

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 สัตว์ทดลองได้แก่ กุ้งแคระ 400 ตัว

3.1.2 อุปกรณ์การเลี้ยงกุ้งได้แก่ ถังพลาสติกขนาด 33*22 ซม. 20 ถัง, งานแก้วขนาดเล็ก 10 คู่, เทอร์โมมิเตอร์, ปั้มน้ำ 2 ตัว, เครื่องทำความร้อน 4 ตัว, แผ่นโฟม 4 แผ่น, ถังพลาสติกขนาด 600 ลิตร 2 ถัง, ปลั๊กไฟ 2 อัน, ทราขายาวสำหรับปลูกพรรณไม้น้ำ, สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร โหลพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17.5 cm สูง 22.5 cm

3.1.3 อุปกรณ์การทำอาหารกุ้งได้แก่ อาหารกุ้งขาวเบอร์ 1, กระจกชนิดยา ขนาด 15 มิลลิเมตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, เครื่องอบ, เครื่องปั่น, เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.4 อุปกรณ์การชั่งกุ้งได้แก่ แก้วน้ำพลาสติกขนาดเล็ก 10 ใบ, สวิง, ซ้อนตักลูกกุ้ง

3.1.5 เครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ pH meter HANNA HI 9025/microcomputer, EC meter HANNA (EC/TDS °C/°F) water proof HI 98312 และ DO meter YSI 550 incorporated

3.1.6 อุปกรณ์การวิเคราะห์แคลเซียม, โพแทสเซียม และแมกนีเซียมได้แก่ ถ้วยกระเบื้อง 20 อัน เครื่องอบแห้ง โกร่งบด, HCl, HNO_3 , น้ำกลั่น, ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มล., เครื่องให้ความร้อน, เตาเผาอุณหภูมิสูง, เครื่อง Atomic Absorption Spectroscope (AAS)

3.2 วิธีการ

3.2.1 การทดลองที่ 1 ผลของความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโตของกุ้งแคระ

3.2.1.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยมีความหนาแน่นของลูกกุ้งต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10, 15 และ 20 ตัว/ลิตร แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ความหนาแน่นของลูกกุ้ง 10 ตัว/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 ความหนาแน่นของลูกกุ้ง 15 ตัว/ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 ความหนาแน่นของลูกกุ้ง 20 ตัว/ลิตร

3.2.1.2 วิธีการทดลอง

(1) กุ้งแคระที่ใช้ในการทดลองอายุ 5 วัน คัดขนาดใกล้เคียงกันพักไว้ 2 วันจากนั้นใส่กุ้งใส่โหลพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17.5 cm สูง 22.5 cm พื้นที่ $1,237 \text{ cm}^2$ ฟูพื้นโหลด้วยกรวดสีขาวสูง 1 cm จากพื้นโหล ใช้ปริมาตรน้ำ 3 ลิตร และใส่กุ้งโหลละ 30, 45 และ 60 ตัว ตามความหนาแน่นที่กำหนดไว้ ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ เปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนปริมาตรน้ำ 1 ลิตร/วัน หรือ 30 % ของน้ำ 3 ลิตรทุกวัน

(2) อาหารเม็ดกุ้งสำเร็จรูป Kanshou สำหรับกุ้ง Crayfish และ Dwarf Shrimp โดยมีธาตุอาหารดังนี้ โปรตีน 38% ไขมัน 5% เยื่อใย 3% และ ความชื้น 10% บดละเอียดให้ 1 ครั้งต่อวัน อัตราอาหารที่ให้ 3% ของน้ำหนักตัวกุ้ง ใส่ภาชนะรองอาหาร (plate) และบันทึกปริมาณอาหารเหลือทุกวัน

3.2.2.3 การบันทึกผล

ข้อมูลการเจริญเติบโต และจำนวนที่กุ้งรอดทุก 2 สัปดาห์ นำมาคำนวณ อัตราการรอด และอัตราการเจริญเติบโต

3.2.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาวัสดุยึดเกาะของลูกกุ้งในการอนุบาล

3.2.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยมี

4 ชุดการทดลองเปรียบเทียบวัสดุยึดเกาะ โดยมีวัสดุยึดเกาะ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 วัสดุยึดเกาะขนไม้

ชุดการทดลองที่ 2 วัสดุยึดเกาะพรรณไม้หน้าชวามอส (Java moss)

ชุดการทดลองที่ 3 วัสดุยึดเกาะตะแกรงพลาสติกสีดำ

ชุดการทดลองที่ 4 วัสดุยึดเกาะก้อนอิฐ

3.2.2.2 วิธีการทดลอง

(1) วัดขนาดพื้นที่ผิวของวัสดุยึดเกาะ และตัดให้มีขนาดใกล้เคียงกัน (ตารางผืนที่ 1) โดยชุดการทดลองที่ 1 วัสดุยึดเกาะขนไม้ (ภาพที่ 4A) ชุดการทดลองที่ 2 วัสดุยึดเกาะพรรณไม้หน้าชวามอส (Java moss) โดยผูกชวามอสยึดกับก้อนอิฐ จากนั้นวัดขนาดพื้นที่ (ภาพที่ 4B) ชุดการทดลองที่ 3 วัสดุยึดเกาะตะแกรงพลาสติกสีดำ (ภาพที่ 4C) และชุดการทดลองที่ 4 วัสดุยึดเกาะก้อนอิฐ (ภาพที่ 4D)

(2) การคำนวณโดยใช้กระดาษห่อรอบๆ พื้นที่ผิวของขนไม้ และ ไปโอบอล ยกเว้นส่วนที่ใช้เป็นฐาน จากนั้นนำกระดาษที่ได้มาคำนวณหาพื้นที่จากรูปเรขาคณิตที่วาดลงบนกระดาษ ดังนี้

$$\text{พื้นที่สี่เหลี่ยม (cm}^2\text{)} = \text{ด้าน (cm)} \times \text{ด้าน (cm)}$$

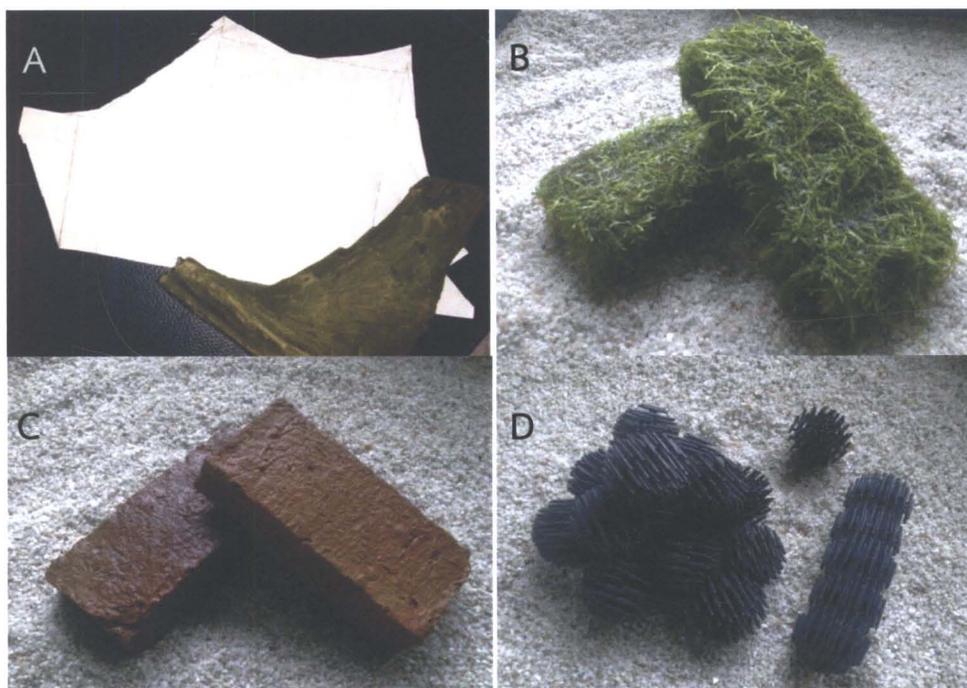
$$\text{พื้นที่สามเหลี่ยม (cm}^2\text{)} = \frac{1}{2} \times \text{ฐาน (cm)} \times \text{สูง (cm)}$$

และในส่วนของชวามอส และก้อนอิฐวัดขนาดตามปกติโดยใช้ไม้บรรทัดวัด ซึ่งได้พื้นที่ผิวดังนี้ ขนไม้ $191.72 \pm 1.54 \text{ cm}^2$ ชวามอสผูกบนก้อนอิฐ $200.20 \pm 1.45 \text{ cm}^2$ ก้อนอิฐ $193.34 \pm 1.65 \text{ cm}^2$ และ ไปโอบอล $195.75 \pm 0.00 \text{ cm}^2$ แล้วนำวัสดุยึดเกาะที่ได้ใส่ลงไปในภาชนะทดลอง ใช้กรวดปิดตามร่องเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดโพรงระหว่างพื้นภาชนะเลี้ยงกับวัสดุยึดเกาะ

(3) กุ้งแคะที่ใช้ในการทดลองอายุ 2 เดือน คัดขนาดใกล้เคียงกันพักไว้ 2 วัน จากนั้นสุ่มกุ้งใส่โหลพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 17.5 cm สูง 22.5 cm พื้นที่ $1,237 \text{ cm}^2$ ปูพื้นโหลด้วยกรวดสีขาวสูง 1 cm จากพื้นโหล ใช้ปริมาตรน้ำ 3 ลิตร และใส่กุ้งโหลละ 20 ตัว ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ เปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนปริมาตรน้ำ 1 ลิตร/วัน หรือ 30 % ของน้ำ 3 ลิตรทุกวัน

(4) อาหารเม็ดกุ้งสำเร็จรูป Kanshou สำหรับกุ้ง Crayfish และ Dwarf Shrimp โดยมีธาตุอาหารดังนี้ โปรตีน 38% ไขมัน 5% เยื่อใย 3% และ ความชื้น 10% บดละเอียดให้ 1 ครั้งต่อวัน อัตราอาหารที่ให้ 3% ของน้ำหนักตัวกุ้ง ใส่ภาชนะรองอาหาร (plate) และบันทึกปริมาณอาหารเหลือทุกวัน

(5) วิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพน้ำทุก 2 สัปดาห์ ดังนี้ อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$) pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC; $\mu\text{s/cm}$) DO (mg/L) ค่าความกระด้าง (hardness; mg/L CaCO_3) และค่าความเป็นด่าง (alkalinity; mg/L)



ภาพที่ 4 วัสดุยึดเกาะ (A) การวัดขนาดพื้นที่ขอนไม้ (B) ขวามอส (C) ก้อนอิฐ และ (D) ไบโอบอล

3.2.2.3 การบันทึกผล

- (1) สังเกตพฤติกรรม และสีของกึ่งแคะ เปรียบเทียบในแต่ละชุดการทดลอง
- (2) ข้อมูลการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินในแต่ละวัน และจำนวนที่กึ่งรอด ทุก 2 สัปดาห์ นำมาคำนวณปริมาณอาหารที่กิน % อัตราการรอด และอัตราการเจริญเติบโตดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณอาหารที่กิน (Feed Intake)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน (g)}}{\text{ระยะเวลาในการเลี้ยง (วัน)}}$$

$$\% \text{ อัตราการรอด (Loss Percentage)} = \frac{\text{จำนวนกึ่งที่เหลือ}}{\text{จำนวนกึ่งเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักตัวครั้งสุดท้าย} - \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาในการเลี้ยง (วัน)}}$$

- (3) ข้อมูลคุณภาพน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$) pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC; $\mu\text{s}/\text{cm}$) DO (mg/L) ค่าความกระด้าง (hardness; mg/LCaCO_3) และค่าความเป็นด่าง (alkalinity; mg/L)

3.2.3 การทดลองที่ 3 ผลปริมาณแมกนีเซียมในอาหารที่เหมาะสมต่อการเติบโต อัตรารอด การสะสมของธาตุแคลเซียม, โปแทสเซียม และแมกนีเซียมในกุ้งแคะ

3.2.3.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยกำหนดปริมาณแมกนีเซียมผสมในอาหารกุ้งแคะที่ต่างกัน ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 กรัม/กิโลกรัม แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัวดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 ไม่มีการเสริมแมกนีเซียมซัลเฟตลงในอาหาร (ชุดควบคุม)

ชุดทดลองที่ 2 เสริมแมกนีเซียมซัลเฟตในอาหาร 2 กรัม/กิโลกรัม

ชุดทดลองที่ 3 เสริมแมกนีเซียมซัลเฟตในอาหาร 4 กรัม/กิโลกรัม

ชุดทดลองที่ 4 เสริมแมกนีเซียมซัลเฟตในอาหาร 6 กรัม/กิโลกรัม

ชุดทดลองที่ 5 เสริมแมกนีเซียมซัลเฟตในอาหาร 8 กรัม/กิโลกรัม

ระยะเวลาทดลอง 8 สัปดาห์

3.2.3.2 วิธีการทดลอง

(1) การเตรียมอุปกรณ์ในการทดลอง

ล้างกรวดขาวขนาด 1-2 มม. นำใส่ชุดทดลอง ¼ ส่วนของกล่องพลาสติกทดลอง เติมน้ำ ¾ ของกล่องพลาสติก

(2) การคัดเลือกกุ้งลงในกล่องพลาสติก

คัดเลือกกุ้งขนาดตัวเท่าๆ กันจำนวน 400 ตัว และสุ่มกุ้งครั้งละ 5 ตัว และนำกุ้งดังกล่าวใส่ในกล่องพลาสติกที่ใช้ทดลอง โดยสุ่มครั้งละ 5 ตัว/ชุดทดลอง เมื่อครบทุกชุดการทดลองให้เริ่มสุ่มซ้ำอีกครั้งละ 5 ตัวจนครบชุดทดลองละๆ 20 ตัว

(3) การเตรียมอาหารสำหรับกุ้งแคะ

ชั่งน้ำหนักอาหารกุ้งขาวเบอร์ 1 ชุดการทดลองละ 20 กรัมคำนวณปริมาณ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่ต้องใช้ในแต่ละชุดการทดลองนำอาหารกุ้งขาวเบอร์ 1 มาปั่นให้ละเอียด นำอาหารที่ปั่นละเอียดมาผสมกับ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ตามชุดการทดลองใส่ลงในถุงพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากันแล้วจากนั้นค่อยๆ เติมน้ำ แล้วให้น้ำ และอาหารผสมกันซ้าๆ นวดให้เข้ากันนำไปใส่กระบอกฉีดยาขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วอัดให้เป็นเส้นตัดให้เป็นท่อนเล็กๆ นำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียสนาน 4 ชั่วโมง

(4) การให้อาหาร

ให้อาหารกุ้งแคะวันละ 2 มื้อ เวลา 9.00-10.00 น. และ 16.00-17.00 น.

(5) การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

เปลี่ยนน้ำกุ้งแคะทุกๆ 4 วันเปลี่ยนครั้งละ 50%

3.2.3.3 การบันทึกผล

(1) ชั่งน้ำหนักของกุ้งแคะทุก 2 สัปดาห์ในทุกชุดการทดลอง ชั่งแก้วบรรจุน้ำบันทึกน้ำหนัก นำกุ้งแคะที่ชั่งน้ำด้วยกระดาษทิชชูจนแห้งใส่ในแก้ว นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

(2) ชั่งน้ำหนักกุ้งแคะในท้ายการทดลอง โดยนำกุ้งแต่ละชุดการทดลองชั่งด้วยกระดาษทิชชูจนแห้ง นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

(3) การวิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียม, โปแทสเซียม และแมกนีเซียมสะสม โดยนำกุ้งแคะที่ชั่งน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง เมื่ออบเสร็จแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในตัวกุ้ง เมื่อชั่งเสร็จแล้วนำตัวอย่างแห้งเก็บไว้ในถุงซิปล็อคเพื่อป้องกัน

ความชื้น นำตัวอย่างแห้งมาบดด้วยโกร่งจนละเอียดแล้วนำแต่ละชุดการทดลองซึ่งให้ได้ 0.1 กรัมใส่ลงใน ถ้วยนกระเบื้อง นำไปเผาบนเตาให้ความร้อน จนควันหมดแล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง เมื่อเย็นแล้วเติมกรด HCl 5 มล. ความเข้มข้นของกรด HCl ที่ใช้ละลายแล้ว 5 N และนำไปอุ่น บน hot plate ประมาณ 15 นาทีจากนั้นเติมกรด HNO_3 1 มล. แล้วระเหยให้แห้งก่อนที่จะให้ความร้อน ต่อไปอีก 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมกรด HCl 5 N อีก 1 มล. เพื่อละลายตะกอนส่วนที่เหลือพร้อมทั้งเติมน้ำ กลั่น deionized (H_2O) 10 มล. นำขึ้นอุ่นต่อไปจนตะกอนละลายหมด กรองสารที่ได้ลงใน volumetric flask ขนาด 50 มล. ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายนี้ไปวิเคราะห์การสะสมของ แคลเซียม, โพแทสเซียม และแมกนีเซียม

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทิศทาง เดียว เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง (Analysis of variance; One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple's range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และ โปรแกรม Microsoft office Excel 2003