

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การวางแผนการทดลอง

แบ่งงานวิจัยออกเป็น 4 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงอาร์ทีเมีย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) มี 3 ซ้ำ ความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อลิตรและให้ยีสต์เป็นอาหารประกอบด้วย 4 ชุดการทดลองดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยความเค็ม 10 กรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยความเค็ม 30 กรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยความเค็ม 50 กรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยความเค็ม 70 กรัมต่อลิตร

ในแต่ละชุดการทดลองทำการเตรียมขวดเลี้ยงอาร์ทีเมียจำนวน 30 ขวด รวมขวดทดลองทั้งหมด 120 ขวด ทำการสุ่มขวดเลี้ยงอาร์ทีเมียทุกวัน ชุดการทดลองละ 3 ขวด (12 ขวดต่อวัน) เพื่อวัดขนาด ชั่งน้ำหนักและนับจำนวนที่เหลือ โดยขวดอาร์ทีเมียที่ถูกสุ่มออกไปจะไม่นำกลับมาใช้ในการทดลองอีก เป็นการลดปัญหาความบอบช้ำจากการเก็บข้อมูล

การทดลองที่ 2 การเพิ่มปัจจัยความหนาแน่นและการใช้จุลินทรีย์ EM เพิ่มผลผลิตอาร์ทีเมีย

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Random Complete Block Design ประกอบด้วย 9 ชุดการทดลองทำการทดลองทีละ 1 ซ้ำรวม 3 ครั้ง แบ่งชุดการทดลองได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อลิตร+EM 0 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อลิตร+EM 1 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อลิตร+EM 2 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 2,000 ตัวต่อลิตร+EM 0 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 2,000 ตัวต่อลิตร+EM 1 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 6 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 2,000 ตัวต่อลิตร+EM 2 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 7 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 3,000 ตัวต่อลิตร+EM 0 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 8 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 3,000 ตัวต่อลิตร+EM 1 มิลลิลิตรต่อลิตร
 ชุดการทดลองที่ 9 เลี้ยงอาร์ทีเมียความหนาแน่น 3,000 ตัวต่อลิตร+EM 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ในแต่ละชุดการทดลองทำการเตรียมขวดเลี้ยงอาร์ทีเมียจำนวน 10 ขวด รวมขวดทดลองทั้งหมด 90 ขวด ทำการสูบลมขวดทดลองชุดการทดลองละ 1 ขวดทุกวัน (9 ขวดทดลองต่อวัน) ทำการนับจำนวนตัวอาร์ทีเมีย, ชั่งน้ำหนัก และวัดคุณภาพน้ำในขวดทดลองทุกใบ ประกอบด้วย อุณหภูมิ, ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH), ความเป็นด่าง (alkalinity), แอมโมเนียรวม (total ammonia) และไนไตรท์ (NO_2^-) ทำการทดลองครั้งละ 10 วัน นำข้อมูลที่ได้ทั้ง 3 ชั่วโมงวิเคราะห์ทางสถิติ สรุปหาความหนาแน่นของอาร์ทีเมียและปริมาณการใช้ EM ที่เหมาะสม

การทดลองที่ 3 การขยายขนาดหน่วยการเลี้ยงอาร์ทีเมียและวิธีการให้อาหารที่เหมาะสมแบบเก็บผลผลิตครั้งเดียว

นำผลสรุปความหนาแน่นของอาร์ทีเมียและปริมาณการใช้จุลินทรีย์ EM ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 มาขยายขนาดเป็น 50 ลิตร และมีวิธีการให้อาหารแตกต่างกันคือ ให้แบบธรรมดา และให้แบบหยด ชุดการทดลองละ 5 ขวด ทำการเลี้ยงนาน 10 วัน เก็บผลผลิตทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลองและคำนวณต้นทุนการผลิต

การทดลองที่ 4 การเลี้ยงอาร์ทีเมียแบบทยอยเก็บผลผลิต

นำวิธีการให้อาหารที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3 มาทำการทดลองเลี้ยงอาร์ทีเมียแบบทยอยเก็บผลผลิต ทำการเลี้ยง 10 ชั่วโมง เก็บผลผลิตโดยใช้สวิงตาห่างชั้นอาร์ทีเมียตัวโตบางส่วนออก ทุก 10 วันนาน 40 วัน บันทึกข้อมูลผลผลิตที่ได้และต้นทุนการผลิต

3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีในการทดลอง

3.2.1 วัสดุ

- 1) ไข่อาร์ทีเมียยี่ห่อ Columbia Artemia สายพันธุ์จากประเทศอเมริกา
- 2) กากน้ำตาล
- 3) น้ำตาลทราย
- 4) ยีสต์ขนมปัง
- 5) จุลินทรีย์ EM ของบริษัท อี เอ็ม คิวเซ จำกัด

3.2.2 อุปกรณ์

- 1) ขวดโหลพลาสติกขนาด 1 ลิตร
- 2) โหลทดลองพลาสติกขนาด 10 ลิตร
- 3) ถังพลาสติกขนาด 50 ลิตร
- 4) ปิเปต
- 5) เครื่องให้อากาศ
- 6) ผ้ากรองขนาด 60 ไมครอน
- 7) กระดาษขนาดเล็ก
- 8) สายยางและหัวทราย
- 9) โคมไฟ
- 10) กระชอน
- 11) เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- 12) เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ Salinometer, pH meter, Thermometer
- 13) กล้องจุลทรรศน์พร้อมค้ำย Stage Micrometer
- 14) เข็มเขี่ย
- 15) เวอร์เนีย
- 16) ที่นับ (Hand counter)
- 17) กล้องถ่ายรูป
- 18) หลอดดูดแก้วพร้อมลูกยาง
- 19) จานแก้วสำหรับนับอาร์ทีเมีย
- 20) บีกเกอร์
- 21) สไลด์นับแฟลตกัตตอนสัตว์ (Sedgwick-rafter slide)

3.2.3 สารเคมี

- 1) เกลีสินขาวแบบตาก จากอำเภอบ้านดุง จังหวัดอุดรธานี
- 2) แอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 3) ฟอर्मาลิน
- 4) ปูนเปลือกหอย

3.3 การเตรียมการทดลอง

3.3.1 การเตรียมภาชนะ

เตรียมภาชนะโดยการล้างภาชนะและอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น โหล กะละมัง ถัง เป็นต้น ตากฟุ้งให้แห้ง

3.3.2 การเตรียมน้ำ

กรองน้ำประปาผ่านผ้ากรองขนาด 60 ไมครอนลงในถังพลาสติก จากนั้นละลายเกลีสินขาว ปรับความเค็มให้ได้ตามที่ต้องการ ใส่หัวทรายเพื่อให้อากาศตลอดเวลาทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ น้ำกับเกลือเข้ากันได้ดี จากนั้นใส่ปูนเปลือกหอย 0.15 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้เกิดการ ตกตะกอน ก่อนเริ่มการทดลองตรวจสอบคุณภาพน้ำ ได้แก่ ค่าอัลคาไลทีนิตี้ พีเอช ความเค็ม อีก ครั้ง

3.3.3 การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงอาร์ทีเมียคือ ยีสต์ขนมปัง ทำการเตรียมโดยละลาย แอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมน้ำตาลลงไป 24 กรัม และยีสต์ ขนมปัง 10 กรัม คนให้ละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เทสารละลายทั้งหมดใส่ในขวดแก้วปากแคบ จุ่ม สายลมที่ไม่มีหัวทรายลงให้ถึงก้นขวด แรงลมจากสายลมจะทำให้สารละลายในขวดหมุนเวียนเป็น เนื้อเดียวกันตลอดเวลา ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-3 วัน จึงเริ่มใช้เป็นอาหารเลี้ยงอาร์ทีเมีย ควรทำการ เตรียมยีสต์ก่อนเริ่มการทดลอง และมีการเตรียมเพิ่มเป็นระยะ ๆ ตลอดการทดลอง

3.3.4 การเตรียมสัตว์ทดลอง

1) นำไข่อาร์ทีเมียไปฟักในน้ำเกลือสินขาว 30 กรัมต่อลิตร โดยใช้ไข่อาร์ทีเมีย 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ใส่ในขวดฟักที่มีลักษณะทึบแสง ส่วนด้านล่างโปร่งแสงเพื่อให้่ายต่อการแยก เปลือกหลังจากการฟักเรียบร้อยแล้ว ให้อากาศและแสงตลอดเวลาในระหว่างการฟัก ใช้เวลาในการ ฟัก 48 ชั่วโมง (อนันต์และคณะ, 2536)

2) เมื่อครบระยะเวลาการฟัก 48 ชั่วโมง ปิดฝาด้วยวัสดุทึบแสง หยดให้อากาศเป็น เวลา 15 นาที เพื่อให้เปลือกไข่ลอยขึ้นด้านบน ส่วนตัวอ่อนจะจมอยู่ด้านล่าง จากนั้นทำการสุ่มนับ

จำนวนเพื่อประเมินความหนาแน่นของอาร์ทีเมียโดยใช้หลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสไลด์นับแฟลนก์ตอนสัตว์ (Sedgwick-rafter slide) หยดฟอว์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อยเพื่อหยุดการเคลื่อนที่ของอาร์ทีเมีย ทำการนับจำนวนตัวอ่อนทั้งหมด ตามวิธีการของ ลัดดาและโสภณา (2546) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า คำนวณความหนาแน่นของอาร์ทีเมียที่ใช้เริ่มการทดลองโดยใช้วิธีการเทียบบัญญัติไตรยางศ์

3.3.5 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ EM (สมบัติ, 2549)

ทำ EM ขยาย ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ 1 ลิตร น้ำตาลทรายแดง 100 กรัม น้ำสะอาด 10 ลิตร ทำการผสมน้ำและน้ำตาลทรายแดงให้เข้ากันจึงใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ EM ของศูนย์ฝึกอบรมและเผยแพร่เกษตรธรรมชาติวิเช 1 ลิตรผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสมทั้งหมดหมักไว้ในขวดพลาสติกที่สะอาด มีฝาปิดมิดชิด เก็บไว้ในที่ร่ม อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการหมัก 7 วัน ก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การทดลองที่ 1 ความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงอาร์ทีเมีย

1) สุ่มนับตัวอ่อนที่ได้จากการฟักให้มีความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อลิตรโดยเปรียบเทียบจำนวนตัวอ่อนอาร์ทีเมียจากปริมาตรการสุ่ม 1 มิลลิลิตร ที่สุ่มได้ใน 3.3.4 ลงในขวดขนาด 1 ลิตรที่ได้เตรียมน้ำเกลือสินเธาว์ความเค็มแตกต่างกัน คือ 10, 30, 50 และ 70 กรัมต่อลิตร เอาไว้แล้ว 800 มิลลิลิตร ความเค็มละ 30 ขวดรวม 120 ขวดทดลอง ทำการเติมน้ำเกลือสินเธาว์ที่ความเค็มต่าง ๆ ลงในขวดทดลองทุกใบให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร

2) ใช้ยีสต์ขนมปังที่เตรียมไว้ใน ข้อ 3.3.3 เป็นอาหารเลี้ยงอาร์ทีเมียโดยให้ยีสต์มีความหนาแน่นหลังการให้ที่จำนวน 3×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ยีสต์วันละ 3 ครั้ง ที่เวลา 08.00, 12.00, 16.00 น. นาน 10 วัน เนื่องจากยีสต์ขนมปังมีฤทธิ์เป็นกรด เมื่อใส่ยีสต์ขนมปังเลี้ยงอาร์ทีเมียไปแล้ว มีการใส่น้ำปูนใสซึ่งเตรียมจาก ปูนขาว 1 กรัมผสมกับ น้ำ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนใช้เฉพาะส่วนที่ใสเท่ากับปริมาณอาหารที่ให้

3) ทำการสุ่มขวดเลี้ยงอาร์ทีเมียทุกวัน วันละ 3 ขวดต่อชุดการทดลอง (12 ขวดต่อวัน) บันทึกค่าต่าง ๆ ดังนี้

ก. วัดขนาดความยาวของตัวอาร์ทีเมียใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า จำนวน 50 ตัวต่อขวด

ข. นับจำนวนอาร์ทีเมียที่ได้จากแต่ละขวดทดลอง เพื่อใช้คำนวณอัตราการรอดตายของอาร์ทีเมียในแต่ละระยะ

ค. ชั่งน้ำหนักของอาร์ทีเมียที่ได้ทั้งหมดในแต่ละขวดทดลอง

3.4.2 การทดลองที่ 2 การเพิ่มปัจจัยความหนาแน่นและการใช้จุลินทรีย์ EM เพิ่มผลผลิตอาร์ทีเมีย

1) ในแต่ละครั้งของการทดลอง จะมีการสูบน้ำตัวอ่อนที่ได้จากการฟักให้มีความหนาแน่นที่ต้องการศึกษาคือ 1000, 2000 และ 3000 ตัวต่อลิตรโดยเปรียบเทียบจำนวนตัวอ่อนอาร์ทีเมียจากปริมาตรการสูม 1 มิลลิตร ที่สูมได้ใน 3.3.4 ลงในขวดขนาด 1 ลิตร ที่ได้เตรียมน้ำเกลือสินเธาว์เอาไว้แล้ว 800 มิลลิตร ซึ่งจะใส่ตัวอ่อนอาร์ทีเมียแต่ละความหนาแน่น 30 ขวด ทำการเติมน้ำเกลือสินเธาว์ ลงในขวดทดลองทุกใบให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร

2) ใช้ยีสต์ขนมปังที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.3 เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3) เติมจุลินทรีย์ EM ปริมาณต่าง ๆ ได้แก่ 0, 1 และ 2 มิลลิตรต่อลิตรลงในขวดทดลองตามที่ได้สูมไว้ ทุกวันในตอนเย็น

4) ทำการสูมขวดเลี้ยงอาร์ทีเมียทุกวัน วันละ 1 ขวดต่อชุดการทดลอง (9 ขวดต่อวัน) บันทึกค่าต่าง ๆ ดังนี้

ก. ชั่งน้ำหนักของอาร์ทีเมียที่ได้ทั้งหมดในแต่ละขวดทดลอง

ข. นับจำนวนอาร์ทีเมียที่ได้จากแต่ละขวดทดลอง เพื่อใช้คำนวณอัตราการรอดตายของ อาร์ทีเมียในแต่ละระยะ

ค. วัดคุณภาพน้ำ ได้แก่อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเป็นด่าง (alkalinity) แอมโมเนียรวม (total ammonia) และไนไตรท์ (NO_2^-)

3.4.3 การทดลองที่ 3 การขยายขนาดหน่วยการเลี้ยงอาร์ทีเมียและวิธีการให้อาหารแตกต่างกันแบบเก็บผลผลิตครั้งเดียว

นำผลสรุปความหนาแน่นของอาร์ทีเมียและปริมาณการใช้จุลินทรีย์ EM ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 มาขยายขนาดเป็น 50 ลิตร และมีการให้อาหารแบบธรรมดาและให้อาหารแบบหยด ชุดการทดลองละ 5 ชุด ทำการเลี้ยงนาน 10 วัน เก็บผลผลิตทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลองและคำนวณต้นทุนการผลิต

3.4.4 การทดลองที่ 4 การเลี้ยงอาร์ทีเมียแบบทยอยเก็บผลผลิต

นำวิธีการให้อาหารที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3 มาทำการทดลองเลี้ยงอาร์ทีเมียแบบทยอยเก็บผลผลิต ทำการเลี้ยง 10 ซ้ำ เก็บผลผลิตโดยใช้สวิงตาห่างช้อนอาร์ทีเมียตัวโตบางส่วนออก ทุก 10 วันนาน 40 วัน บันทึกข้อมูลผลผลิตที่ได้และต้นทุนการผลิต

3.5 การคำนวณตัวแปรต่าง ๆ

3.5.1 อัตราการรอดตาย (survival rate ; %)

$$\text{ร้อยละการรอดตาย} = \frac{\text{จำนวนอาร์ทีเมียที่เหลือจากการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนอาร์ทีเมียเมื่อเริ่มการทดลอง}}$$

3.5.2 อัตราการเจริญเติบโตด้านความยาว (มิลลิเมตรต่อวัน)

$$\begin{aligned} \text{อัตราการเจริญเติบโตด้านความยาว} &= (L_{t_2} - L_{t_1}) / \text{ระยะเวลา} \\ \text{โดยที่ } L_{t_2} &= \text{ปริมาณความยาวเฉลี่ย (มิลลิเมตร) เมื่อเวลาที่ } T_2 \\ L_{t_1} &= \text{ปริมาณความยาวเฉลี่ย (มิลลิเมตร) เมื่อเวลาที่ } T_1 \end{aligned}$$

3.5.3 อัตราการเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก (มิลลิกรัมต่อวัน)

$$\begin{aligned} \text{อัตราการเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก} &= (W_{t_2} - W_{t_1}) / \text{ระยะเวลา} \\ \text{โดยที่ } W_{t_2} &= \text{ปริมาณน้ำหนักเฉลี่ย (มิลลิกรัม) เมื่อเวลาที่ } T_2 \\ W_{t_1} &= \text{ปริมาณน้ำหนักเฉลี่ย (มิลลิกรัม) เมื่อเวลาที่ } T_1 \end{aligned}$$

3.5.4 ต้นทุนการผลิต

ต้นทุนการผลิตของการเลี้ยงอาร์ทีเมียในน้ำเกลือสินเธาว์ในการทดลองที่ 4 มีการวิเคราะห์ต้นทุน, รายได้ และผลตอบแทนแต่ละชุดการทดลองดังนี้

$$\text{ก. ต้นทุนทั้งหมด} = \text{ต้นทุนผันแปร} + \text{ต้นทุนคงที่}$$

$$\text{ข. ต้นทุนผันแปร} = \text{ค่าอาร์ทีเมีย} + \text{ค่าอาหาร} + \text{ค่าไฟฟ้า} + \text{ค่าน้ำ} + \text{ค่าเกลือ} + \text{ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน}$$

$$\text{ค. ค่าเสียโอกาส} = \text{ค่าเสียโอกาสในการนำเงินทุนไปประกอบกิจการอื่น}$$

โดยคำนวณ จากอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 12 เดือน คือร้อยละ 1.25 ต่อปี

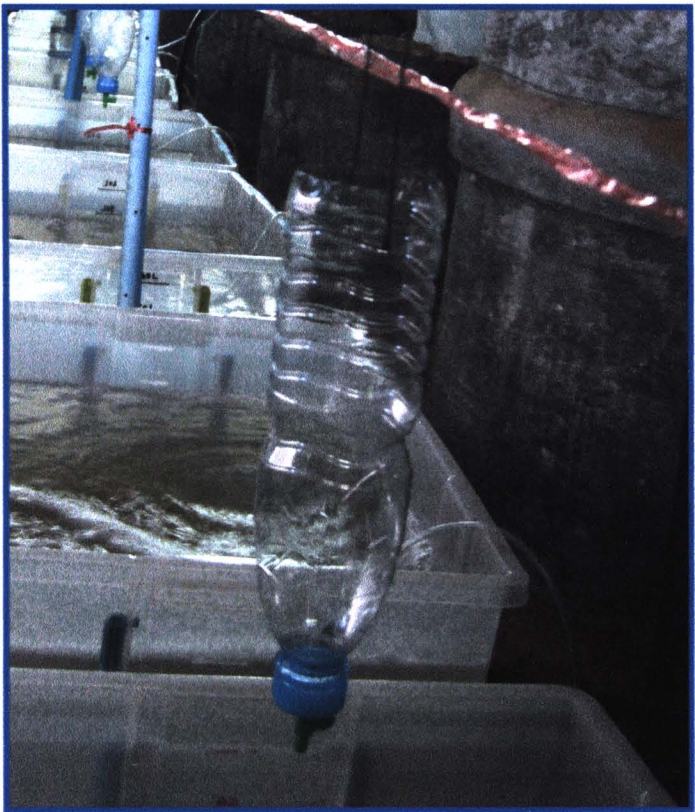
$$\text{ง. ค่าเสื่อมราคา} = \text{จำนวนโดยวิธี straight-line method ซึ่งกำหนดให้มูลค่าซากเป็นศูนย์ ค่าเสื่อมราคานี้คำนวณได้จาก มูลค่าอุปกรณ์ที่ซื้อมาหรือสร้างขึ้นหารด้วยอายุการใช้งาน}$$

และคำนวณผลตอบแทนโดยใช้สูตรต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- ก. รายได้จากการขายอาร์ทีเมีย = ราคาอาร์ทีเมีย(บาท/กิโลกรัม) × จำนวนอาร์ทีเมีย (กิโลกรัม)
- ข. กำไร = กำไรจากการขายอาร์ทีเมีย – ต้นทุนผันแปร
- ค. กำไรสุทธิ = กำไร – ต้นทุนคงที่
- ง. ผลตอบแทนการลงทุน(%) = กำไรสุทธิ/ต้นทุนทั้งหมด × 100

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s new multiple rang test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ95 โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS



ภาพที่ 3.1 ขวดอุปกรณ์การให้อาหารแบบหยด