

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. พันธุ์ปลาดุก

- ลูกพันธุ์ปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocephalus* X *C. gariepinus*) ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 10 ก. ได้จากฟาร์มเอกชนใน ต.ลำป่า อ. เมือง จ. พัทลุง โดยนำมาพักไว้ในถังไฟเบอร์กลาสกลมขนาด 1 ตัน เป็นระยะเวลา 7-10 วัน ก่อนการทดลอง

2. อาหารสำหรับลูกปลาดุก

- ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลาดุกขนาดเล็กพิเศษของบริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหารจำกัด (มหาชน)

3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ

- ขวดพลาสติก (Polyethylene) ขนาด 240 มล. จำนวน 24 ใบ
- ขวดปิโอดี

4. อุปกรณ์เลี้ยงปลาทดลอง

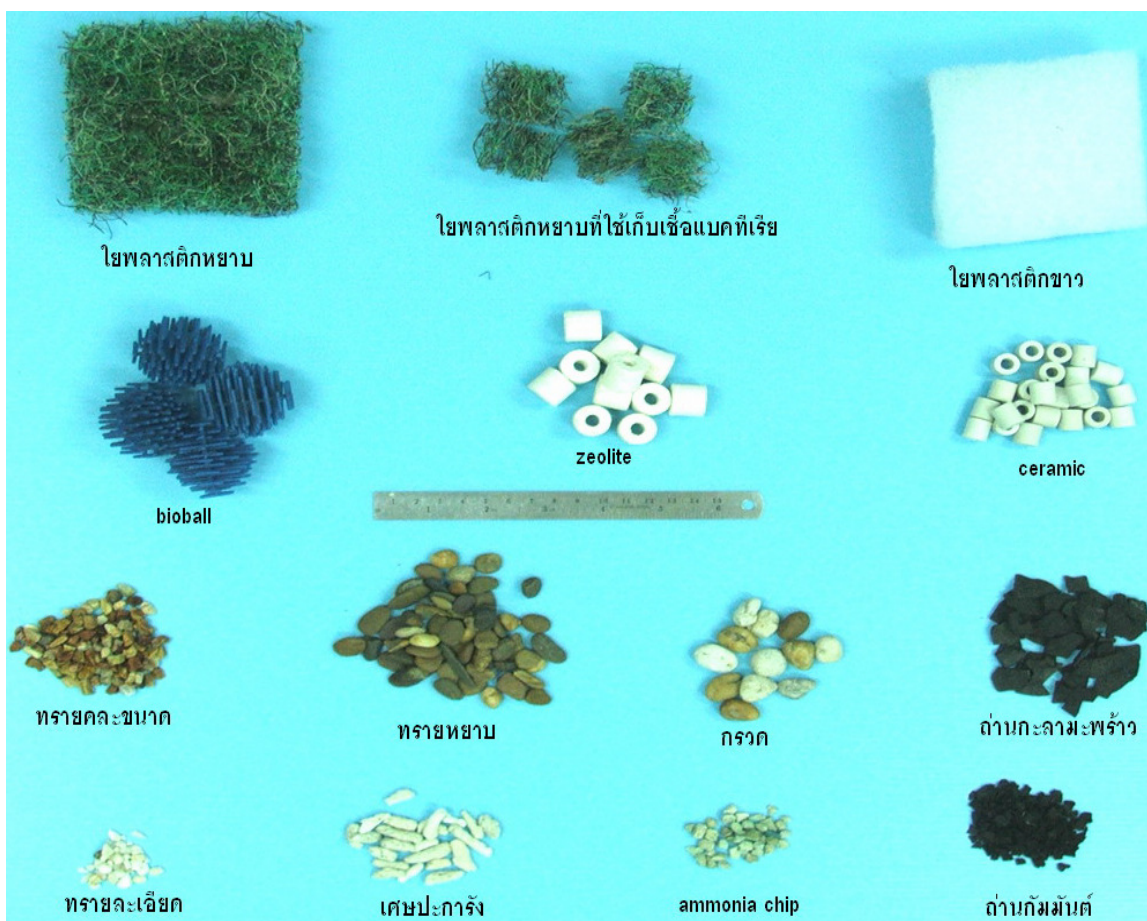
- ตู้กระจกขนาด 45x60x45 ซม. จำนวน 24 ตู้
- อุปกรณ์ให้อากาศ (ปั๊มลม ท่อพีวีซี สายยาง และหัวทราย)
- ตาข่ายพลาสติกปิดตู้ทดลองป้องกันปลากระโดดออกจากตู้
- กล่องแก้วสำหรับใส่สารกรองขนาด 10X10X30 ซม. จำนวน 24 กล่อง

5. วัสดุกรอง

- เศษปะการังขนาด 0.6-1.4 ซม.
- ถ่านกัมมันต์ขนาด 0.2-0.4 ซม.
- ถ่านกะลามะพร้าวขนาด 0.6-1.2 ซม.
- ทรายละเอียดขนาด 0.2-0.4 ซม.
- ทรายหยาบขนาด 0.5-0.7 ซม.

- กรวดขนาด 1-1.4 ซม.
- ทรายละเอียดขนาด 0.3-1.3 ซม.
- bioball ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.0 ซม.
- ceramic ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 ซม.
- ammonia chip ขนาด 0.3-0.6 ซม.
- zeolite ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 ซม.
- โยพลาสติกหยาบหนา 1 แผ่น ขนาด 10X10X2.54 ซม.
- โยพลาสติกหยาบหนาครึ่งแผ่นขนาด 10X10X1.27 ซม.
- โยพลาสติกขาวหนา 1 แผ่น ขนาด 10X10X2.54 ซม.

ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 วัสดุกรองที่ใช้ในการทดลอง

6. วัสดุและอุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างของ Mettler Delta รุ่น 340
- เครื่อง Spectrophotometer ของ Shimadzu รุ่น UV 1201V.
- เทอร์โมมิเตอร์
- สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวัดคุณภาพน้ำ
- กระดาษกรอง GF/C (Ø 4.7 ซม.)
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการตรวจวัดคุณภาพน้ำ
- เครื่องชั่งไฟฟ้าศนิยม 2 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Basic
- เครื่องชั่งไฟฟ้าศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Research

7. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวม

- จานเพาะเชื้อ
- แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spreader)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA)
- ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven) ของ Memmert
- ตู้อบเลี้ยงเชื้อ (Incubator) ของ Memmert
- เครื่องเขย่าอัตโนมัติ
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- ตู้ถ่ายเชื้อติด UV
- ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างแบบมีฝาปิดขนาด 1 มล. (Microcentrifuge tube)
- ขวดแก้วมีฝาปิดขนาด 100 มล. ของ Schott duran
- ขวดรูปชมพู่และบีกเกอร์ขนาด 250 มล.
- Micropipette ขนาด 1 มล. และ 0.2 มล. ของ Gilson

วิธีการ

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 การศึกษาคุณภาพน้ำที่บำบัดด้วยระบบกรองที่จำหน่ายในท้องตลาด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยจัดชุดทดลองแบบแฟคทอเรียล (7X17) (มนต์ทิพย์, 2536) และปล่อยระบบกรองทิ้งไว้ในตู้ทดลองก่อนปล่อยปลาเป็นระยะเวลา 8 วัน โดยใช้ปลาตู้กบักุยขนาดน้ำหนักตัวละ 10 ก. ปล่อย 15 ตัวต่อตู้ เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 45X60X45 ซม. และบรรจุน้ำตู้ประปาละ 80 ล. ให้อากาศตลอดเวลา ใช้เวลาการทดลอง 64 วัน ยกเว้น เมื่อปริมาณแอมโมเนียสูงกว่า 5 มก./ล. หรือปริมาณไนไตรท์สูงกว่า 13 มก./ล. จะหยุดทำการทดลอง โดยแบ่งชุดทดลองเป็น 7 ชุดทดลอง (Treatment) ๆ ละ 3 ตู้ และเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์ทุก 4 วัน รวมวันเริ่มต้นด้วยเป็น 17 ครั้ง ซึ่งเรียงลำดับวัสดุกรองในแต่ละชุดทดลองจากบนลงล่าง ดังนี้ (รูปที่ 4)

ชุดทดลองที่ 1.1 ใช้สารกรองเป็นกรวด 500 ก. ร่วมกับทรายหยาบ 500 ก. และทรายละเอียด 500 ก.

ชุดทดลองที่ 1.2 ใช้สารกรองเป็นทรายละเอียด 500 ก. ร่วมกับทรายหยาบ 500 ก. และกรวด 500 ก.

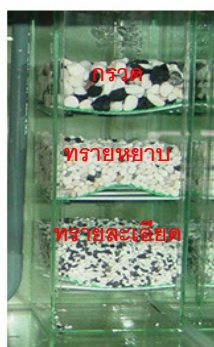
ชุดทดลองที่ 1.3 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น ร่วมกับ ceramic 300 ก. และ ammonia chip 300 ก.

ชุดทดลองที่ 1.4 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น ร่วมกับ zeolite 250 ก. และถ่านกัมมันต์ 200 ก.

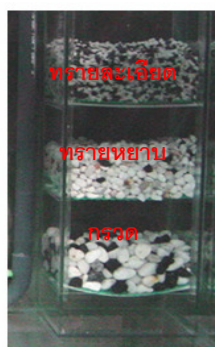
ชุดทดลองที่ 1.5 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น ร่วมกับ bioball 37 ลูก

ชุดทดลองที่ 1.6 ใช้สารกรองเป็นทรายละเอียดขนาด 500 ก. ร่วมกับใยพลาสติกขาว 2 แผ่น และถ่านกะลามะพร้าว 200 ก.

ชุดทดลองที่ 1.7 ใช้สารกรองเป็นเศษปะการัง 300 ก. ร่วมกับ ammonia chip 300 ก. และถ่านกัมมันต์ 200 ก.



ชุดทดลองที่ 1.1



ชุดทดลองที่ 1.2



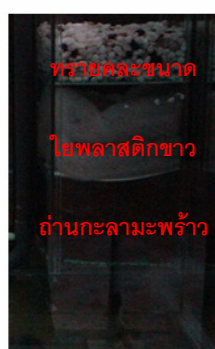
ชุดทดลองที่ 1.3



ชุดทดลองที่ 1.4



ชุดทดลองที่ 1.5



ชุดทดลองที่ 1.6



ชุดทดลองที่ 1.7

รูปที่ 4 ระบบกรองที่จำหน่ายในท้องตลาดซึ่งนำมาใช้ทดลอง

1.2 การศึกษาคุณภาพน้ำที่บำบัดด้วยระบบกรองทรายร่วมกับถ่านไม้ และแบคทีเรียเกาะติด โดยใช้ชุดทดลองที่ดีที่สุดของการทดลองที่ 1 เป็นชุดควบคุม (ชุดทดลองที่ 1.5 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น และ bioball 37 ลูก) โดยพิจารณาจากระยะเวลาการอุดตันและราคาของระบบกรอง ปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ต่ำสุด (ขณะที่มีความเป็นด่างทั้งหมดเพียงพอ) อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาตู้บักอูย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยจัดชุดทดลองแบบแฟคทอเรียล (8X17) และปล่อยระบบกรองทิ้งไว้ในตู้ทดลองก่อนปล่อยปลาเป็นระยะเวลา 8 วัน โดยใช้ปลาตู้บักอูย ขนาดน้ำหนักตัวละ 10 ก. ปล่อย 15 ตัวต่อตู้ เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 45X60X45 ซม. และบรรจุน้ำประปาตู้ละ 80 ล. ให้อากาศตลอดเวลา ใช้เวลาการทดลอง 64 วัน ยกเว้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียสูงกว่า 5 มก./ล. หรือปริมาณไนไตรท์สูงกว่า 13 มก./ล. จะหยุดทำการทดลอง โดยแบ่งชุดทดลองเป็น 8 ชุดทดลอง ๆ ละ 3 ตู้ และเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์ทุก 4 วัน รวมวันเริ่มต้นด้วยเป็น 17 ครั้ง ซึ่งเรียงลำดับวัสดุกรองในแต่ละชุดทดลองจากบนลงล่าง ดังนี้ (รูปที่ 5)

- ชุดทดลองที่ 2.1 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น และ bioball 37 ลูก
 ชุดทดลองที่ 2.2 ใช้สารกรองเป็นทรายหยาบ 500 ก.
 ชุดทดลองที่ 2.3 ใช้สารกรองเป็นทรายหยาบ 500 ก. และใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น
 ชุดทดลองที่ 2.4 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น
 ชุดทดลองที่ 2.5 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น และถ่านกะลามะพร้าว 200 ก.
 ชุดทดลองที่ 2.6 ใช้สารกรองเป็นถ่านกะลามะพร้าว 200 ก.
 ชุดทดลองที่ 2.7 ใช้สารกรองเป็นทรายหยาบ 500 ก. และถ่านกะลามะพร้าว 200 ก.
 ชุดทดลองที่ 2.8 ใช้สารกรองเป็นทรายหยาบ 500 ก. ร่วมกับใยพลาสติกหยาบ 1 แผ่น และถ่านกะลามะพร้าว 200 ก.



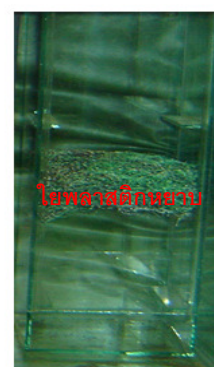
ชุดทดลองที่ 2.1



ชุดทดลองที่ 2.2



ชุดทดลองที่ 2.3



ชุดทดลองที่ 2.4



ชุดทดลองที่ 2.5



ชุดทดลองที่ 2.6



ชุดทดลองที่ 2.7



ชุดทดลองที่ 2.8

รูปที่ 5 ระบบกรองทราย ถ่านไม้ และแบคทีเรียเกาะติด

1.3 การศึกษาคุณภาพน้ำ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมในน้ำและสารกรองจากการบำบัดด้วยระบบกรองแบบแบคทีเรียเกาะติดที่ระดับความหนาของสารกรองแตกต่างกัน โดยใช้ชุดทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 เป็นชุดควบคุม (ชุดทดลองที่ 4 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบหนา 1 แผ่น) โดยพิจารณาจากระยะเวลาการอุดตันและราคาของระบบกรอง ปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ต่ำสุด อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาตู้บีกอูย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด โดยจัดชุดทดลองแบบแฟคทอเรียล (4X17) และปล่อยระบบกรองทิ้งไว้ในตู้ทดลองก่อนปล่อยปลาเป็นระยะเวลา 8 วัน โดยใช้ปลาตู้บีกอูย ขนาดน้ำหนักตัวละ 10 ก. ปล่อย 15 ตัวต่อตู้ เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 45X60X45 ซม. บรรจุน้ำประปาตู้ละ 80 ล. และให้อากาศตลอดเวลา ใช้เวลาการทดลอง 64 วัน ยกเว้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียสูงกว่า 5 มก./ล. หรือปริมาณไนไตรท์สูงกว่า 13 มก./ล. จะหยุดทำการทดลอง โดยแบ่งชุดทดลองเป็น 4 ชุดทดลอง ๆ ละ 3 ตู้ และเก็บตัวอย่างน้ำมาวิเคราะห์ทุก 4 วัน รวมวันเริ่มต้นด้วยเป็น 17 ครั้ง ซึ่งเรียงลำดับวัสดุกรองในแต่ละชุดทดลองจากบนลงล่าง ดังนี้ (รูปที่ 6)

- ชุดทดลองที่ 3.1 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบหนาครึ่งแผ่น
- ชุดทดลองที่ 3.2 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบหนา 1 แผ่น
- ชุดทดลองที่ 3.3 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบหนา 2 แผ่น
- ชุดทดลองที่ 3.4 ใช้สารกรองเป็นใยพลาสติกหยาบหนา 3 แผ่น



ชุดทดลองที่ 3.1



ชุดทดลองที่ 3.2



ชุดทดลองที่ 3.3



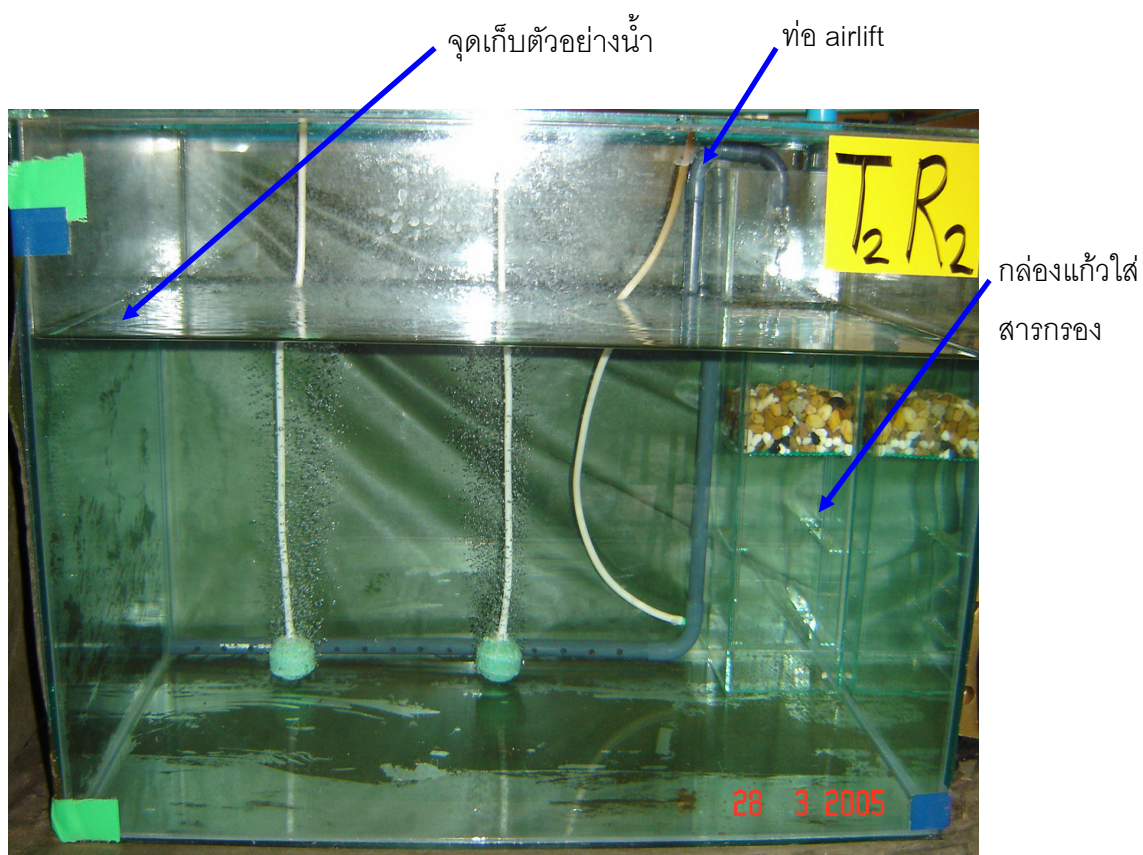
ชุดทดลองที่ 3.4

รูปที่ 6 ระบบกรองแบบแบคทีเรียเกาะติดที่ระดับความหนาของสารกรองแตกต่างกัน

2. การเตรียมตู้และน้ำในการทดลอง

2.1 การเตรียมตู้ทดลอง และระบบกรอง

ตู้ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดเป็นตู้กระจกรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 45X60X45 ซม. ภายในตู้ทดลองมีชุดกรองขนาด 10X10X30 ซม. วางอยู่ในแนวตั้งบริเวณมุมตู้ โดยใช้ airlift เป็นตัวควบคุมการไหลของน้ำผ่านชุดกรองในอัตรา 1 ลิตรต่อนาที และมีการให้อากาศตลอดเวลาโดยใช้หัวทราย 2 หัวต่อตู้ ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 ตู้และระบบกรองที่ใช้ทดลอง

2.2 การเตรียมน้ำในตู้ทดลอง

ใช้น้ำประปาจากโรงเรียนเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำภาควิชาวาริชศาสตร์มาพักไว้เป็นเวลา 7 วัน ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ลบ.ม. โดยให้อากาศตลอดเวลา แล้วนำมาผ่านการกรองด้วยถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดช่องตา 20-60 ไมครอน ใส่ในตู้ทดลองตู้ละ 80 ล. และทำการเดินระบบกรองเป็นระยะเวลา 8 วัน ก่อนปล่อยปลาลงเลี้ยงในตู้ทดลอง

ในการทดลองที่ 1 (การศึกษาคุณภาพน้ำที่บำบัดด้วยระบบกรองที่จำหน่ายในท้องตลาด) จะทำการทดลองในสภาพน้ำปกติที่ใช้ทั่วไปเพื่อเป็นข้อมูลในการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดของระบบกรองให้ดีขึ้น ทำให้ในการทดลองที่ 2 (การศึกษาคุณภาพน้ำที่บำบัดด้วยระบบกรองทรายร่วมกับถ่านไม้ และแบคทีเรียเกาะติด) และ 3 (การศึกษาคุณภาพน้ำ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมในน้ำและสารกรองจากการบำบัดด้วยระบบกรองแบบแบคทีเรียเกาะติดที่ระดับความหนาของสารกรองแตกต่างกัน) จึงต้องปรับความเป็นด่างทั้งหมดในช่วงเริ่มต้นการทดลองด้วย NaHCO_3 ให้มีค่าอยู่ในช่วง 80-85 มก./ล. และปรับความเป็นด่างทั้งหมดอีกครั้งหากในแต่ละชุดมีความเป็นด่างทั้งหมดต่ำกว่า 20 มก./ล.

3. การให้อาหารปลาทดลอง

ปล่อยปลาดุกบิกอูย จำนวน 15 ตัวต่อตู้ ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (กลุ่มรักเกษตร, 2541) โดยแบ่งเป็น 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้า (8 นาฬิกา) และช่วงเย็น (17 นาฬิกา) และทำการชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละชุดทดลอง เพื่อปรับปริมาณอาหารทุก 8 วัน ตลอดการทดลอง

4. การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำทั้ง 3 การทดลอง จากตู้ทดลองทั้งหมดในเวลา 16 นาฬิกา ทุก 4 วัน ก่อนให้อาหารปลาและจุดบันทึกระยะเวลาที่เริ่มเกิดการอุดตันของระบบกรอง (ระยะเวลาทั้งหมดตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนมีน้ำไหลบ่าออกทางด้านบนของกล่องแก้วใสสารกรอง) ทุกวัน ต่อเนื่องไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 64 วัน

5. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

วิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้ง 3 การทดลอง โดยวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ไนเตรท ออกซิเจนละลายน้ำ และบีโอดีตามวิธีของ APHA และคณะ (1989) แอมโมเนียรวม ของแข็งแขวนลอย และความเป็นด่างทั้งหมดตามวิธีของ Boyd และ Tucker (1992) ส่วนการวัดระดับความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิใช้ pH Meter และ Thermometer ตามลำดับ (ภาคผนวก ข)

6. การเก็บตัวอย่างและทดสอบหาปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

ในการทดลองที่ 3 เก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียในน้ำและสารกรองเมื่อเริ่มต้นการทดลองและทุกๆ 8 วัน ตลอดการทดลองเป็นระยะเวลา 64 วัน โดยทำการนับจำนวนแบคทีเรียรวม (total bacterial count) (ภาควิชาจุลชีววิทยา, 2535) ซึ่งแยกได้เป็น 2 ส่วน คือ

1) นับจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำ โดยใช้หลอดแก้วทดลองแบบมีฝาปิดขนาด 25 มล. ที่ปราศจากเชื้อเก็บตัวอย่างน้ำทุกตู้ทดลองในจุดที่เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำ แล้วนำน้ำตัวอย่างมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นและทำการเกลี่ยเพลทเพื่อนับจำนวนแบคทีเรียรวมตามวิธีการในภาคผนวก ข

2) นับจำนวนแบคทีเรียรวมในชั้นกรอง โดยเปิดฝาด้านหน้าของกล่องแก้วที่บรรจุสารกรองและใช้ปากคีบจับใยพลาสติกหยาบสำหรับเก็บเชื้อแบคทีเรีย 1 ชั้น ขนาด 3.33X3.33X2.54 ซม. ในทุกชั้นสารกรอง ใส่ในขวดแก้วปราศจากเชื้อที่มีน้ำกลั่น 25 มล. จากนั้นนำขวดแก้วที่มีตัวอย่างไปเขย่าเป็นเวลา 20 นาที แล้วดึงน้ำตัวอย่างมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นและทำการนับจำนวนแบคทีเรียรวมเหมือนกับการนับจำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำ

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างของดัชนีคุณภาพน้ำ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนแปลงอาหารเป็นเนื้อ จำนวนแบคทีเรียรวมในน้ำและสารกรอง ต้นทุนของระบบกรอง และระยะเวลาที่ระบบกรองเริ่มการอุดตันด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan 's new multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบ Partial Correlation Coefficient ของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความเป็นด่างทั้งหมด ออกซิเจนละลายน้ำ บีโอดี แอมโมเนียรวม ไนโตรเจน และไนเตรท ที่ความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS Release 9.0

วิธีการคำนวณค่าต่างๆ ตลอดการทดลอง มีดังนี้

1) อัตราการเจริญเติบโต (Growth rate) คำนวณจากสมการ

$$G = (\bar{W}_t - \bar{W}_0) / t$$

เมื่อ G คือ อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน น้ำหนักเปียก)

\bar{W}_t คือ น้ำหนักเฉลี่ยของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ก. น้ำหนักเปียก)

\bar{W}_0 คือ น้ำหนักเฉลี่ยของปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (ก. น้ำหนักเปียก)

t คือ ระยะเวลา (วัน)

2) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio : FCR) คำนวณจากสมการ

$$FCR = F / (W_t - W_0)$$

เมื่อ F คือ น้ำหนักรวมของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาตลอดการทดลอง (ก. น้ำหนักเปียก)

W_t คือ น้ำหนักรวมทั้งหมดของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ก. น้ำหนักเปียก)

W_0 คือ น้ำหนักรวมทั้งหมดของปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (ก. น้ำหนักเปียก)

3) ต้นทุนของระบบกรอง คำนวณจากสมการ

$$\text{ต้นทุนของระบบกรอง} = \text{ค่ากล่องแก้วใสสารกรอง} + \text{ค่าสารกรอง} + \text{ค่าท่อ airlift}$$