บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. พันธุ์ปลานิล

ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ เพศผู้ ขนาดความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 3,000 ตัว ซื้อจากสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดนครศรีธรรมราช กรมประมง

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง (ภาคผนวก ก)

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของปลานิล (ภาคผนวก ก)

2.3 สารเคมีสำหรับการศึกษาด้านเนื้อเยื่อวิทยาปลานิล (ภาคผนวก ก)

2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ในอาหารปลา เนื้อปลา และมูลปลา (ภาคผนวก ก)

2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ภาคผนวก ก)

2.6 ยาสลบปลา (2-phenoxyethanol)

3. อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นทดลอง

ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปชนิดลอยน้ำ 9961 ไฮเกร์ด ซึ่งมีส่วนผสมของ ปลาป่น กากถั่วเหลือง ข้าวโพด หรือปลายข้าว วิตามิน เกลือแร่ และสารถนอมคุณภาพอาหารสัตว์ มีคุณค่าทางอาหาร ได้แก่ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 40 % ไขมันไม่ต่ำกว่า 3 % ความชื้นไม่ต่ำกว่า 12 % และกากไม่ต่ำกว่า 4 %

อุปกรณ์

1. ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

1.1 ถังไฟเบอร์กลาสทรงกระบอก ปริมาตร 2.0 ลูกบาศก์เมตร

1.2 ตู้กระจกทดลองขนาด 120 x 60 x 30 เซนติเมตร ความจุ 216 ลิตร ปิดด้านข้างและด้านหลังตู้กระจกทดลองด้วยแผ่นพลาสติกสีเขียวทึบทั้ง 3 ด้าน เพื่อลดการรบกวนปลาทดลองจากภายนอก

1.3 อุปกรณ์ระบบให้อากาศ ประกอบด้วยเครื่องให้อากาศ ท่อลม สายยาง หัวทราย

1.4 อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ และทำความสะอาดตู้ปลา ได้แก่ สายยาง เครื่องปั๊มน้ำชนิดจุ่ม ฟองน้ำขัดตู้

1.5 อุปกรณ์ขนย้ายปลา ได้แก่ สวิงช้อนปลา ถังพลาสติก

2. เตรียมอาหารทดลอง

2.1 เครื่องเตรียมอาหารทดลอง ประกอบด้วย ชุดเครื่องผสมอาหารแนวตั้งแบบมีใบพัดของ KODAIRA และชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร ของ HANAKI'SCROWN

2.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Basic เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง ของ AND รุ่น HM-300 กระบอกตวง บีกเกอร์ ถาดเตรียมอาหาร

2.3 ตู้แช่แข็ง ใช้เพื่อเก็บอาหารทดลองระหว่างรอนำมาใช้

3. วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

3.1 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิน้ำ คือ เทอร์โมมิเตอร์

3.2 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) คือ เครื่อง pH meter ของ Mettler Delta รุ่น 340

3.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen, DO) คือ เครื่อง DO meter ของ YSI model 57

3.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) และความกระด้าง (hardness) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต บิวเรต ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

4. วิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของอาหารทดลอง

4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ขวดชั่ง (weighing bottle) ตู้อบ (hot air oven) ของ Memmert โถดูดความชื้น (desiccator) เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ และบิวเรต

4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น (desiccator) เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6 ไส้กรองสาร ถ้วยสกัดสาร ตู้อบ โถอบแห้ง เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

4.5 อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหาร กล้ามเนื้อ และมูลปลา ได้แก่ TLC plate ของ MERCK รุ่น Silica gel 60 1.05721 และ densitometer ของ SHIMADZU รุ่น CS-9301 PC

5. ศึกษาองค์ประกอบเลือด

5.1 อุปกรณ์เก็บเลือดปลา ได้แก่ เข็มขนาด 25G และหลอดฉีดยา ขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการเคลือบสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA)

5.2 อุปกรณ์แยกพลาสมา ได้แก่ เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ไมโครปิเปต หลอดทดลอง สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

5.3 อุปกรณ์วัดค่าฮีมาโตคริต ได้แก่ หลอดฮีมาโตคริต (microhaematocrit capillary tube) และฮีมาโตคริตเซนตริฟิวจ์ (haematocrit centrifuge)

5.4 อุปกรณ์นับปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ได้แก่ RBC diluting pipette haemacytometer กล้องจุลทรรศน์

6. พยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ

6.1 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด

6.2 เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ของ Technicon Corporation รุ่น Autotechnicon Mono MOD. 2A

6.3 เครื่องตัดชิ้นเนื้อเยื่อ ของ Jung AG Heidelberg ตู้อบ อ่างน้ำอุ่น (warm bath) สไลด์ และแผ่นปิดสไลด์

6.4 กล้องถ่ายภาพของ Olympus รุ่น AX 70 และกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบของ Olympus รุ่น C-35 AD

7. สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ประกอบด้วย เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ถังพลาสติกขนาด 3 ลิตร กะละมังพลาสติก และสวิงช้อนปลา

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 120 x 60 x 30 เซนติเมตร ความจุน้ำ 216 ลิตร ทำความสะอาด และติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศให้พร้อมสมบูรณ์ แล้วเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตรประมาณ 165 ลิตร ปิดตู้ด้วยผ้าพลาสติกสีเขียวทึบ 3 ด้าน เพื่อป้องกันการถูกรบกวนขณะทำการทดลอง

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลแปลงเพศวัยอ่อนขนาดความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 3,000 ตัวมาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสทรงกลม ขนาดความจุ 2 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อให้ได้ขนาดที่จะทำการทดลอง และสามารถปรับสภาพให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมของการวิจัย และฝึกหัดให้กินอาหารที่มีลักษณะใกล้เคียงกับอาหารทดลองวันละ 3 ครั้ง คือเวลา 8.30 น. 12.30 น. และ 16.30 น. สังเกตพฤติกรรมการยอมรับอาหาร ก่อนเริ่มการทดลองนำลูกปลาไปตรวจสอบ

การติดเชื้อแบคทีเรีย และปรสิตภายนอก ลูกปลาที่ใช้ทดลองต้องมีสุขภาพดี ไม่มีโรคใดๆ ทำการคัดปลาใส่ตู้ทดลองที่เตรียมไว้ในข้อ 1. จำนวน 20 ตัวต่อตู้ ปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมของตู้ และอาหารทดลองเป็นเวลา 7 วัน ทำการชั่งหาน้ำหนักเริ่มต้นของปลา โดยใช้น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 4.14 กรัมต่อตัว

3. การเตรียมอาหารทดลอง

วิเคราะห์วัตถุดิบอาหาร และคำนวณสูตรอาหารให้มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกชุดการทดลอง แต่ให้มีระดับอะฟลาทอกซินบี$_1$แตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0 50 100 500 1,000 และ 2,500 พีพีบี โดยเริ่มต้นมีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 19.150 พีพีเอ็ม จำนวน 636.30 กรัม ใช้แป้งสาลีเป็นตัวเจือจางเพื่อให้อาหารแต่ละสูตรมีอะฟลาทอกซินตามที่คำนวนไว้ ดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ ข. 1

วิธีการเตรียมอาหารทดลอง

3.1 ชั่งวิตามินผสม แร่ธาตุผสม แป้งสาลี และอะฟลาทอกซินบี$_1$ ตามที่คำนวนไว้ในแต่ละสูตรอาหาร ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าที่ความละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง ผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึงในถุงพลาสติกใสซ้อนกัน 2–3 ชั้น เพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของอะฟลาทอกซินบี$_1$ และป้องกันถุงแตก

3.2 ชั่งวัตถุดิบอาหารอื่นๆ ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด ตามที่คำนวนไว้ในแต่ละสูตรอาหาร (ตารางที่ 7) ผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึงในถุงพลาสติกใสขนาดใหญ่ซ้อนกัน 2–3 ชั้น

3.3 ผสมวิตามินผสม แร่ธาตุผสม แป้งสาลี และอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในข้อ 3.1 ลงในถุงพลาสติกใสขนาดใหญ่ที่มีวัสดุอาหารในข้อ 3.2 ให้เข้ากันอย่างทั่วถึง

3.4 นำเข้าเครื่องผสมอาหาร เติมน้ำ 35% ของน้ำหนักอาหาร จนวัตถุดิบอาหารแห้งกับน้ำผสมกันดี

3.5 นำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร และ 3 มิลลิเมตร เพื่อเหมาะสมกับขนาดปากปลาตลอดระยะเวลาการทดลอง

3.6 นำอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บรรจุในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วุฒิพร และคณะ, 2540)

ตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของสูตรอาหาร (โปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น และเถ้า) ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่เตรียมตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1985) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์) หาได้จากการคำนวณตามสูตร 100 - (โปรตีน+ไขมัน+เถ้า+ความชื้น) ก่อนนำไปใช้ในการทดลองเลี้ยง ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองสูตรต่างๆ แสดงใน ตารางที่ 1 (ภาคผนวก ข.) และวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในอาหาร ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1988) โดยผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 7 แสดงส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารสูตรพื้นฐาน

วัสดุอาหาร	ปริมาณในอาหาร (%)
ปลาป่น	22
กากถั่วเหลือง	30
รำละเอียด	28
แป้งสาลี	15
*วิตามินผสม	1
**แร่ธาตุผสม	4
รวม	100

* วิตามินผสม (ปริมาณ/อาหาร1 กก.) ประกอบด้วย AD3 2.3 กรัม; Tocopherol (E) 80.0 กรัม; K 26.0 กรัม; Thiamine (B_1) 23.469 กรัม; Riboflavin (B_2) 25.0 กรัม; Pyridoxine (B_6) 54.545 กรัม; Cabolamin (B_{12}) 0.60 กรัม; Ascobic acid (C) 85.714 กรัม; Fanto (B_5) 24.490 กรัม; Niacin 37.071 กรัม; Folic acid; Biotin 25.0 กรัม; Inositol 98.0 กรัม; Choline Chloride CC® 300.0 กรัม; SIPERNAT ® 20.0 กรัม; ENDOX® 0.20 กรัม; Dextrose monohydrate 195.51 กรัม

** แร่ธาตุผสม (ปริมาณ/อาหาร1 กก.) ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.1 กรัม; CaH_2PO_4 0.1 กรัม; NaH_2PO_4 0.15 กรัม; KCl 0.05 กรัม

ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารทดลอง

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในอาหาร	
	จากการคำนวณ (พีพีบี)	จากการวิเคราะห์โดย TLC (พีพีบี)
1	0	3.85
2	50	41.12
3	100	113.20
4	500	591.00
5	1,000	1,687.75
6	2,500	4,364.00

4. แผนการทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD-completely randomized design) แบ่งการทดลองเป็น 6 กลุ่มการทดลอง (treatments) โดยที่แต่ละกลุ่มการทดลองมี 5 ซ้ำ

เริ่มต้นการทดลองโดยชั่งน้ำหนักปลา สุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 4.14 กรัมต่อตัว ปล่อยในตู้ทดลอง ตู้ละ 20 ตัว ใช้ลูกปลาทั้งหมด 600 ตัว โดยให้อาหารวันละ 3 ครั้ง คือช่วงเช้าเวลา 8.30 น. ช่วงเที่ยงเวลา 12.30 น. และช่วงเย็นเวลา 16.30 น. โดยให้ปลากินอาหารตามเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว ดังแสดงในตารางที่ 9 (ดัดแปลงจาก กรมประมง, 2541) บันทึกน้ำหนักปลาและตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ได้แก่ค่าความเป็นด่าง (total alkalinity) ค่าความกระด้าง (total hardness) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าออกซิเจนละลายในน้ำ (dissolved oxygen, DO) และอุณหภูมิของน้ำ จดบันทึกไว้เป็นข้อมูลประกอบ

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปลาครึ่งหนึ่งของแต่ละกลุ่มการทดลอง เพื่อศึกษา การเจริญเติบโต ดัชนีตับต่อตัว องค์ประกอบเลือด เนื้อเยื่อวิทยา และวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ที่ตกค้างในกล้ามเนื้อปลา ปลาอีกครึ่งหนึ่งที่เหลือเลี้ยงต่อในตู้เดิม ให้ปลากินอาหารตามเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวต่อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จึงเก็บผลเพื่อวิเคราะห์ ดัชนีตับต่อตัว

องค์ประกอบเลือด ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา และวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ที่เหลือตกค้างในกล้ามเนื้อ และมูลปลา

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการให้อาหารทดลอง

สัปดาห์ที่	1	2	3	4	5	6	7	8
อัตราการให้อาหาร (% น้ำหนักตัวต่อวัน)	10	7	7	5	5	5	5	5

ที่มา : ดัดแปลงจาก กรมประมง (2541)

5. การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะที่แสดงออกภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตลักษณะผิดปกติภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือดและการเกิดบาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ รวมทั้งสังเกตพฤติกรรมที่ผิดปกติในปลาแต่ละกลุ่ม ใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรค ตามสภาพของปลา ทำการดูดตะกอนก่อนและหลังให้อาหาร ทำความสะอาดตู้ปลา เปลี่ยนถ่ายน้ำ เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมตลอดการทดลอง

5.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลา

การชั่งน้ำหนักปลาดำเนินการทุกสัปดาห์ เพื่อทราบน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ในวันที่ชั่งน้ำหนักปลางดให้อาหารเป็นเวลา 1 วัน) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ สังเกตลักษณะอาการปลาตลอดการทดลอง พร้อมทั้งจดบันทึกไว้ จนสิ้นสุดการทดลอง 5 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหา

- น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว
- น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (ภาคผนวก ก)
- อัตราการแลกเนื้อ (ภาคผนวก ก) ตามวิธีการของ Dupree และ Sneed (1966)

- ดัชนีตับต่อตัว (ภาคผนวก ก) ตามวิธีของ Anwar และ Jafri (1995)
- อัตราการรอดตาย (ภาคผนวก ก)

5.3 การศึกษาองค์ประกอบเลือด

สุ่มปลาจากทุกกลุ่มการทดลองๆละ 15 ตัว มาสลบด้วยน้ำยา 2-phenoxyethanol เจาะเลือดจากบริเวณโคนหาง โดยใช้เอทีลินไดอะมีนเตตราอะซีติก (ethylenediaminetetraacetic acid : EDTA) 1.0 % เคลือบหลอดทดลองเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาองค์ประกอบของเลือด คือ

- Haemoglobin โดยใช้วิธี Cyanmet-haemoglobin ของ Larsen และ Snieszko (1961)
- Haematocrit โดยวิธีดัดแปลงจาก Blaxhall และ Daisley (1973)
- Plasma protein โดยวิธีดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)
- Blood cell count โดยใช้วิธีของ กิจการ (2538)

5.4 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับ จากตัวอย่างปลากลุ่มการทดลองละ 15 ตัว มาแช่ใน 10% ฟอร์มาลิน 2 วัน แล้วเปลี่ยนน้ำยาดองเป็นแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1979) เนื้อเยื่อตับถูกตัดให้มีความหนา 3-4 ไมโครเมตร แล้วย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin (H&E) (Bancroft, 1967) จากนั้นนำตัวอย่างไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ

5.5 การศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ที่ตกค้าง

เก็บมูลปลา 3 สัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยทำการดูดตะกอนก่อน และหลังให้อาหาร ก่อนเก็บมูลปลา เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเศษอาหารในมูลปลา เก็บตัวอย่างเนื้อปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองสัปดาห์ที่ 5 และสัปดาห์ที่ 8 นำเนื้อ และมูลปลา มาทำแห้งด้วยวิธีเตรียมตัวอย่างโดยลดอุณหภูมิจนเย็นแข็ง แล้วดึงน้ำออก (freeze drying) แล้วนำส่งกรมวิทยาศาสตร์

การแพทย์นนทบุรี เพื่อวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินที่สะสม โดยวิธี Contamination Branch method (CB) และหาปริมาณโดยใช้ Thin Layer Chromatography (TLC) (AOAC, 1988)

5.6 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ในขณะทำการทดลอง มีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำในตู้ทดลองทุกสัปดาห์ โดยวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำโดยใช้ DO meter ของ YSI model 57 และใช้ขวดเก็บตัวอย่างน้ำขนาด 1 ลิตร เก็บตัวอย่างน้ำก่อนเปลี่ยนถ่ายน้ำ นำไปวัดค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter ของ Mettler Delta รุ่น 340 วิเคราะห์ความเป็นด่าง และความกระด้าง ตามวิธีการของ Boyd และ Tucker (1992)

5.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD (Steel and Torrie, 1980)