บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์สำหรับการทดลอง

- ถังพลาสติกใสปริมาตร 6 ลิตร
- ถังพลาสติกปริมาตร 150 ลิตร และ 500 ลิตร
- เครื่องเติมอากาศ (RESUN® LP-100)
- ตัวเรือนกรองขนาด 1.5 ลิตร (ขนาด 4 และ 6 หุน)
- ไส้กรองเส้นใยแบบจีบขนาดรูพรุน 30 ไมครอน (Sediment Filter Cartridge)
- เครื่องสูบน้ำขนาดเล็กกำลังสูบสูงสุด 2,800 ลิตร/ชม. (RESUN® SP-6800) และ 3,500 ลิตร/ชม. (RESUN® KING-3B)
- หัววาล์วและข้อต่อทองเหลือง
- สายยางพลาสติกสำหรับเติมอากาศ
- สายยางสำหรับต่อกับเครื่องกรองแบบแบ่งส่วน
- หัวทรายสำหรับเติมอากาศ
- เครื่องชั่งน้ำหนัก
- อุปกรณ์วัดความยาว

3.1.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- บีกเกอร์
- ขวดวัดปริมาตร
- ขวดรูปชมพู่
- ปิเปต
- ไมโครปิเปต
- กระบอกตวง
- หลอดทดลอง
- กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 25 และ 47 มม.

- กล้องจุลทรรศน์
- เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
- เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (D.O. meter)
- เครื่องวัดความเค็ม (Refractometer)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
- เครื่องอบ
- เครื่องชั่งสารเคมี

3.1.3 สารเคมี

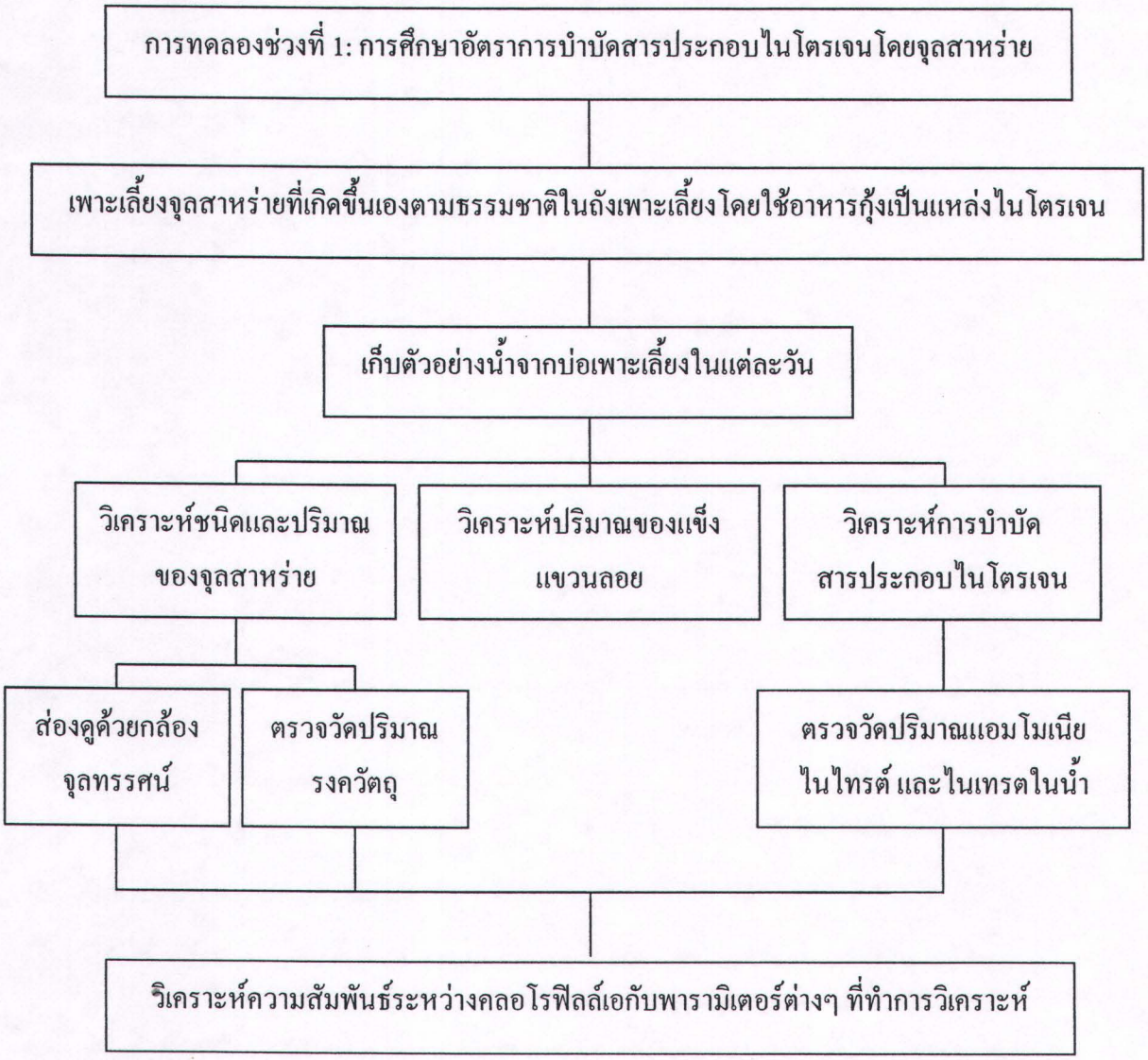
- Phenol solution (Phenol 20 g ใน 95 % V/V ethyl alcohol)
- Sodium nitropusside solution ($Na_2Fe(CN)_5NO.2H_2O$)
- Oxidizing solution (Sodium citrate 100 g และ NaOH 5 g ในน้ำ DI 500 ml)
- Sodium hypochlorite (NaOCl)
- Sodium nitrite ($NaNO_2$)
- Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)
- Sodium hydroxide (NaOH)
- Ammonium chloride (NH_4Cl)
- Sulphanilamide (Sulphanilamide 5 g และ HCl 50 ml)
- NNED solution (N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride)
- Sulfuric acid (H_2SO_4)
- Purified potassium peroxdisulphate ($K_2S_2O_8$)
- Boric acid (H_3BO_3)
- Chlorine
- 90% Acetone
- De-ionized water (DI water)

3.2 การดำเนินการทดลอง

งานวิจัยนี้ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง การทดลองช่วงที่ 1 เป็นการศึกษาอัตราการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ในบ่อจำลองที่มีการใส่อาหารกุ้งลงไปในน้ำเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนของจุลสาหร่าย การทดลองช่วงที่ 2 เป็นการศึกษาการแยกจุลสาหร่ายออกจากน้ำโดยใช้ระบบกรองแบบแบ่งส่วน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของระบบกรองก่อนนำไปใช้ในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจริง และการทดลองช่วงที่ 3 เป็นการศึกษาการนำระบบกรองแบบแบ่งส่วนมาใช้ร่วมกับระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกันระหว่างถังเลี้ยงกุ้งขาวและถังเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เพื่อเทียบเคียงปริมาณและลักษณะของอนุภาคของแข็งแขวนลอยที่เกิดขึ้นในถังเลี้ยงกุ้ง 2 ระบบ ทั้งในถังที่มีการกรองและไม่มีการกรอง โดยการเพาะเลี้ยงได้ดำเนินการเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน ดังมีรายละเอียดในแต่ละช่วงของการทดลองดังต่อไปนี้

<u>การทดลองช่วงที่ 1</u> : การศึกษาการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ

การทดลองช่วงนี้เป็นการศึกษาความสามารถของจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำ โดยแหล่งของสารประกอบไนโตรเจนจะมาจากอาหารกุ้งบดที่มีการใส่ลงไปในถังเพาะเลี้ยง ดำเนินการทดลองแบบแบทช์ ภายใต้แสงจากธรรมชาติโดยไม่มีการเวียนน้ำออกจากถังเพาะเลี้ยง ซึ่งแผนผังของการทดลองในช่วงที่ 1 แสดงไว้ดังรูปที่ 3.1 และพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ได้ทำการวิเคราะห์ในการชุดทดลองนี้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังสรุปการทดลองช่วงที่ 1

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในการทดลองช่วงที่ 1

ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ชนิดและปริมาณของจุลสาหร่าย	- จุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ
ตัวแปรควบคุม	**ค่าที่ใช้ในการทดลอง**
1. ปริมาณอาหารกุ้ง	- 0.15 กรัม/วัน
2. ค่าความเค็มของน้ำทะเล	- 20 พีเอสยู
3. ปริมาตรน้ำทะเล	- 6 ลิตร
ตัวแปรตาม	**พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์**
1. อัตราการบำบัดสารประกอบไนโตรเจน	- วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนซึ่งได้แก่ แอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรตในน้ำ
2. ปริมาณจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้น	- ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ซี และคาโรทีนอยด์
3. ปริมาณอนุภาคแขวนลอยที่เกิดขึ้น	- ตรวจวัดปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำ

- *การเตรียมระบบเพื่อใช้ในการทดลอง*

ชุดการทดลองประกอบด้วยถังพลาสติกใสปริมาตร 6 ลิตร จำนวน 3 ถัง (การทดลอง 3 ซ้ำ) ซึ่งบรรจุน้ำทะเลความเค็ม 20 พีเอสยูที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตั้งไว้กลางแจ้งในบริเวณที่อากาศถ่ายเทสะดวกและมีแสงแดดส่องถึง โดยแหล่งอาหารของจุลสาหร่ายมาจากการใส่อาหารกุ้งบดละเอียดเป็นปริมาณ 0.15 กรัม/วัน ซึ่งเสมือนเป็นการจำลองระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อติดตามชนิดของจุลสาหร่ายที่จะเกิดขึ้น โดยการใส่อาหารกุ้งจะพิจารณาจากปริมาณอาหารที่ยังคงเหลืออยู่ในน้ำและจะให้อาหารในช่วงเช้าของแต่ละวัน เพื่อให้จุลสาหร่ายสามารถนำอาหารไปใช้ในการสังเคราะห์แสงได้ จากนั้นจึงทำการเก็บตัวอย่างน้ำเป็นประจำทุกวันตลอดการทดลอง จนกระทั่งจุลสาหร่ายในน้ำมีการเจริญเติบโตถึงจุดสูงสุด

- *การตรวจสอบประสิทธิภาพในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลสาหร่าย*

1. การตรวจวัดชนิดและปริมาณจุลสาหร่ายในน้ำใช้วิธีการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์รงควัตถุที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลสาหร่าย โดยการส่องตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเป็น

การตรวจสอบชนิดของจุลสาหร่ายในถังเพาะเลี้ยง ส่วนการตรวจวัดรงควัตถุในน้ำจะเป็นการบ่งชี้กลุ่มของจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้น ซึ่งรงควัตถุที่ได้ทำการวิเคราะห์ในการทดลองนี้ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ซี และคาโรทีนอยด์ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์และทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 645 665 และ 480 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ตามวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำทะเลของ Strickland และ Parsons (1972) (ภาคผนวก ก) โดยสัดส่วนของรงควัตถุแต่ละชนิดจะเป็นตัวบ่งบอกถึงกลุ่มจุลสาหร่ายชนิดหลักที่เติบโตขึ้นในน้ำ

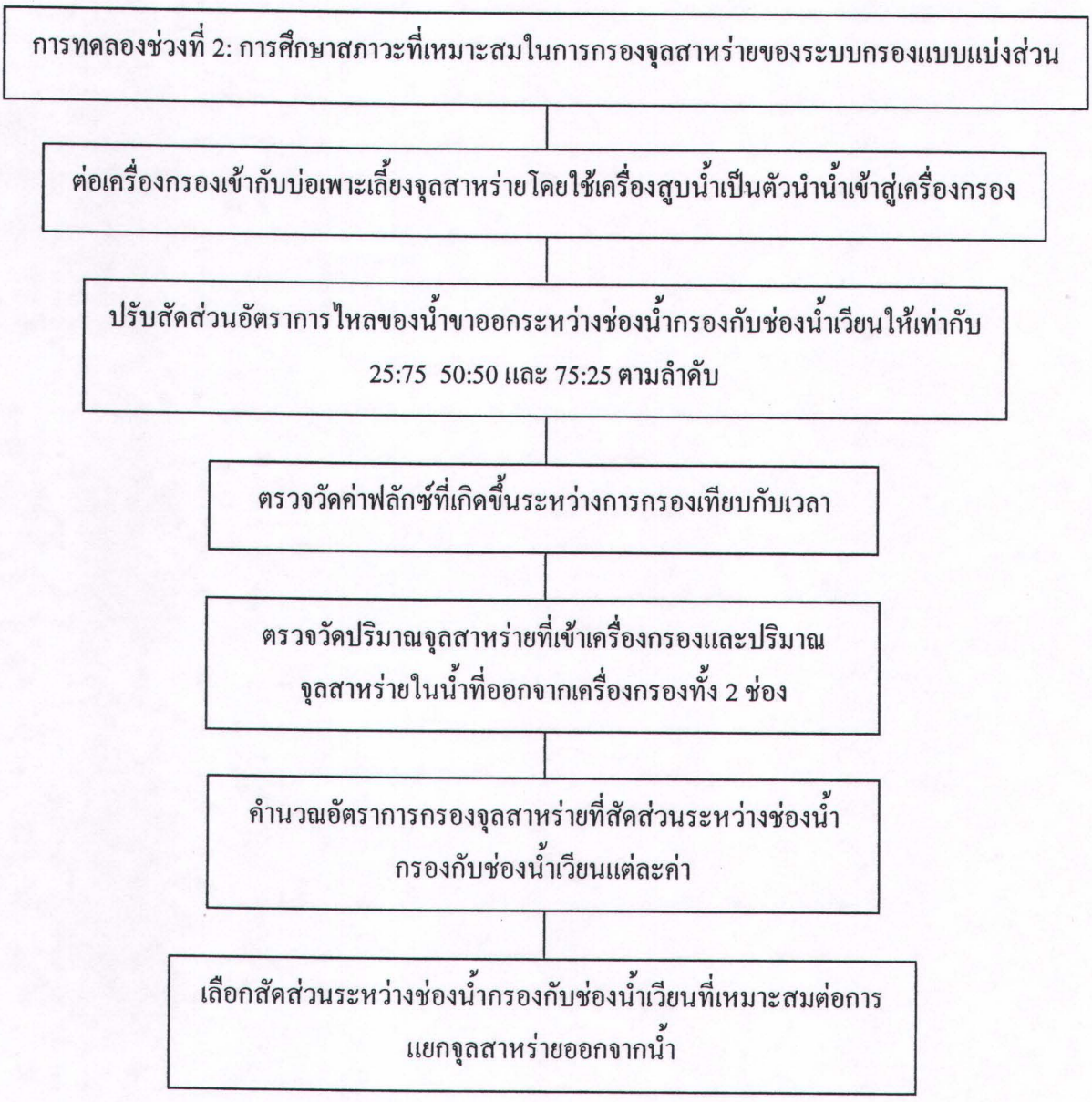
2. การตรวจวัดปริมาณของอนุภาคสารแขวนลอยในน้ำใช้วิธีการวิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย โดยการกรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มม. และอบภายใต้อุณหภูมิ 103 ถึง 105 °ซ เป็นเวลา 1 ชม. จากนั้นจึงทำการชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งเพื่อตรวจหาน้ำหนักของของแข็งบนกระดาษกรอง

3. การตรวจวัดสารประกอบไนโตรเจนใช้วิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรตในน้ำจากถังเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย ซึ่งการวิเคราะห์ได้ดำเนินการโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ตามวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำทะเลของ Strickland และ Parsons (1977) เพื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณอาหารกุ้งที่ใส่ลงในถังกับปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนที่เหลืออยู่ในน้ำ ซึ่งจะเป็นพารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงการนำสารประกอบไนโตรเจนเข้าสู่เซลล์ของจุลสาหร่าย

4. พารามิเตอร์หลักที่ใช้ในการเปรียบเทียบกับพารามิเตอร์อื่นๆ ในการทดลองชุดนี้คือคลอโรฟิลล์เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักที่มีในจุลสาหร่ายทุกชนิดและเป็นตัวแทนของจุลสาหร่ายในบ่อเพาะเลี้ยง โดยพารามิเตอร์แต่ละตัวได้ถูกนำมาเขียนกราฟการเปลี่ยนแปลงเทียบกับเวลาและทำการเปรียบเทียบกับแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เอ

<u>การทดลองช่วงที่ 2</u> : การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกรองจุลสาหร่ายของระบบกรองแบบแบ่งส่วน

การทดลองช่วงที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของระบบกรองแบบแบ่งส่วนเมื่อนำมาใช้ในการกรองจุลสาหร่ายออกจากน้ำ โดยทำการเปรียบเทียบความสามารถในการกรองของเครื่องกรองที่สภาวะต่างๆ กัน โดยแผนภาพสรุปการดำเนินงานในช่วงการทดลองที่ 2 แสดงดังรูปที่ 3.2 และพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ในชุดการทดลองนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แผนผังสรุปการทดลองช่วงที่ 2

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในการทดลองช่วงที่ 2

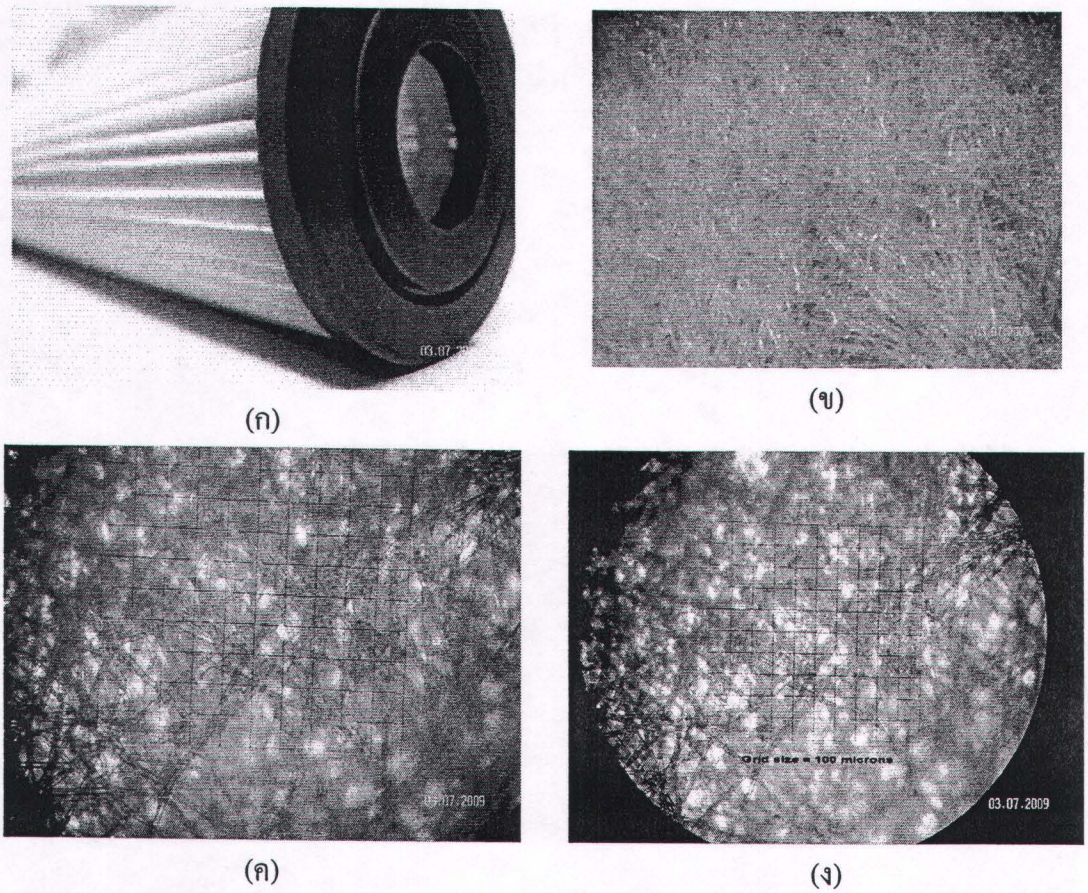
ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. สัดส่วนระหว่างช่องน้ำกรองกับช่องน้ำเวียน	- 25:75 50:50 และ 75:25
ตัวแปรควบคุม	**ค่าที่ใช้ในการทดลอง**
1. ความเร็วน้ำที่เข้าเครื่องกรอง	- 0.0007 และ 0.0016 เมตร/วินาที
ตัวแปรตาม	**พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์**
1. ประสิทธิภาพของเครื่องกรอง	- วิเคราะห์จากค่าฟลักซ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาและอัตราการกรองจุลสาหร่ายที่สัดส่วนระหว่างช่องน้ำกรองกับช่องน้ำเวียนต่างๆ กัน
2. คุณภาพของน้ำกรอง	- วิเคราะห์จากการเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์เอระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียน

- *การเตรียมจุลสาหร่ายเพื่อใช้ในการทดลอง*

จุลสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองคือ *Chaetoceros gracilis* ซึ่งเป็นไดอะตอมน้ำเค็มที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ประมาณ 6 ไมโครเมตร (FAO, 2007) โดยทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ *C. gracilis* ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร F/2 จากขวดเลี้ยงขนาด 100 มล. และขยายให้เป็น 1 ลิตร และ 10 ลิตร ตามลำดับ ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่มีการเติมอากาศในขวดและให้แสงสว่าง 3,000 ลักซ์ ตลอด 24 ชม. จากนั้นจึงนำเซลล์ *C. gracilis* ปริมาตร 10 ลิตร มาใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการเพาะเลี้ยงภายในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร ซึ่งบรรจุน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยูที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการเติมคลอรีน มีการให้แสงสว่าง 3,000 ลักซ์ และทำการเติมอากาศอย่างต่อเนื่อง โดยตอนเริ่มต้นได้ใส่ปุ๋ยสูตรน้ำสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นปริมาตร 10 มล. แล้วจึงดำเนินการการเพาะเลี้ยงจน *C. gracilis* เติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นจนมีความหนาแน่นเซลล์อยู่ที่ประมาณ 6 ถึง $7x10^5$ เซลล์/มล. ก่อนนำมาใช้ในการทดสอบการกรองกับเครื่องกรองแบบแบ่งส่วนต่อไป

- *เครื่องกรองแบบแบ่งส่วนและการติดตั้งชุดอุปกรณ์*

ไส้กรองที่ใช้ในการทดลองเป็นไส้กรองเส้นใยแบบจีบที่มีขนาดรูพรุนประมาณ 30 ไมครอน (Sediment Filter Cartridge) ดังแสดงในรูปที่ 3.3 โดยไส้กรองนี้จะถูกประกอบเข้ากับเรือนกรองพลาสติกใสที่สามารถบรรจุน้ำได้เป็นปริมาตร 1.5 ลิตร โดยรูปและหลักการทำงานของเครื่องกรองแบบแบ่งส่วนที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงดังรูปที่ 3.4



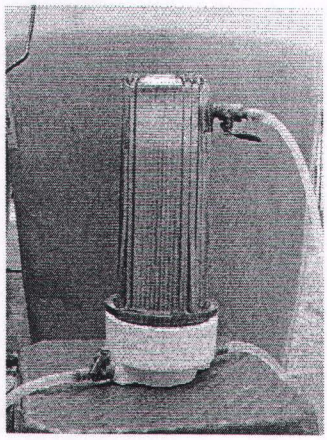
(ก) (ข) (ค) (ง)

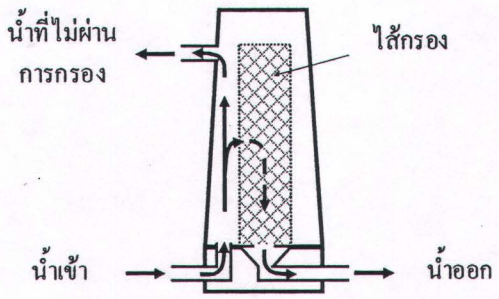
รูปที่ 3.3 ลักษณะของไส้กรองแบบจีบที่ใช้ในการทดลอง

(ก) เส้นใยแบบจีบขนาดรูพรุนประมาณ 30 ไมครอน

(ข) ภาพขยายของเส้นใยกรองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4 เท่า

(ค) และ (ง) ภาพขยายของเส้นใยกรองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า



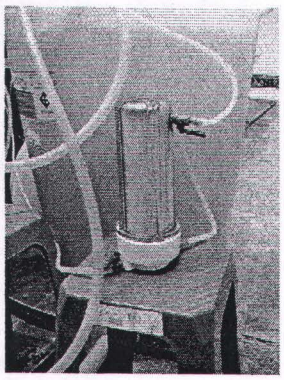


รูปที่ 3.4 ลักษณะและหลักการทำงานของเครื่องกรองแบบแบ่งส่วนที่ใช้ในการทดลอง

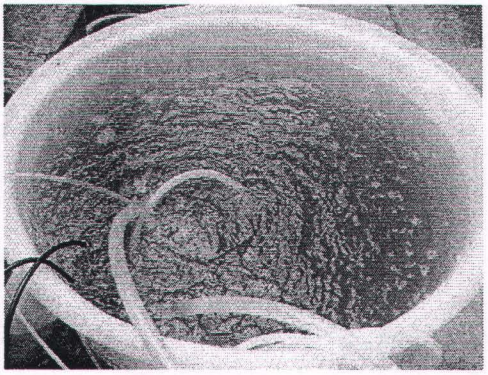
ในช่วงแรกของการทดลองระบบกรองแบบแบ่งส่วน น้ำเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายจะถูกสูบเข้าสู่เครื่องกรองทางช่องน้ำเข้าซึ่งอยู่ทางด้านล่าง จากนั้นน้ำส่วนหนึ่งจะไหลผ่านไส้กรองไปสู่ช่องทางออกอีกทางซึ่งอยู่ที่ด้านล่างเช่นกัน ในขณะที่น้ำอีกส่วนพร้อมด้วยจุลสาหร่ายที่ไม่สามารถผ่านไส้กรองไปได้จะไหลล้นขึ้นไปยังช่องน้ำออกอีกช่องที่อยู่ทางด้านบนของเรือนกรอง โดยช่องทางน้ำออกนี้ได้ถูกเจาะและใส่วาล์วควบคุมเอาไว้เพื่อใช้ในการปรับสัดส่วนอัตราการไหลระหว่างช่องน้ำออกทางด้านล่างหรือส่วนของน้ำกรอง กับช่องน้ำออกทางด้านบนหรือส่วนของน้ำที่จะถูกเวียนกลับไปยังถังเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย ซึ่งแผนภาพการเชื่อมต่อระบบกรองแบบแบ่งส่วนกับถังเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายได้แสดงไว้ดังรูปที่ 3.5 โดยการปรับสัดส่วนจะใช้อัตราการไหลเป็นตัววัดเปอร์เซ็นต์ของน้ำที่ออกจากเครื่องกรองทั้งสองช่อง และเปรียบเทียบกับอัตราการไหลของน้ำทั้งหมดที่เข้าเครื่องกรอง ยกตัวอย่างเช่นการควบคุมสัดส่วนน้ำกรองต่อน้ำเวียนให้มีค่าเท่ากับ 25:75 คือเป็นการปรับให้อัตราการไหลของน้ำที่ผ่านการกรองมีค่าเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำให้สัดส่วนของน้ำเวียนมีค่าเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ที่เข้าเครื่องกรอง

เริ่มเดินระบบกรองโดยใช้เครื่องสูบน้ำขนาดเล็กที่มีกำลังในการสูบน้ำสูงสุด 2,800 ลิตร/ชม. (RESUN® SP-6800) สูบน้ำจากบ่อเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายเข้าสู่เครื่องกรอง ทำการปรับสัดส่วนอัตราการไหลระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียนให้มีค่าเท่ากับ 25:75 50:50 และ 75:25 ตามลำดับ ซึ่งในช่วงแรกของการทดลองได้กำหนดความเร็วของน้ำเข้าเครื่องกรองให้มีค่าเท่ากับ 0.0007 เมตร/วินาที จากนั้นจึงทำการทดลองกรอง *C. gracilis* ที่เพาะเลี้ยงภายในถังปริมาตร 200 ลิตร โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกรองในแต่ละสัดส่วนเป็นระยะเวลาทั้งหมด 60 นาที การตรวจสอบจำนวนของจุลสาหร่ายทำโดยการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในถังเพาะเลี้ยง ในส่วนของน้ำกรองและในส่วนของน้ำเวียน เพื่อใช้ในการคำนวณอัตราการกรองของไส้กรอง หลังจากนั้นจะนำสภาวะการ

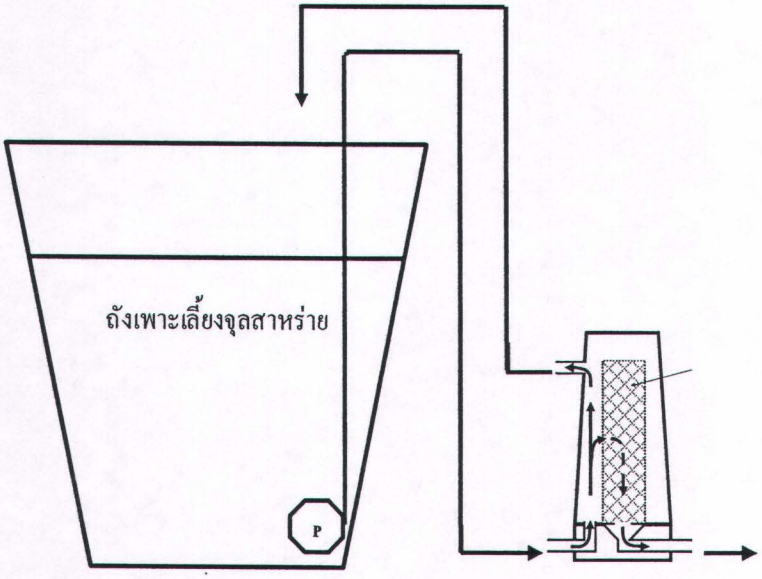
กรองที่เหมาะสมจากการทดลองในขั้นแรกมาทำการกรอง *C. gracilis* อีกครั้งแต่ปรับความเร็วของน้ำเข้าเครื่องกรองให้เพิ่มขึ้นเป็น 0.0016 เมตร/วินาที โดยคงสัดส่วนอัตราการไหลระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียนไว้ที่ 25:75 และเพิ่มระยะเวลาในการกรองขึ้นเป็น 120 นาที



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 3.5 แผนภาพแสดงการเชื่อมต่อระบบกรองแบบแบ่งส่วนกับถังเพาะเลี้ยงจุลสาหร่าย
(ก) เครื่องกรองแบบแบ่งส่วน (ข) ถังเพาะเลี้ยงจุลสาหร่ายขนาด 200 ลิตร
(ค) แผนภาพการเชื่อมต่ออุปกรณ์ในการทดลองช่วงที่ 2

- *การตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบกรองแบบแบ่งส่วน*

1. วิเคราะห์ค่าฟลักซ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลาเมื่อเดินระบบกรองที่ความเร็วของน้ำเข้าเครื่องกรองและสัดส่วนอัตราการไหลระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียนต่างๆ กัน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องกรองแบบแบ่งส่วนในการกรองจุลสาหร่ายออกจากน้ำ

2. วิเคราะห์อัตราการกรองจุลสาหร่ายของเครื่องกรองโดยการตรวจวัดความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอที่เข้าเครื่องกรองและความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอในน้ำที่กรองได้ จากนั้นจึงนำมาคำนวณประสิทธิภาพในการกรองดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการกรอง} = [(C_0 - C_1) / C_0] \times 100$$

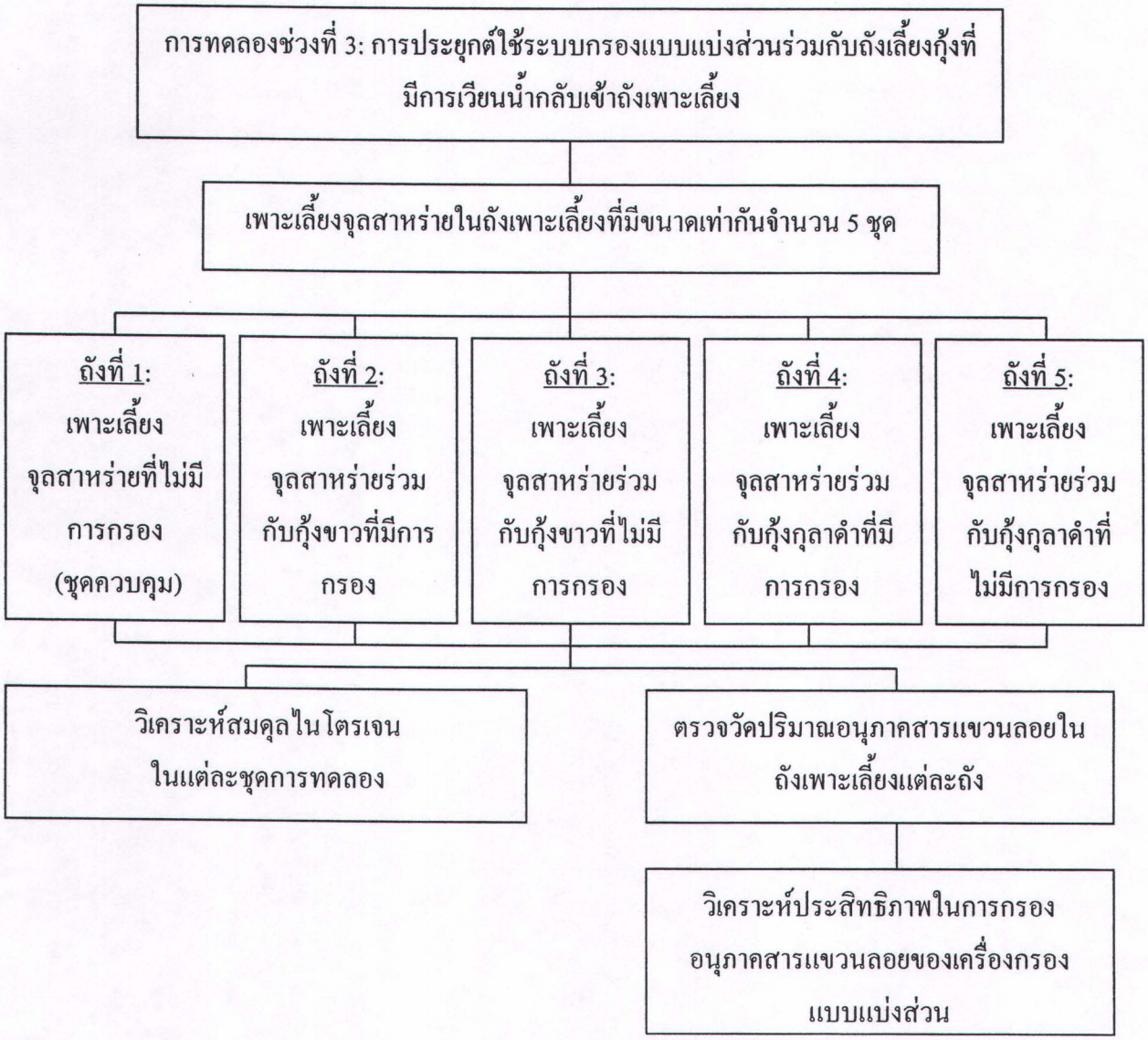
โดยที่ C_0 = คลอโรฟิลล์เอในน้ำที่เข้าเครื่องกรอง

C_1 = คลอโรฟิลล์เอในน้ำที่กรองได้

3. วิเคราะห์สัดส่วนอัตราการไหลระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียนที่เหมาะสมต่อการกรองจุลสาหร่ายเพื่อนำไปใช้ในการทดลองช่วงที่ 3 โดยพิจารณาจากอัตราการกรองและค่าฟลักซ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา

<u>การทดลองช่วงที่ 3</u> : การประยุกต์ใช้ระบบกรองแบบแบ่งส่วนร่วมกับถังเลี้ยงกุ้งไร้ดินระบบปิด

การทดลองช่วงที่ 3 เป็นการศึกษาการนำระบบกรองแบบแบ่งส่วนมาใช้เพื่อกรองจุลสาหร่ายและอนุภาคสารแขวนลอยออกจากถังเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยทำการทดลองกับกุ้ง 2 ชนิดที่มีรูปแบบการเจริญในถังเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน ได้แก่ กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei)* และกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยกุ้งขาวเป็นสัตว์น้ำที่บริโภคทั้งอาหารสำเร็จรูปและจุลสาหร่ายที่มีในน้ำเป็นอาหารไปพร้อมกัน ในขณะที่กุ้งกุลาดำจะอาศัยอยู่ที่พื้นของถังเพาะเลี้ยงและบริโภคเฉพาะอาหารเม็ดแต่ไม่บริโภคจุลสาหร่าย ดังนั้นการทำการทดลองกับถังเลี้ยงกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำเปรียบเทียบกันจึงเป็นการศึกษาผลกระทบของชนิดกุ้งต่อปริมาณและประเภทของจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้น ตลอดจนเป็นการศึกษาปริมาณและความหนาแน่นของอนุภาคของแข็งแขวนลอยที่เกิดขึ้นในถังเพาะเลี้ยงแต่ละบ่อ โดยการทดลองในช่วงนี้เป็นการกรองแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยแบ่งถังเพาะเลี้ยงออกเป็น 5 ชุด ได้แก่ ถังเลี้ยงจุลสาหร่ายที่ไม่มีการกรอง (ชุดควบคุม) ถังเลี้ยงจุลสาหร่ายร่วมกับกุ้งขาวที่มีการกรอง ถังเลี้ยงจุลสาหร่ายร่วมกับกุ้งขาวที่ไม่มีการกรอง ถังเลี้ยงจุลสาหร่ายร่วมกับกุ้งกุลาดำที่มีการกรอง และถังเลี้ยงจุลสาหร่ายร่วมกับกุ้งกุลาดำที่ไม่มีการกรอง ทำการทดลองต่อเนื่องโดยเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน ทำการวิเคราะห์สมดุลไนโตรเจน (Nitrogen budget analysis) ของระบบเพาะเลี้ยงแต่ละถัง เพื่อหาสัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจนที่ถูกบำบัดโดยจุลสาหร่ายและจุลชีพอื่นๆ ที่เกิดขึ้นในน้ำ ซึ่งแผนผังการทดลองในช่วงนี้แสดงไว้ในรูปที่ 3.6 โดยพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 3.3



รูปที่ 3.6 แผนผังสรุปการทดลองช่วงที่ 3

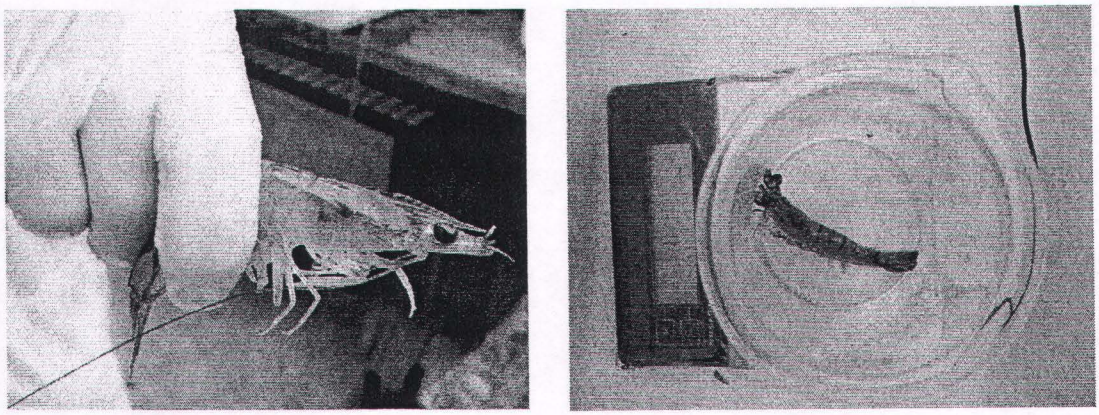
ตารางที่ 3.3 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในการทดลองช่วงที่ 3

ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ชนิดกุ้งที่เพาะเลี้ยง	- กุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ
2. ชนิดและปริมาณของจุลสาหร่าย	- จุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ
3. ปริมาณของอนุภาคสารแขวนลอย	- ปริมาณที่เพิ่มขึ้นเองตามธรรมชาติ
ตัวแปรควบคุม	**ค่าที่ใช้ในการทดลอง**
1. ปริมาณของอาหารกุ้งที่ใส่ในแต่ละถังเพาะเลี้ยง	- 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักกุ้งที่มีในถังเพาะเลี้ยง
2. อายุและความหนาแน่นของกุ้ง	- กุ้งอายุ 3 เดือน โดยเพาะเลี้ยงที่ความหนาแน่น 0.5 กก./ลบ.ม.
3. ความเร็วของน้ำที่เข้าเครื่องกรอง	- 0.0007 และ 0.0016 เมตร/วินาที
4. สัดส่วนของอัตราการไหลระหว่างน้ำกรองกับน้ำเวียน	- ค่าในช่วงระหว่าง 10:90 ถึง 50:50
5. ค่าความเค็มของน้ำทะเล	- 20 พีเอสยู
ตัวแปรตาม	**พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์**
1. ประสิทธิภาพของเครื่องกรองแบบแบ่งส่วน	- ตรวจวัดค่าฟลักซ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา อัตราการกรองจุลสาหร่ายและระยะเวลาการใช้งานของแท่งกรองก่อนต้องทำการล้างย้อน
2. ชนิดและปริมาณของจุลสาหร่ายในถังเพาะเลี้ยง	- ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในน้ำ
3. ปริมาณของอนุภาคสารแขวนลอยในถังเพาะเลี้ยง	- วิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำ
4. สมดุลไนโตรเจนของถังเพาะเลี้ยง	- ตรวจวัดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนที่เข้าและออกจากระบบ
5. การบำบัดสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลสาหร่ายและจุลชีพในถังเพาะเลี้ยง	- ตรวจวัดปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรตในน้ำ
6. อัตราการรอดของกุ้ง	- จำนวนกุ้งที่เหลืออยู่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง
7. อัตราการเติบโตของกุ้งต่อวัน	- น้ำหนักและความยาวของกุ้ง

- *การเตรียมระบบเพื่อใช้ในการทดลอง*

ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำที่มีอายุประมาณ 3 เดือนดังแสดงในรูปที่ 3.7 ที่ความหนาแน่น 0.5 กก./ลบ.ม. ในถังไร้ดินขนาด 500 ลิตรจำนวน 5 ถัง (สำหรับ 5 ชุดการทดลอง) ซึ่งบรรจุน้ำทะเลความเค็ม 20 พีเอสยู และตั้งไว้บริเวณภายนอกอาคารในที่ที่มีอากาศถ่ายเทและมีแสงแดดส่องถึง ภายในถังเพาะเลี้ยงจะมีการให้อากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลาด้วยเครื่องเติมอากาศ (RESUN® LP-100) ตลอดการทดลอง ซึ่งในแต่ละถังจะมีหัวทรายเติมอากาศจำนวนถังละ 4 หัว กระจายอยู่ทั่วถังเพาะเลี้ยงเพื่อให้มีออกซิเจนเพียงพอสำหรับกุ้งและจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นในน้ำ โดยได้ติดตั้งตะแกรงตาข่ายพลาสติกไว้ที่ก้นถังเพื่อให้กุ้งได้ใช้เป็นที่ยึดเกาะและเป็นแหล่งหลบภัยในเวลาลอกคราบ นอกจากนี้ยังได้ใช้ตะแกรงเหล็กหุ้มพลาสติกใสเป็นตัวปิดปากถังเพื่อป้องกันน้ำและสิ่งอื่นจากภายนอกเข้าไปปนเปื้อนกับน้ำภายในถังเพาะเลี้ยง

สำหรับการให้อาหารกุ้งได้ใช้อาหารที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไป โดยคำนวณปริมาณอาหารที่ให้จาก 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวกุ้ง และเปลี่ยนแปลงปริมาณให้มากขึ้นหรือน้อยลงเมื่อกุ้งมีการเจริญเติบโตหรือมีการตายเกิดขึ้น ซึ่งการเพาะเลี้ยงกุ้งในชุดการทดลองนี้ใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน โดยวันเริ่มต้นการทดลองนับจากวันที่เริ่มปล่อยกุ้งลงในถังเพาะเลี้ยง ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ และติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าคุณภาพน้ำตลอดการทดลองโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ยกเว้นการเติมน้ำเพื่อชดเชยความเค็มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเกิดการระเหยของน้ำในถังเพาะเลี้ยง



(ก) (ข)

รูปที่ 3.7 รูปถ่ายกุ้งอายุประมาณ 3 เดือนที่ใช้ในการทดลอง
(ก) กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) (ข) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

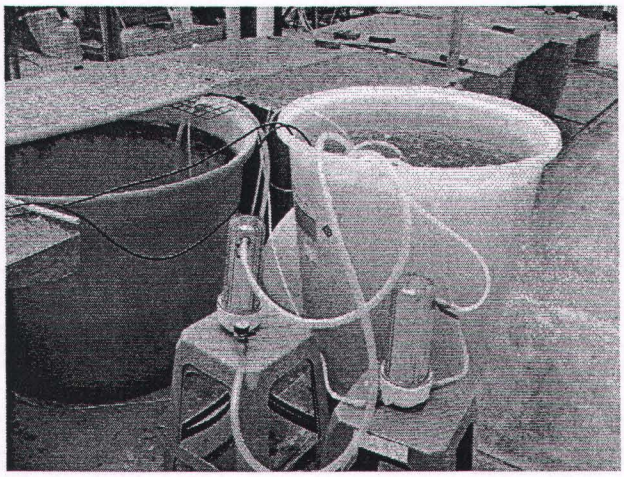
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- *การทำงานของระบบกรองแบบแบ่งส่วนเมื่อนำมาใช้ร่วมกับถังเลี้ยงกุ้ง*

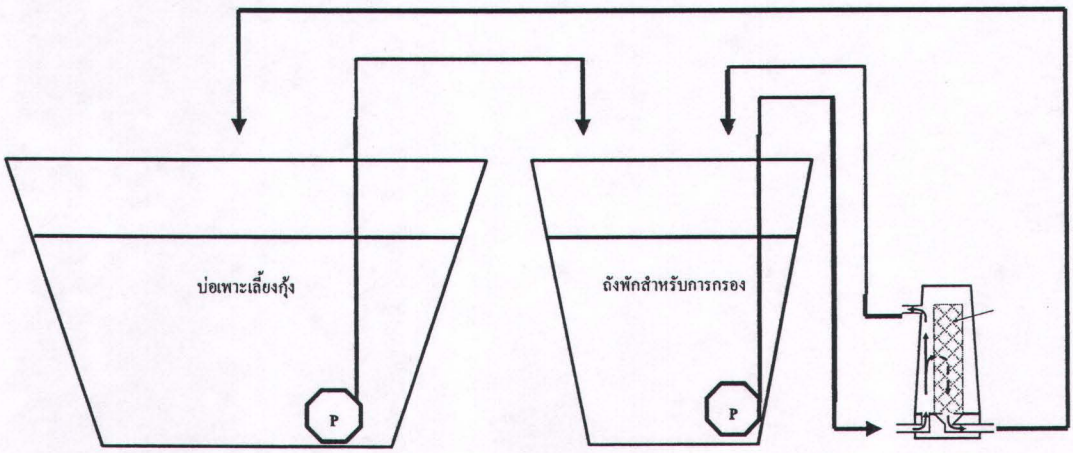
ระบบกรองแบบแบ่งส่วนที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 3 นี้เป็นระบบเดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 2 กล่าวคือแท่งกรองที่ใช้เป็นไส้กรองเส้นใยแบบจีบขนาดรูพรุนประมาณ 30 ไมครอน (Sediment Filter Cartridge) ซึ่งถูกบรรจุไว้ในเรือนกรองพลาสติกใสปริมาตร 1.5 ลิตร โดยในการทดลองได้ใช้เครื่องกรองทั้งหมด 2 ชุดด้วยกัน ดังนี้

1. ชุดกรองชุดที่ 1 ใช้เรือนกรองซึ่งมีช่องน้ำเข้าและช่องน้ำออกขนาด 4 หุน ร่วมกับเครื่องสูบน้ำที่มีกำลังในการสูบสูงสุด 2,800 ลิตร/ชม. (RESUN® SP-6800) โดยชุดกรองนี้มีความเร็วน้ำเข้าเครื่องกรองเท่ากับ 0.0007 เมตร/วินาที
2. ชุดกรองชุดที่ 2 ใช้เรือนกรองซึ่งมีช่องน้ำเข้าและช่องน้ำออกขนาด 6 หุน ร่วมกับเครื่องสูบน้ำที่มีกำลังในการสูบสูงสุด 3,500 ลิตร/ชม. (RESUN® KING-3B) โดยชุดกรองนี้มีความเร็วน้ำเข้าเครื่องกรองเท่ากับ 0.0016 เมตร/วินาที

น้ำจากถังเลี้ยงกุ้งจะถูกสูบมาเก็บไว้ในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร ก่อนเริ่มทำการกรองแบบแบ่งส่วน จากนั้นน้ำในถังพักจะถูกสูบเข้าสู่เครื่องกรองทางช่องน้ำเข้าทางด้านล่าง โดยน้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะถูกส่งกลับไปยังถังเลี้ยงกุ้ง ในขณะที่น้ำซึ่งอยู่รอบนอกแท่งกรองพร้อมด้วยอนุภาคของแข็งแขวนลอยจะถูกเวียนกลับไปยังถังพัก และเดินระบบการกรองต่อเนื่องไปจนกระทั่งเครื่องสูบน้ำไม่สามารถสูบน้ำจากถังพักขึ้นมาได้อีก จากนั้นจึงวัดปริมาตรน้ำที่เหลืออยู่ในถังพักและเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณของอนุภาคสารแขวนลอย โดยแผนภาพแสดงการติดตั้งชุดอุปกรณ์สำหรับระบบกรองแบบแบ่งส่วนที่นำมาใช้กับถังเลี้ยงกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ แสดงไว้ดังรูปที่ 3.8



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.8 (ก) รูปถ่ายของระบบกรองแบบแบ่งส่วนที่นำมาใช้ในการทดลอง และ (ข) แผนภาพของการเชื่อมต่อระหว่างเครื่องกรองแบบแบ่งส่วน ถังพัก และถังเลี้ยงกุ้ง

- *การตรวจสอบประสิทธิภาพในการใช้ระบบกรองแบบแบ่งส่วนร่วมกับถังเลี้ยงกุ้ง*

1. ตรวจวัดความเข้มข้นของรงควัตถุในถังเพาะเลี้ยงทั้ง 5 ถัง ซึ่งได้แก่ คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ซี และคาโรทีนอยด์ และนำน้ำตัวอย่างมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาชนิดของจุลสาหร่ายที่เกิดขึ้นในถังเพาะเลี้ยงแต่ละถัง
2. ตรวจวัดปริมาณของแข็งแขวนลอยที่เกิดขึ้นตลอดการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างถังเลี้ยงกุ้งที่มีการกรองและไม่มีการกรอง และเป็นการศึกษาความแตกต่างระหว่างปริมาณของแข็งแขวนลอยที่เกิดขึ้นในถังเลี้ยงกุ้งขาวและในถังเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

3. วิเคราะห์อัตราการกรองอนุภาคของแข็งแขวนลอยของเครื่องกรองแบบแบ่งส่วนเปรียบเทียบระหว่างชุดกรองที่มีความเร็วน้ำเข้าเท่ากับ 0.0007 และ 0.0016 เมตร/วินาที ตามลำดับ และเปรียบเทียบผลของการกรองระหว่างถังเลี้ยงกุ้งขาวกับถังเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยการตรวจวัดปริมาณของแข็งแขวนลอยก่อนและหลังทำการกรอง ตลอดจนปริมาณของแข็งแขวนลอยที่แยกออกไปจากถังเพาะเลี้ยงด้วยเครื่องกรองแบบแบ่งส่วน
4. วิเคราะห์สมดุลไนโตรเจนในถังเลี้ยงกุ้งโดยการตรวจวัดปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนที่เข้าและออกจากระบบ ซึ่งแหล่งของสารประกอบไนโตรเจนที่เข้าสู่ระบบ ได้แก่ อาหารกุ้ง ไนโตรเจนที่มีอยู่ในกุ้ง และสารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำ ส่วนสารประกอบไนโตรเจนที่ออกจากระบบ ได้แก่ อาหารที่เหลืออยู่ในถังเพาะเลี้ยง ของเสียที่กุ้งขับถ่ายออกมา และไนโตรเจนที่กุ้ง จุลชีพ และจุลสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโต โดยไนโตรเจนที่เข้าและออกจากระบบเพาะเลี้ยงจะถูกนำมาใช้ในการหาสัดส่วนการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนในระบบทั้งหมด เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพของการใช้จุลสาหร่ายและจุลชีพตามธรรมชาติในการควบคุมคุณภาพน้ำในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
5. วิเคราะห์การบำบัดสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลสาหร่ายโดยการตรวจวัดความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรตในน้ำตัวอย่างจากถังเพาะเลี้ยงแต่ละถัง โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจนในถังเลี้ยงกุ้งเปรียบเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์เอและปริมาณของแข็งแขวนลอยตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง

- *การประเมินอัตราการเติบโตของกุ้ง*

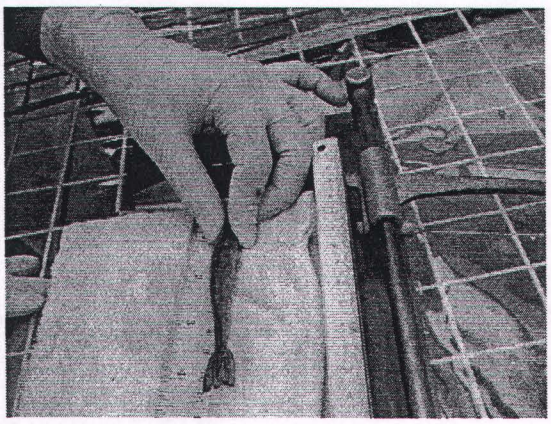
ทำการประเมินอัตราการเติบโตของกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำโดยการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของกุ้งทุกตัวในถังเพาะเลี้ยงด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่งและอุปกรณ์วัดความยาวกุ้ง เป็นระยะตลอดช่วงเวลาการทดลอง (ดังแสดงในรูปที่ 3.9) เพื่อใช้คำนวณน้ำหนักและความยาวเฉลี่ยของกุ้งในแต่ละถัง ตลอดจนใช้ในการคำนวณอัตราการเติบโตของกุ้งต่อวัน (Daily weight gain) เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดของกุ้ง (Survival rate of shrimp) อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio) และผลผลิตของกุ้ง (Production of shrimp) จากสูตรต่างๆ ดังต่อไปนี้

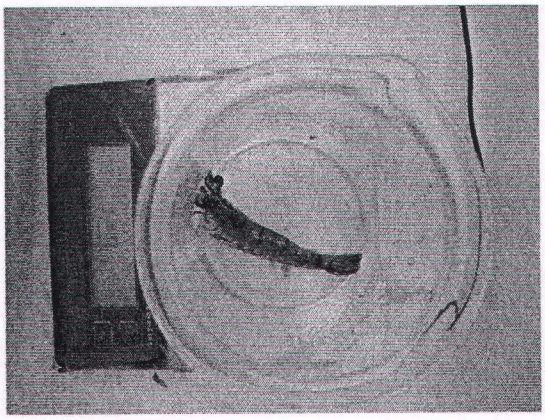
$$\text{อัตราการเติบโตต่อวัน (กรัม/วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง (วัน)}}$$

$$\text{อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งที่ปล่อยทั้งหมด}}$$

อัตราการแลกเนื้อ = $\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้กุ้งทั้งหมด (กก.)}}{\text{น้ำหนักรวมของกุ้งที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด (กก.)}}$

ผลผลิต (กก./ไร่) = $\frac{\text{น้ำหนักรวมของกุ้งทั้งหมด (กก.)}}{\text{พื้นที่บ่อ (ไร่)}}$





รูปที่ 3.9 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งในถังเพาะเลี้ยงโดยการวัดความยาวและชั่งน้ำหนัก

- การตรวจวัดคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง

ทำการตรวจวัดพารามิเตอร์ต่างๆ ทางคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งแต่ละถังเป็นระยะ ตามรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3.4 ซึ่งได้แก่ ค่าแอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต ไนโตรเจนทั้งหมด รงควัตถุ ของแข็งแขวนลอย ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเค็ม ความเข้มแสง อัตราการรอดของกุ้ง และอัตราการเติบโตของกุ้ง

ตารางที่ 3.4 พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ ความถี่ และวิธีการวิเคราะห์สำหรับการตรวจวัดคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง

พารามิเตอร์	ความถี่	วิธีการวิเคราะห์/ เครื่องมือวิเคราะห์	อ้างอิงวิธีการวิเคราะห์
แอมโมเนีย	ทุก 2 วัน	Colorimetric และ Spectophotometric	Strickland และ Parsons (1972)
ไนไทรต์	ทุก 2 วัน	Colorimetric และ Spectophotometric	Strickland และ Parsons (1972)
ไนเทรต	ทุก 2 วัน	Colorimetric และ Spectophotometric	Strickland และ Parsons (1972)
ไนโตรเจนทั้งหมด	เริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง	Colorimetric และ Spectophotometric	Strickland และ Parsons (1972)
รงควัตถุ	ทุก 5 วัน	Solvent extraction และ Spectophotometric	Strickland และ Parsons (1972)
ของแข็งแขวนลอย	ทุก 2 วัน	กรองบนกระดาษกรอง GF/C และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Standard Method (1998)
ปริมาณออกซิเจนละลาย	ทุก 7 วัน	ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย	
อุณหภูมิ	ทุก 7 วัน	ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ	
ความเค็ม	ทุก 7 วัน	ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเค็ม	
อัตราการรอดของกุ้ง	ทุก 1 เดือน	นับจำนวนกุ้งที่เหลือในบ่อเพาะเลี้ยง	
อัตราการเติบโตของกุ้ง	ทุก 1 เดือน	ชั่งน้ำหนักกุ้งและวัดความยาวของตัวกุ้ง	