

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของการเสริมสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายสไปรูลิน่า ฟัทะลายโจร และกระเทียมสด ในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมรรถภาพทางการผลิตของกุ้งขาวแวนนาไม คุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม และปริมาณเชื้อไวรัสโอในตับกุ้งขาวแวนนาไม โดยมีวิธีการดำเนินการวิจัย ดังนี้

#### 1. รูปแบบการวิจัย

1.1 แผนการทดลอง เป็นการวิจัยเชิงทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) มี 7 ทริตเมนต์ แต่ละทริตเมนต์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้กุ้งทดลอง 6 ตัว สำหรับทริตเมนต์ที่ใช้ทดลอง ประกอบด้วย

T1 กลุ่มควบคุม: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ไม่เสริมสมุนไพร

T2 สาหร่ายสไปรูลิน่า 5%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5%

T3 สาหร่ายสไปรูลิน่า 10%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า 10%

T4 ฟัทะลายโจร 0.15%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมฟัทะลายโจร 0.15%

T5 ฟัทะลายโจร 0.30%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมฟัทะลายโจร 0.30%

T6 กระเทียมสด 0.5%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมกระเทียมสด 0.5%

T7 กระเทียมสด 1.0%: เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมกระเทียมสด 1.0%

1.2 กุ้งทดลอง กุ้งทดลองเป็นกุ้งขาวแวนนาไมจำนวนทั้งสิ้น 126 ตัว มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 10-11 กรัม กุ้งทดลองที่นำมาจากฟาร์มท่าใหม่ 2 เลขที่ 30 หมู่ 8 ต.สียา อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี

## 2. วัสดุ และอุปกรณ์ในการวิจัย

### 2.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 *สาหร่ายสไปรูลิน่า* มีลักษณะบดละเอียดและผ่านการอบแห้ง มาจากคณะเทคโนโลยีการประมงฯ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

2.1.2 *ฟ้าทะลายโจร* มีลักษณะบดละเอียดและผ่านการอบแห้ง จากร้านขายยาจีน อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

2.1.3 *กระเทียมสด* เป็นกระเทียมไทยจากตลาดใน อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

2.2 อาหารทดลอง เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปทางการค้า มีโปรตีนร้อยละ 36 ไขมันร้อยละ 4 กากหรือเยื่อใยไม่เกินกว่าร้อยละ 4 และความชื้นไม่เกินร้อยละ 12

2.3 *น้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง* เป็นน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสารเคมีในบ่อพักน้ำ

### 2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทดลอง และเก็บข้อมูล

2.4.1 *อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม* ได้แก่ ถังขนาด 60 ลิตร (พร้อมอุปกรณ์ป้องกันกุ้งกระโดดออกจากถัง) อุปกรณ์ให้อากาศ อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ

2.4.2 *อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง* ได้แก่ สวิงตักกุ้ง เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2.4.3 *เครื่องมือที่ใช้ตรวจวัดคุณภาพน้ำ* ได้แก่ เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) อุปกรณ์วัดค่าต่าง แอมโมเนียที่ละลายน้ำ ไนไตรท์ที่ละลายน้ำ เครื่องวัดความเค็มของน้ำ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH)

2.4.5 *อุปกรณ์วัดปริมาณเชื้อไวรัสในตับกุ้ง* ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

## 3. ขั้นตอนการทดลอง

### 3.1 ขั้นตอนเตรียมการ

#### 3.1.1 การเตรียมถังทดลอง

1) ทำความสะอาดถังขนาด 60 ลิตร โดยใส่น้ำเต็มถังแล้วแช่ไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ แล้วตากแดดให้แห้ง

2) ใส่อุปกรณ์ให้อากาศให้เรียบร้อย

3) ใส่น้ำ 40 ลิตรในถังเพื่อเตรียมปล่อยกุ้ง

**3.1.2 การเตรียมอาหารทดลอง** สำหรับทริตเมนต์ที่ 1 ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปโดยไม่ต้องผสมสมุนไพร ส่วนอาหารทดลองทริตเมนต์ที่ 2-7 แต่ละทริตเมนต์มีการจัดเตรียม ดังนี้

- 1) ชั่งอาหารเม็ดสำเร็จรูป 1 กิโลกรัม
- 2) ชั่งสมุนไพรตามปริมาณที่กำหนดของแต่ละทริตเมนต์ ดังตารางที่ 3.1
- 3) นำสมุนไพรที่ชั่งมาคลุกกับอาหารเม็ดสำเร็จรูป โดยใช้ไขขาวเป็น

ตัวประสาน

ประมาณ 1 ชั่วโมง

4) นำอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผ่านการผสมด้วยสมุนไพรไปฟุ้งลมให้แห้ง  
5) เมื่อเม็ดอาหารแห้งดีแล้ว เก็บในภาชนะที่ป้องกันไม่ให้ถูกแสง เพื่อนำไปใช้เลี้ยงกุ้งต่อไป

ตารางที่ 3.1 ปริมาณอาหารเม็ดสำเร็จรูปและสมุนไพรที่ใช้ในแต่ละทริตเมนต์

ทริตเมนต์ที่	ปริมาณอาหารเม็ดสำเร็จรูป	ปริมาณสมุนไพร
1	1,000 กรัม	-
2	1,000 กรัม	สาหร่ายสไปรูลิน่า 50 กรัม
3	1,000 กรัม	สาหร่ายสไปรูลิน่า 100 กรัม
4	1,000 กรัม	ฟ้าทะลายโจร 1.5 กรัม
5	1,000 กรัม	ฟ้าทะลายโจร 3 กรัม
6	1,000 กรัม	กระเทียมสด 5 กรัม
7	1,000 กรัม	กระเทียมสด 10 กรัม

### 3.1.3 การเตรียมกุ้งทดลอง

กุ้งทดลองเป็นกุ้งขาวแวนนาไมจากแหล่งผลิตเดียวกันคือ ฟาร์มท่าใหม่<sup>2</sup> ทำการคัดเลือกกุ้งที่มีสุขภาพแข็งแรง มีขนาดน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 10-11 กรัม จำนวน 126 ตัว

**3.1.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย** เตรียมอาหาร TCBS ก่อนการเพาะเลี้ยงเชื้อ 1 วัน จำนวน 21 งาน เพื่อใช้เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

### 3.2 ขั้นตอนทดลอง ประกอบด้วย

3.2.1 **ปล่อยกุ้งในถัง** สุ่มกุ้งขาวแวนนาไม ลงในถังขนาด 60 ลิตร ถึงละ 6 ตัว จำนวน 21 ถัง

3.2.2 **ให้อาหารกุ้ง** ให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไมปริมาณวันละ 5 % ของน้ำหนักตัว โดยแบ่งให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน ในช่วงเวลา 9.00 น. 12.00 น. และ 15.00 น. ทำโดยชั่งกุ้งในถังทุกสัปดาห์ เพื่อนำมาคิดปริมาณอาหารที่ให้ในสัปดาห์ต่อไป

3.2.3 **การจัดการเลี้ยงดูระหว่างเลี้ยง** เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกสัปดาห์

## 4. การเก็บรวบรวมข้อมูล

4.1 **ชั่งน้ำหนักกุ้ง** ชั่งน้ำหนักกุ้งในวันแรกของการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำมาคำนวณหาค่าอัตราการเจริญเติบโต (Average daily gain: ADG) ดังนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต (ADG)} = \frac{\text{นน.กุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{นน.กุ้งเมื่อเริ่มต้นทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}} \text{ (กรัมต่อตัวต่อวัน)}$$

4.2 **บันทึกอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด** บันทึกอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด ตั้งแต่เริ่มทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง นำน้ำหนักอาหารที่กิน พร้อมทั้งน้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์นั้น มาคำนวณหาอัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR) ดังนี้

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ย (กรัมต่อตัวต่อวัน)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยของกุ้ง (กรัมต่อตัวต่อวัน)}}$$

4.3 **บันทึกจำนวนกุ้ง** โดยบันทึกจำนวนกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำมาคำนวณหาอัตราการเลี้ยงรอด (Survival rate: SR: %) โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการเลี้ยงรอด (\%)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่มีชีวิตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งทั้งหมดที่ปล่อยลงบ่อเลี้ยง}}$$

4.4 บันทึกคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง ก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำดังต่อไปนี้

4.4.1 อุณหภูมิ น้ำ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

4.4.2 ค่าความเค็ม โดยใช้เครื่องมือวัดความเค็ม

4.4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใช้วิธีการไตเตรท

4.4.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) โดยใช้เครื่องวัดสำเร็จรูป

4.4.5 ปริมาณแอมโมเนียที่ละลายในน้ำโดยใช้วิธีการไตเตรท

4.4.6 ปริมาณไนโตรที่ละลายในน้ำ โดยใช้วิธีการไตเตรท

4.4.7 ปริมาณความเป็นด่างของน้ำ โดยใช้วิธีการไตเตรท

4.5 ปริมาณเชื้อไวรัสในตับกุ้งขาวแวนนาไม

4.5.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสจากตับกุ้ง หลังจากชั่งกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มกุ้งชำละ 1 ตัว มาแยกตับออกจากตัวกุ้งด้วยวิธีปราศจากเชื้อ ตัดส่วนของตับนำไปชั่งให้ได้น้ำหนัก 0.1 กรัม นำไปบดด้วยโกร่งบดแล้วเจือจางด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ จนได้ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ อีก 10 เท่าป็นเนื้อเดียวกัน คูดตัวอย่างดังกล่าว 0.1 มิลลิลิตร หยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS กระจายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

4.5.2 ตรวจสอบจำนวนแบคทีเรีย นำอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ที่ได้บ่มนาน 24 ชั่วโมง มานับเชื้อแบคทีเรีย โดยนับแยกกลุ่มไวรัสโอที่ให้โคโลนีสีเขียว และ กลุ่มไวรัสโอให้โคโลนีสีเหลือง

## 5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่เก็บรวบรวมมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## 6. สถานที่ทดลอง

ฟาร์มท่าใหม่ 2 เลขที่ 30 หมู่ 8 ต.สียา อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี

## 7. ระยะเวลาทำการทดลอง

ระยะเวลาทำการทดลองเป็นเวลา 84 วัน ตั้งแต่วันที่ 21 ธันวาคม 2556 ถึง 15 มีนาคม

2557

