บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือภาคสนาม

1.1 เครื่องมือเก็บน้ำ KITAHARA

1.2 เครื่องมือเก็บดิน Ekman dredge

1.3 เครื่องมือวัดคุณสมบัติของน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง ความขุ่นของน้ำ

1.4 ลูกตุ้มหยั่งความลึก

1.5 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

1.6 ขวดเก็บตัวอย่างตะกอน

1.7 ถังน้ำแข็ง

2. อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

2.1 เครื่องกรองน้ำและแผ่นกรอง Millipore ขนาดช่อง (pore size) 0.45 ไมโครเมตร

2.2 เครื่อง Centrifuge

2.3 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

2.4 เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเคมี เช่น หลอดแก้ว กระบอกตวง บีกเกอร์ ไพเพท ฯลฯ

2.5 ตะแกรงร่อนตะกอน (non-ferrous sieve) ขนาดตา 2, 0.2, 0.125 และ 0.063 มิลลิเมตร

2.6 เครื่องเขย่าตะกอน (Sieve shaker)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมน้ำยาเคมี

1.1 น้ำยาเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ (Reactive Dissolved Phosphorus) โดยวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

1.1.1 AMMONIUM MOLYBDATE SOLUTION

ละลาย 15 กรัมของ ammonium paramolybdate (A.R. Grade) ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บน้ำยานี้ไว้ในขวดพลาสติก ในที่ที่ไม่ถูกแสงส่วาง

1.1.2 SULPHURIC ACID SOLUTION

เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (A.R. Grade) 140 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ ลงในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนเย็นแล้วเก็บไว้ในขวดแก้ว

1.1.3 ASCORBIC ACID SOLUTION

ละลาย ascorbic acid (A.R. Grade) 27 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดพลาสติกแช่แข็งไว้ เก็บได้นานหลายเดือน

1.1.4 POTASSIUM ANTIMONYL-TARTRATE SOLUTION

ละลาย potassium antimonyl-tartrate (A.R. Grade) 0.34 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดแก้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 น้ำยาเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolved Phosphorus) โดยวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

1.2.1 PERCHLORIC ACID SOLUTION

เจือจาง perchloric acid 70-72% (A.R.Grade)

300 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดแก้ว

1.2.2 POTASSIUM IODIDE SOLUTION

ละลาย potassium iodide 5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดแก้ว

1.2.3 DILUTE AMMONIA SOLUTION

ammonium solution เข้มข้นและเปิดใหม่ ๆ นำมา 100 มิลลิลิตร เจือจางให้เป็น 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นและเก็บไว้ในขวดพลาสติก (polyethylene) ที่มีฝาปิดแน่น ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้แต่ควรจะเตรียมใหม่ ๆ ก่อนทำการวิเคราะห์ หรือทุก ๆ 2-3 อาทิตย์

1.2.4 DILUTION WATER

เติมกรดเกลือเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ลงในน้ำ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดพลาสติก

1.2.5 AMMONIUM MOLYBDATE SOLUTION

วิธีเตรียมเหมือนข้อ 1.1.1

1.2.6 SULPHURIC ACID SOLUTION

วิธีเตรียมเหมือนข้อ 1.1.2

1.2.7 ASCORBIC ACID SOLUTION

วิธีเตรียมเหมือนข้อ 1.1.3

1.2.8 POTASSIUM ANTIMONYL-TARTRATE SOLUTION

วิธีเตรียมเหมือนข้อ 1.1.4

1.3 น้ำยาเคมีที่ใช้วิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่ดูดซับกับสารแขวนลอยส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ (Reactive Particulate Phosphorus) และฟอสฟอรัสที่ดูดซับกับตะกอนส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ (available phosphorus in sediment) โดยวิธีของ Murphy และ Riley (1962)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3.1 น้ำยาสกัด 0.5 M.HCL : 1M.H_2SO_4 เตรียมได้จากการเติมกรดเกลือเข้มข้นจำนวน 43 มิลลิลิตร และกรดกำมะถันเข้มข้นจำนวน 14 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นจำนวน 800 มิลลิลิตร แล้วทำให้สารละลายกรดนี้เจือจางเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

1.3.2 SULPHURIC ACID 5 N.

เติม sulphuric acid เข้มข้น 70 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 300 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็นปริมาตร 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.3.3 AMMONIUM MOLYBDATE SOLUTION

ละลาย ammonium molybdate (A.R. Grade) 20 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เป็นปริมาตร 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดแก้ว

1.3.4 ASCORBIC ACID (0.1 M.)

ละลาย ascorbic acid 1.32 กรัมในน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร สารละลายนี้เตรียมใหม่ ๆ ก่อนทำการวิเคราะห์

1.3.5 POTASSIUM ANTIMONYL-TARTRATE

ละลาย potassium antimonyl-tartrate 0.2743 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางให้เป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.4 น้ำยาเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในตะกอน โดยวิธีของ Gaudette และคณะ (1974)

1.4.1 POTASSIUM DICHROMATE 1.00N.

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 49.4 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็นปริมาตร 1 ลิตร

1.4.2 FERROUS SULPHATE 0.500N.

ละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ซึ่งเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นไว้แล้ว 20 มิลลิลิตร เจือจางสารละลาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นี้ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

1.4.3 DIPHENYLAMINE INDICATOR

ละลาย diphenylamine ประมาณ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 100 มิลลิลิตร

1.5 น้ำยาเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

1.5.1 ACETONE 90%

2. การเตรียมเครื่องแก้วที่จะใช้ในงานวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น ขวดรูปชมพู่ (flask), บีกเกอร์, หลอดแก้ว ฯลฯ ก่อนนำมาใช้จะแช่ด้วยกรดเกลือเจือจาง 10% ประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง นำไปอบให้แห้ง และหลังจากใช้เครื่องแก้วต่าง ๆ แล้ว นำมาล้างด้วยผงซักฟอกที่ไม่มีฟอสฟอรัสแล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง เก็บเครื่องแก้วไว้วิเคราะห์ในครั้งต่อไปควรเก็บไว้ในที่ ๆ ไม่มีฝุ่นละออง

ขวดเก็บตัวอย่าง ก่อนนำไปใส่ตัวอย่างนำไปแช่กรดเช่นเดียวกัน แล้วล้างน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง เมื่อจะเก็บน้ำต้องใช้น้ำตัวอย่างนั้นล้างขวดก่อน 1 ครั้ง ในการปฏิบัติใช้ขวดพลาสติกในการเก็บตัวอย่างน้ำเนื่องจากสะดวกในการขนย้ายและตกไม่แตก ในกรณีเรือโคลง ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการดูดซับฟอสฟอรัสที่ผิวขวดพลาสติกเทียบกับขวดแก้วได้ผลว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างขวด 2 ชนิด (ภาคผนวก)

3. การดำเนินการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนจากทะเลสาบสงขลาทุก ๆ 3 เดือน คือ เดือนกรกฎาคม 2527, ตุลาคม 2527, มกราคม 2528 และ เมษายน 2528 รวม 4 ครั้ง กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างดังแสดงในรูป 2.1 จำนวน 19 สถานี แบ่งเป็นสถานีในทะเลสาบ 16 สถานี และสถานีในลำคลองสายสำคัญที่ไหลเข้าทะเลสาบอีก 3 สถานี คือ คลองพะวง, คลองระโนด และคลองลำปำ แต่ละสถานีในทะเลสาบ (สถานี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูป 2.1 สถานีเก็บตัวอย่างในทะเลสาบสงขลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1–16) เก็บน้ำที่ระดับกลางน้ำ ถ้าสถานีใดลึกเกินกว่า 3 เมตร จะเก็บน้ำ 2 ระดับ คือ ระดับบนและระดับล่างของความลึกที่จุดเก็บน้ำ ทำการวัดความลึก วัดคุณสมบัติของน้ำ ได้แก่ ความเป็นกรด–ด่าง ความเค็ม ความขุ่น และอุณหภูมิ ด้วยเครื่องมือ และเก็บน้ำเพื่อหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำด้วยวิธี Modified Winkler Method เฉพาะสถานีในทะเลสาบทำการเก็บตัวอย่างตะกอนที่จุดเก็บตัวอย่างน้ำ ส่วนสถานีในลำคลอง (สถานี 4.1, 13.1, 16.1) จะเก็บเฉพาะน้ำบริเวณกึ่งกลางความลึกเท่านั้น และทำการวัดความลึกและคุณสมบัติของน้ำเช่นเดียวกับสถานีในทะเลสาบ

สถานีในทะเลสาบ 16 สถานี จัดได้เป็น 3 พื้นที่ คือ

บริเวณแหล่งเลี้ยงปลาในกระชัง ได้แก่สถานี 1, สถานี 2, สถานี 3, สถานี 9

บริเวณปากคลองสายต่าง ๆ ได้แก่สถานี 4, สถานี 5, สถานี 13, สถานี 14, สถานี 15, สถานี 16

บริเวณกลางทะเลสาบ ได้แก่สถานี 6, สถานี 7, สถานี 8, สถานี 10, สถานี 11, สถานี 12

บริเวณกลางทะเลสาบจะเป็นบริเวณที่ห่างไกลชุมชน (ยกเว้นสถานี 8) จึงเลือกสถานี 6, 10 และ 12 เป็นตัวแทนของทะเลสาบตอนนอก, ทะเลหลวงตอนล่างและทะเลหลวงตอนบนตามลำดับ เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัสในรอบวัน โดยเก็บน้ำทุก ๆ 4 ชั่วโมงในรอบวัน เพื่อให้ครบ tidal cycle คือที่เวลาประมาณ 7.00, 11.00, 15.00, 19.00, 23.00 และ 03.00 น.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การเก็บรักษาตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำ (ที่กรองแล้ว) และตะกอนที่เก็บจากสถานีต่าง ๆ ไม่สามารถแช่แข็งไว้ได้เนื่องจากในเรือไม่มีตู้แช่แข็งจึงเก็บรักษาตัวอย่างไว้โดยการแช่น้ำแข็งในถังน้ำแข็งแทน พยายามควบคุมให้อุณหภูมิในถังน้ำแข็งให้เย็นสม่ำเสมอโดยเติมน้ำแข็งบ่อย ๆ ตัวอย่างน้ำจากสถานีต่าง ๆ ทันทีที่เก็บจะนำมากรองผ่านกระดาษกรอง millipore ขนาดช่อง 0.45 ไมโครเมตร แยกส่วนที่เป็นสารละลายเก็บไว้ในขวด

เก็บน้ำ แช่น้ำแข็งไว้ ส่วนที่ติดอยู่บนกระดาษกรองคือสารแขวนลอยซึ่งจะนำมาสกัดหาปริมาณฟอสฟอรัสส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้จะแช่ไว้ในกรดที่ใช้สกัด ($0.5 M.HCL : 1M.H_2SO_4$) จำนวน 10 มิลลิลิตร (วิธีเตรียมอธิบายไว้ในหัวข้อ 1.3.1) ส่วนที่ติดอยู่บนกระดาษกรองซึ่งเป็นสารแขวนลอยที่จะนำมาวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์จะแช่ไว้ใน acetone 90% แล้วเก็บไว้ในที่มืดและเย็นและเมื่อถึงห้องปฏิบัติการจึงนำมาวิเคราะห์ แต่เนื่องจากพบว่าในเดือนตุลาคมและมกราคม ผลการวิเคราะห์ได้ค่าคลอโรฟิลล์ติดลบ ดังนั้น ในเดือนเมษายน จึงเก็บรักษาส่วนที่ติดอยู่บนกระดาษกรองส่วนนี้โดยการห่อกระดาษอลูมิเนียมไว้แล้วเก็บในที่มืดและเย็น

3.3 วิธีดำเนินการ

3.3.1 เก็บตัวอย่างน้ำและตะกอน (ดังอธิบายไว้ในหัวข้อ 3.1)

3.3.2 ตัวอย่างตะกอนที่เก็บได้แช่น้ำแข็งไว้

3.3.3 ตัวอย่างน้ำส่วนหนึ่ง (100 มิลลิลิตร) นำมากรองผ่าน Millipore ขนาดช่อง 0.45 ไมโครเมตร แยกส่วนที่เป็นสารละลายเก็บไว้ในขวดเก็บตัวอย่างน้ำ ส่วนที่ติดอยู่บนกระดาษกรองเก็บรักษาไว้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

3.3.4 ตัวอย่างน้ำส่วนที่เหลือ (150 มิลลิลิตร) นำมากรองเช่นเดียวกัน ส่วนสารละลายที่ได้เก็บรวมไว้ในขวดเดียวกับสารละลายจากข้อ 3.3.3 แล้วนำไปแช่น้ำแข็งเพื่อเก็บไว้วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ ส่วนกระดาษกรองที่มีสารแขวนลอยติดอยู่นำไปแช่กรดสกัดเก็บไว้วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ ทำการบันทึกปริมาตรของน้ำที่กรองผ่านกระดาษกรองไว้เพื่อใช้คำนวณ

3.3.5 เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างน้ำ (ที่กรองแล้ว) มาแช่แข็งไว้ เพื่อรอดำเนินการวิเคราะห์เนื่องจากไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งหมดภายในหนึ่งวัน

3.3.6 นำตัวอย่างตะกอนของสถานีต่าง ๆ ไปอบที่ 80° ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กัลยา อำนวย,2525) แล้วนำมาบดให้แตกเป็นเม็ดตะกอนอิสระ นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.2 มิลลิเมตร เก็บไว้วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส ส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ที่ดูดซับบนตะกอน และส่วนหนึ่งเก็บไว้วิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน

3.4 วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ โดยวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

นำตัวอย่างที่กรองแล้วจะทำปฏิกริยากับ mixed reagent ได้สารประกอบเชิงซ้อน heteropoly acid ซึ่งจะถูกรีดิวซ์แล้วให้สารละลายสีน้ำเงิน สารละลาย mixed regent ประกอบด้วย ammonium molybdate solution 100 มิลลิลิตร, sulphuric acid solution 250 มิลลิลิตร, ascorbic acid solution 100 มิลลิลิตร และ potassium antimonyl-tartrate solution 50 มิลลิลิตร (วิธีเตรียมอธิบายไว้ในหัวข้อ 1.1)

เติม mixed reagent 5 มิลลิลิตรลงในน้ำตัวอย่าง (ที่ทำให้ละลายที่อุณหภูมิห้องแล้ว) 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ 5 นาที (หรือภายใน 2-3 ชั่วโมง) นำไปวัดปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (HITACHI รุ่น 100-20) ขนาดเซล 1 ซ.ม. ที่ความยาวคลื่น 885 nm. ทำ reagent blank ด้วยวิธีเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่นแทน

การทำ standard curve เตรียม standard phosphate solution โดยละลาย anhydrous potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 0.816 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร ≡ 6.0 ไมโครกรัม-อะตอมฟอสฟอรัส เจือจางสารละลายนี้ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง นำค่า absorbance ที่ได้มาเขียน standard curve

3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำทั้งหมดโดยวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างน้ำที่กรองแล้ว 50 มิลลิลิตร จะถูกระเหยด้วย perchloric acid คลอไรด์ในน้ำตัวอย่างจะถูกแทนที่โดย perchlorate และ arsenic ก็จะถูกกำจัดออกไป ส่วนที่เหลือจะถูกทำให้ร้อนต่อไปและสารอินทรีย์ต่าง ๆ จะถูกออกซิไดส์ ฟอสฟอรัสรูปต่าง ๆ จะถูกเปลี่ยนเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟตแล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดต่อไปหลังจากเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร โดยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.4.1

3.4.3 วิธีสกัดฟอสฟอรัสที่ดูดซับอยู่กับสารแขวนลอยส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ ใช้วิธีของกัลยา อำนวย (2525) ซึ่งดัดแปลงจาก Olsen และ Dean (1965) สารละลายที่สกัดได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส โดยวิธีของ Murphy และ Riley (1962)

กระดาษกรองที่มีสารแขวนลอยติดอยู่ซึ่งทำการเก็บรักษาไว้ในกรดสกัด 10 มิลลิลิตร (หัวข้อ 3.2) เมื่อจะนำมาวิเคราะห์ใช้แท่งแก้วปาดสารแขวนลอยให้หลุดจากกระดาษกรองใส่ลงในกรดสกัดที่แช่กระดาษกรองไว้เดิม นำไป centrifuge ที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำเอาส่วนที่เป็นสารละลายมา 1 มิลลิลิตร เติม mixed reagent 1.6 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 10 มิลลิลิตร นำไปวัดด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ขนาดเซล 1 ซ.ม. ที่ความยาวกลื่น 882 nm. reagent blank ดำเนินการวิธีเดียวกันแต่ใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรแทนสารละลายที่สกัดได้

mixed reagent ประกอบด้วย 5N. sulphuric acid 125 มิลลิลิตร, ammonium molybdate 37.5 มิลลิลิตร, ascorbic acid solution 75 มิลลิลิตร และ potassium antimonyl-tartrate solution 12.5 มิลลิลิตร (วิธีเตรียมอธิบายไว้ในหัวข้อ 1.3) mixed reagent นี้เก็บได้ไม่เกิน 24 ชม.

การทำ Standard curve เตรียม stock phosphate solution โดยละลาย potassium dihydrogen phosphate 0.1757 กรัม ทำให้เป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายนี้จะประกอบด้วย 40 มิลลิกรัม/ลิตร เจือจางสารละลายนี้ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ ดำเนินการเช่นเดียวกับตัวอย่าง ค่าที่วัดได้นำมาเขียน Standard curve

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ในตะกอน

ชั่งตะกอนที่ผ่านการอบและร่อนแล้ว (หัวข้อ 3.3.6) ประมาณ 0.5 กรัม (ด้วยเครื่องชั่งละเอียดบันทึกน้ำหนักไว้) ใส่ในหลอดแก้วที่สะอาดแล้วเติมกรดสกัด (วิธีเตรียมอธิบายไว้ในหัวข้อ 1.3) 10 มิลลิลิตร เขย่า 5 นาที นำไป centrifuge ที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนที่เป็นสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ดำเนินการวิเคราะห์ต่อด้วยวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อ 3.4.3

3.4.5 วิธีวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในตะกอน ใช้วิธี Gaudette และคณะ (1974) ซึ่งใช้ potassium dichromate เป็นตัวออกซิไดส์ และใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้นเป็นตัวให้ไฮโดรเจนไอออนและให้ความร้อนกับปฏิกริยา

ชั่งตะกอนที่อบและร่อนแล้ว (หัวข้อ 3.3.6) 0.2 - 0.5 กรัม นำมาวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คอร์บอนตามวิธีของ Gaudette และคณะ (1974)

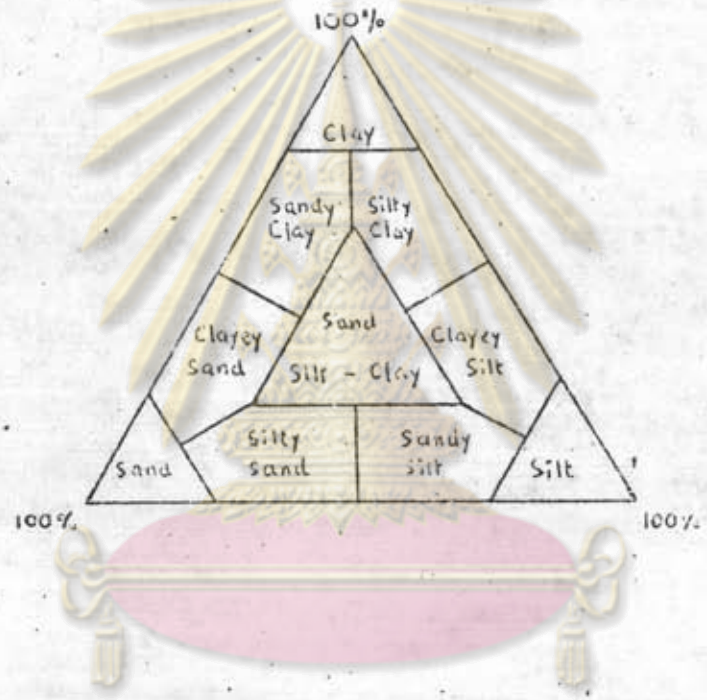
3.4.6 วิธีวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

นำกระดาษกรองที่มีสารแขวนลอยติดอยู่จากหัวข้อ 3.3.3 นำมาใส่ใน 6 มิลลิลิตรของ acetone 90% เก็บไว้ในที่มืดและเย็นไม่เกิน 20 ชั่วโมง (เขย่าทุก ๆ 2 ชั่วโมง) นำมาเจือจางปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วย acetone 90% เขย่าแล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C รีบนำไปวัดด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ขนาดเซล 1 ซ.ม. ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ คือ 4500, 6300, 6450, 6650 A°

3.4.7 การหาส่วนประกอบของตะกอน (Composition of sediment)

นำตะกอนจากสถานีต่าง ๆ ไปอบที่ 80° ซ. เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำมาบดให้แตกเป็นเม็ดตะกอนอิสระ แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. และ 0.063 มม. เพื่อแยกส่วนที่เป็นทราย (sand) ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 0.0625 - 2 มม. กับส่วนที่เป็น silt และ clay ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า 0.0625 มม. (ตารางที่ 2.1) โดยใช้เครื่องร่อนตะกอน (sieve shaker) และแยกส่วน silt กับ clay

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูป 2.2 กราฟสามเหลี่ยมสำหรับหาส่วนประกอบของตะกอน

(จาก Buchanan and Kain , 1971)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยวิธี pipette method (Dewis, J. และ F. Freitas, 1970) อาศัยหลักการจมตัวของเม็ดตะกอนขนาดต่าง ๆ ในเวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 2.2)

นำค่าเปอร์เซนต์ Sand, Silt, Clay ไปเข้า diagram เพื่อหาส่วนประกอบของดิน (รูป 2.2)

4. การทดลองหาภาวะสมดุลย์ของฟอสฟอรัสที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ในทะเลสาบสงขลา

การทดลองในเรื่องนี้ทำการศึกษาในเดือนเมษายน 2528 โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ตอน คือ การทดลองหาอัตราการใช้ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำโดยสิ่งมีชีวิตและการทดลองหาอัตราการละลายของฟอสฟอรัสจากตะกอนสู่น้ำ โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 40 ลิตร และตะกอนบริเวณกลางทะเลสาบสงขลาตอนนอก แล้วดำเนินการทดลองดังนี้

4.1 การทดลองหาอัตราการใช้ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำโดยสิ่งมีชีวิต

4.1.1 นำตัวอย่างที่เก็บได้เมื่อมาถึงห้องปฏิบัติการ นำมา 50 มิลลิลิตรกรองผ่านแผ่นกรอง Millipore ขนาดช่อง 0.45 ไมโครเมตร แล้ววิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ ด้วยวิธี Strickland และ Parsons (1972) ซึ่งอธิบายไว้ในหัวข้อ 3.4.1

4.1.2 แบ่งน้ำตัวอย่างใส่ถังซึ่งตั้งไว้กลางแจ้ง 3 ถัง ๆ ละประมาณ 10 ลิตร หมั่นกวนน้ำเพื่อไม่ให้เกิดการแยกชั้นของน้ำในถัง

4.1.3 เติมสารละลายเข้มข้นลงไปในถังที่ 1, 2, 3 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของฟอสฟอรัสเป็น 5, 10, 15 เท่าตามลำดับ ของปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้เริ่มต้น (ข้อ 4.1.1)

4.1.4 เก็บน้ำจากถัง 1, 2 และ 3 ถังละ 50 มิลลิลิตร ทุก ๆ 30 นาที นำมากรอง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำด้วยวิธีเดียวกัน

4.1.5 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ที่เวลาต่าง ๆ นำมาเขียนกราฟ เพื่อแสดงการลดลงของปริมาณฟอสฟอรัส เนื่องจากถูกใช้ไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยสิ่งมีชีวิต

4.1.6 เก็บตัวอย่างน้ำจากถังมาวิเคราะห์จนกระทั่งปริมาณฟอสฟอรัสไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อไปอีก

4.2 การทดลองหาอัตราการละลายของฟอสฟอรัสจากตะกอนสู่น้ำ

4.2.1 ตัวอย่างตะกอนนำมาอบและร่อนผ่านตะแกรงขนาดช่อง 0.2 มม.

4.2.2 ตัวอย่างน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำมากรองผ่าน Millipore ขนาดช่อง 0.45 ไมโครเมตร ซึ่งรู้น้ำหนักแล้วแบ่งตัวอย่างน้ำที่กรองแล้วใส่ 2 บีกเกอร์ ๆ ละ 500 มิลลิลิตร นำกระดาษกรองที่มีสารแขวนลอยติดอยู่ไปชั่งเพื่อคำนวณหาปริมาณสารแขวนลอยต่อปริมาตรน้ำ

4.2.3 ชั่งตะกอนดินที่เตรียมไว้เติมลงไปในแต่ละบีกเกอร์จนได้อัตราส่วนระหว่างตะกอนต่อปริมาตรน้ำเท่ากับปริมาณสารแขวนลอยต่อปริมาตรน้ำที่หาไว้ (ข้อ 4.2.2) กวนน้ำตลอดเวลาโดยใช้ Magnetic stirer

4.2.4 เก็บน้ำจากทั้ง 2 บีกเกอร์ ครั้งละ 25 มิลลิลิตร นำมากรอง น้ำที่กรองได้นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้ที่เวลาต่าง ๆ ด้วยวิธี Strickland และ Parsons (1972)

4.2.5 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เวลาต่าง ๆ นำมาเขียนกราฟเพื่อแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัสดังกล่าว

4.2.6 เก็บน้ำจากบีกเกอร์มาวิเคราะห์จนกระทั่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงในปริมาณฟอสฟอรัส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย