลิตร มาผสมกับ สารละลาย NH_4Cl – EDTA Solution (เข้มข้น) จำนวน 2 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงในคอลัมน์ ปล่อยให้ไหลผ่านในอัตรา 7-10 มิลลิลิตรต่อนาที ทิ้งน้ำ 25 มิลลิลิตรแรกและเก็บปริมาตรที่เหลือไว้

ดูดสารละลายที่เก็บไว้ 50 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Diazotizing Reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 2-4 นาที แล้วเติมสารละลาย Diazotizing Reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดซับแสง (Abs) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่คลื่น 543 นาโนเมตร (nm)

หาค่า F (Recovery factor) $= (0.1 \text{ มิลลิลิตร/ลิตร} \text{ ของ Nitrite nitrogen} \times 100) /$
(ความเข้มข้นของ Nitrite nitrogen)

คำนวณหาค่าความเข้มข้น Nitrate nitrogen ดังนี้

$$\text{Nitrate nitrogen (mg/l)} = \{(A-B) \times F\} / 100$$

โดยที่ A = ความเข้มข้นของไนไตรท์ ที่ผ่าน Column

B = ความเข้มข้นของไนไตรท์ ที่ไม่ผ่าน Column

F = Recovery factor

ทำการแปลงค่า Nitrate nitrogen ให้เป็น Nitrate (มก./ลิตร) โดยคูณด้วย 4.43

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ปริมาณออร์โธฟอสเฟต(Ortho-phosphate)

การวิเคราะห์ปริมาณออร์โธฟอสเฟต

ออร์โธฟอสเฟต เป็นธาตุอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อสิ่งที่มีชีวิตในแหล่งน้ำ โดยปกติแหล่งน้ำตามธรรมชาติจะพบธาตุนี้ในปริมาณน้อย ซึ่งนับเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อผลผลิตทางชีวภาพ ความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ ในแง่ของธาตุอาหารธรรมชาติ ฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำพบได้หลายรูปแบบ ทั้งในรูปของสารละลายและสารแขวนลอยในรูปของสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ แต่ในที่สุดทุกรูปแบบจะสลายตัวไปอยู่ในรูปแบบอื่น ๆ ต้องทำการย่อยให้สลายตัวอยู่ในรูปของ Orthophosphate ก่อนทำการวิเคราะห์

วิธีวิเคราะห์แบบ Stannous Chloride

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer และ Cuvette
2. กระจกกรอง
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปิเปต

สารเคมี

1. Ammonia molybdate solution

เตรียมสารละลาย Ammonia molybdate $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร นำสารละลายดังกล่าว เติมลงในสารละลายกรด H_2SO_4 (ละลายกรด H_2SO_4 56 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร) แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 200 มิลลิลิตร

2. Stannous chloride solution

เตรียมสารละลาย Stannous chloride ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 2.5 กรัมละลายใน Glycerol ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยใช้อ่างน้ำร้อน (water bath) ในการทำละลาย

3. Stannous phosphate solution

เตรียมสารละลาย KH_2PO_4 จำนวน 0.2195 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (ได้สารละลายเข้มข้น 50 มก./ลิตร $\text{PO}_4\text{-P}$) ผสมสารละลาย Stannous phosphate solution ที่คำนวณ

จำนวน 50 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร (ได้สารละลายเข้มข้น 5 มก./ลิตร $\text{PO}_4\text{-P}$) เพื่อใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน ดังนี้

ตารางผนวก 2 ระดับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานออร์โธฟอสเฟต

ปริมาตร $\text{PO}_4\text{-P}$ ความเข้มข้น 5.0 มก./ลิตร เจือ จางด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น สารละลาย $\text{PO}_4\text{-P}$ (มก./ลิตร)	ค่า Abs ของสารละลาย $\text{PO}_4\text{-P}$ ที่วัดได้ (มิลลิลิตร/ลิตร)
0.00	0.00	
0.50	0.025	
1.00	0.050	
2.00	0.100	
5.00	0.250	
10.00	0.500	
15.00	0.750	

ปริมาตร $\text{PO}_4\text{-P}$ ความเข้มข้น 5.0 มก./ลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องทำการดูดด้วย Volumetric pipe ลงใน Volumetric flask จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์สารละลายโดยวิธีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสแล้วสร้างกราฟมาตรฐาน (เลือกกราฟแบบ XY กระฉาย) ซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น $\text{PO}_4\text{-P}$ (แกน X) กับค่าการดูดซับแสง (แกน Y) โดยนำเข้าสมการ Regression ลงในโปรแกรม Excel

วิธีการ

1. ควบน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง 25 มิลลิลิตร ลงใน บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลาย Ammonia molybdate Solution จำนวน 1 มิลลิลิตร เหย้าให้เข้ากัน และเติมสารละลาย Stannous chloride solution 5 หยด เหย้าให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที แต่ไม่เกิน 12 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่คลื่น 690 นาโนเมตร พร้อมกับ Reagent blank โดยใช้น้ำกลั่น แทนตัวอย่างน้ำและเติมสารละลายในข้อ 2.
4. คำนวณค่าความเข้มข้นฟอสฟอรัส (Phosphorus) จากกราฟมาตรฐาน
5. ทำการแปลงค่า $\text{PO}_4\text{-P}$ ให้เป็น PO_4 (มก./ลิตร) โดยคูณด้วย 3.0

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ (Chlorophyll-a)

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ (Chlorophyll -a)

การวัดความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศน์แหล่งน้ำ ทำได้โดยการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอและมวลชีวภาพของสาหร่าย (Algae biomes) มีปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการสร้างคือ สารอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ฟอสฟอรัส โดยปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ของแพลงก์ตอนพืชเป็นดัชนีบ่งบอกถึงผลผลิตเบื้องต้น (Primary productivity) ของแหล่งน้ำ ซึ่งปริมาณคลอโรฟิลล์-เอจะขึ้นกับปริมาณแอมโมเนีย ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ฯลฯ

อุปกรณ์

1. เครื่องกรองตัวอย่างน้ำพร้อมอุปกรณ์
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
3. Spectrophotometer และ Cuvette
4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว

สารเคมี

1. Methanol 90%

ตวงน้ำกลั่น 100 มิลลิตร ใส่ใน volumetric flask แล้วเติม methanol ลงไปปรับปริมาณให้ครบ 1,000 มิลลิตร ควรเก็บไว้ในขวดสีชา

วิธีการ

1. กรองน้ำตัวอย่างประมาณ 50-100 มิลลิตร (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอ โดยสังเกตจากสีของน้ำ) ด้วยเครื่องกรองน้ำ (Vacuum pump) โดยใช้กระดาษกรองแบบ GF/C หรือแบบ Membrane
2. ใส่ Methanol 90% ในหลอด 10 มิลลิตร จากนั้นนำกระดาษที่กรองในข้อ 1. ใส่ลงไปหลอดที่เตรียมไว้ ห่อด้วยกระดาษฟอยด์ นำไปต้มในน้ำที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

3. จากนั้นนำเอามาปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที

เพื่อให้สารละลายตกตะกอน นำสารที่ตกตะกอนแล้วไปทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน รมั้ควรระวังอย่าให้หลอดกระทบกระเทือน

4. นำสารไปวัดค่าการดูดซับคลื่นแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 750, 665, 645 และ 630 นาโนเมตร

5. การคำนวณ

คลอโรฟิลล์-เอ (ไมโครกรัม/ลิตร) = $(11.6 D_{665} - 1.31 D_{645} - 0.14 D_{630}) \times F$

$F = (\text{ปริมาณรวมของสารที่สกัด (มิลลิลิตร) / ปริมาณน้ำตัวอย่าง (ลิตร)} \times 1/\text{ความกว้าง Cuvette (ซม.)})$

$D_{665} = \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 665 nm} - \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 750 nm}$

$D_{645} = \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 645 nm} - \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 750 nm}$

$D_{630} = \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 630 nm} - \text{ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 750 nm}$

ภาคผนวก ข

การตรวจวัดค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดในน้ำ (Total Suspended Solids)

การตรวจวัดค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดในน้ำ (Total suspended Solids)

อุปกรณ์

1. กระบอกตวง
2. เครื่องกรองตัวอย่างน้ำ พร้อมอุปกรณ์ (Vacuum pump)

วิธีการทดลอง

1. นำกระดาษกรอง GF/C ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง วางบนอวลูมิเนียมฟอยล์

3. กรองน้ำตัวอย่างปริมาตร 400 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องกรองน้ำ

4. นำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

โถดูดความชื้น

5. ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองคำนวณหาปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด

หาปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total suspended Solids) คำนวณโดยสมการดังนี้

$$\text{ของแข็งแขวนลอย (มก./ลิตร)} = (A-B) \times 1000/C$$

เมื่อ A = น้ำหนักกระดาษกรองและของแข็ง

B = น้ำหนักกระดาษกรองอย่างเดียว

C = ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง

ภาคผนวก ข

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

นายวิรุฒิ แด้มประสิทธิ์

เกิดเมื่อ

20 มิถุนายน 2526

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2547 ประกาศนียบัตรวิชาชีพ (ปวช.) สาขาเกษตรและ

เทคโนโลยี วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีตรัง

พ.ศ. 2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาประมง มหาวิทยาลัย

เทคโนโลยีราชมงคลล้านนา (วิทยาเขตพิษณุโลก)