บทที่ 5

การศึกษาผลของการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลองเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

5.1 แผนการทดลอง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม และการใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ต่อระดับการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้ทดลองเลี้ยงกุ้ง เปรียบเทียบกับระบบที่ไม่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ กิจกรรมการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวถูกเร่งให้เกิดเร็วขึ้นโดยเติมจุลินทรีย์ซึ่งผลิตโดยเอกชนเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากผลการทดลองในบทที่ 4 แสดงให้เห็นว่าระบบที่สามารถลดระดับการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดคือระบบที่มีการปรับ C/N ratio เท่ากับ 59.59 และใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ จึงใช้เกณฑ์ดังกล่าวกำหนดให้ C/N ratio เท่ากับ 59.59 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่จะใช้สำหรับการทดลองนี้

ในกรณีของระบบที่ไม่ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ ประกอบด้วยสภาวะทดลองที่ต่างกัน 3 สภาวะ คือ สภาวะที่หนึ่งเป็นชุดควบคุม (C) โดยใช้ตู้ทดลองที่ไม่ใส่ซากปะการัง ไม่เลี้ยงกุ้ง ไม่ใส่อาหาร ไม่ปรับอัตราส่วน C/N และ ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ สภาวะที่สองคือตู้ที่ใส่เพียงอาหารสดโดยไม่มีการเลี้ยงกุ้งและมีการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ให้เหมาะสมทั้งนี้เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการแพร่ของสารอาหารออกมาในน้ำ (F:C/N) และสภาวะที่ 3 คือตู้ที่เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมโดยให้เนื้อกุ้งสดเป็นอาหารและมีการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ให้เหมาะสม (S:C/N) สำหรับระบบที่ใช้ซากปะการังเพื่อตรึงจุลินทรีย์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายใต้ 3 สภาวะการทดลองเช่นเดียวกัน (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ดังรายละเอียดแผนการทดลองที่แสดงในตารางที่ 7 โดยแต่ละสภาวะทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางตำแหน่งของตู้และสัตว์ทดลองในห้องปฏิบัติการโดยแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design)

ตารางที่ 7 สภาวะของแต่ละชุดทดลองในการศึกษาผลของการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

ชุดทดลอง	สภาวะการทดลอง				
	วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (ซากปะการัง)	อาหารกุ้ง (เนื้อกุ้งสด)	การเลี้ยงกุ้งทดลอง (กุ้งขาวแวนนาไม)	การเติม เชื้อตัวอย่าง	การควบคุม อัตราส่วน C/N (C/N ratio =59.59)
C	-	-	-	-	-
F:C/N	-	ใช้	-	เติม	ควบคุม
S:C/N	-	ใช้	เลี้ยง	เติม	ควบคุม
CI	ใช้	-	-	-	-
FI:C/N	ใช้	ใช้	-	เติม	ควบคุม
SI:C/N	ใช้	ใช้	เลี้ยง	เติม	ควบคุม

5.2 วิธีการทดลอง

5.2.1 การเตรียมน้ำทะเลและซากปะการัง การปรับสภาพกุ้งทดลอง การเตรียมตู้ การเลี้ยง การให้อาหาร และ การตรวจสอบคุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล

วิธีการทดลองโดยทั่วไปดำเนินการเช่นเดียวกับรายละเอียดที่กล่าวแล้วในบทที่ 3 เช่น การเตรียมน้ำทะเลและซากปะการัง การปรับสภาพกุ้งทดลอง การเตรียมตู้ การเลี้ยง การให้อาหาร และ การตรวจสอบคุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล อย่างไรก็ตามเนื่องจากเป็นระยะที่ไม่สามารถจัดหากุ้งกุลาดำขนาดที่เหมาะสมได้ ดังนั้นตลอดการทดลองในบทนี้จึงใช้กุ้งขาวแวนนาไม *(Litopenaeus vannamei)* ขนาด 5-10 กรัม (อายุประมาณ 2 เดือน) เป็นสัตว์ทดลองแทน นอกจากนั้นเพื่อให้ข้อมูลมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น การทดลองในบทนี้ทำการตรวจวัดค่าออกซิเจนละลาย (DO) แต่ละชุดการทดลองทุกวันในเวลา 24.00 นาฬิกาตลอดระยะเวลาการทดลองด้วย

5.2.2 การควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

ทำการปรับสภาวะน้ำทะเลให้มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่เหมาะสม (59.59:1) ทุกๆ 2 วัน โดยหลังจากเริ่มเลี้ยงกุ้งทดลองนำค่าความเข้มข้นแอมโมเนียจากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกครั้ง (วันที่ 2-18) มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทรายที่ต้องเติมในแต่ละตู้ทดลอง (ภาคผนวก ข) หลังจากนั้นละลายน้ำตาลทรายขาวตามปริมาณที่คำนวณได้ในน้ำทะเล 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ ที่ 121°C 30 นาที รอให้สารละลายน้ำตาลทรายขาวเย็นลงแล้วจึงนำไปเติมในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลที่กำหนด

5.2.3 การเติมเชื้อจุลินทรีย์

ใช้เชื้อจุลินทรีย์จากน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตโดยเอกชนซึ่งใช้เชื้อเริ่มต้นจากภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เติมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเร่งกระบวนการลดระดับสารประกอบไนโตรเจนในตู้ทดลองที่กำหนด ตู้ละ 1 มิลลิลิตร เพียงครั้งเดียวหลังจากปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนครั้งแรกเท่านั้น

5.2.4 การศึกษาประสิทธิภาพการเลี้ยง

ประสิทธิภาพของการเลี้ยงกุ้งภายใต้สภาวะการทดลองต่างๆในบทนี้ประเมินจากอัตราการเพิ่มน้ำหนัก (weight gain) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และ อัตราการรอดตาย (survival rate) ของกุ้งทดลอง ดังรายละเอียดของวิธีการที่กล่าวแล้วในบทที่ 3

5.2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ระดับแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท pH และค่าออกซิเจนละลายที่ตรวจสอบได้ นำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี One – way Analysis of Variance; ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) อัตราเพิ่มน้ำหนัก อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี Paired-Sample T-Test โดยการวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 11.0

5.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

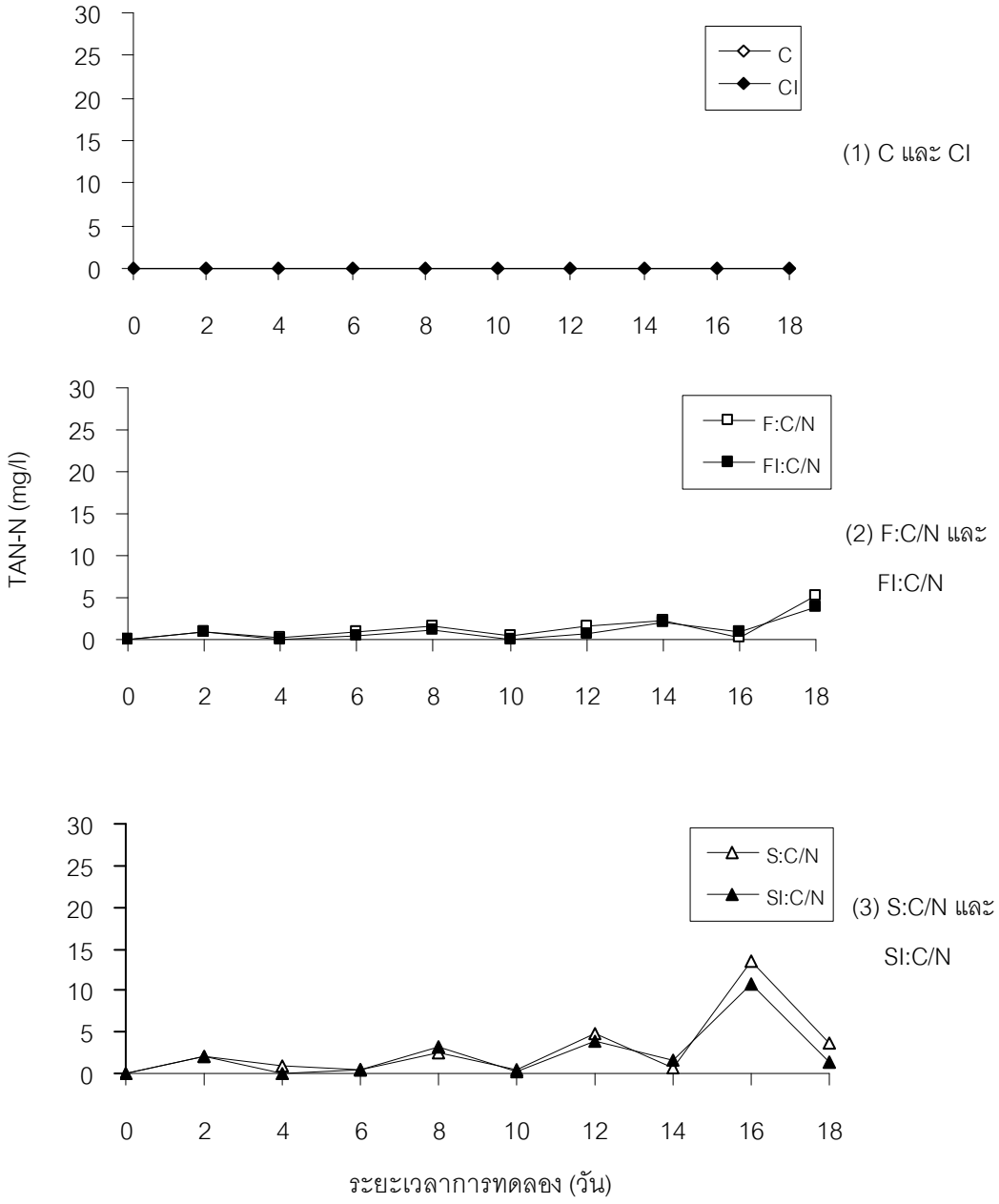
5.3.1 คุณภาพน้ำ

1. แอมโมเนีย

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวม (TAN) ในชุดควบคุมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลา 18 วัน ของการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 22 (1) พบว่าระดับแอมโมเนียรวมไม่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้ง 2 ชุดทดลองตรวจพบระดับความเข้มข้นสูงสุดเพียง 0.01±0.01 mg/l เช่นเดียวกันและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 29)

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลองและปรับอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 22 (2) จะเห็นว่ามีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 0.01-5.13 และ 0.02-3.92 mg TAN-N/l ตามลำดับ โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆส่วน

ใหญ่เป็นไปในทิศทางที่คล้ายกันและส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.50) (ตารางที่ 29)



ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวม (TAN) ในแต่ละชุดทดลองได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้งและควบคุมอัตราส่วน C/N (F:C/N) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N (S:C/N) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S: C/N) และ ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหารและปรับอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 22 (3) จะเห็นว่ามีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนในช่วง 0.00-13.47 และ 0.00-10.69 mg/l ตามลำดับ ในระยะ 4 วันแรกของการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงระดับที่ใกล้เคียงกัน หลังจากนั้นระดับแอมโมเนียรวมในตู้ทดลองที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) จะมีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำกว่าในตู้ทดลองซึ่งใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) และพบความแตกต่างระหว่างระบบอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.50$) (ตารางที่ 29)

เมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่นๆจะเห็นว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมในชุดควบคุมทั้ง 2 ระบบซึ่งไม่ใส่ทั้งอาหารและกุ้งลงเลี้ยงตรวจพบในระดับต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีแหล่งสารอินทรีย์ ที่จะทำให้เกิดกระบวนการ ammonification ปริมาณที่ตรวจพบเพียงเล็กน้อยอาจมาจากส่วนที่ละลายอยู่ในน้ำทะเล เมื่อทดสอบทางสถิติก็ไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบทั้งสอง ($p>0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าซากปะการังที่ใช้เป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับแอมโมเนียในน้ำ

สำหรับการเพิ่มขึ้นของระดับแอมโมเนียในตู้ทดลองซึ่งใส่เพียงอาหารสดลงไป (F: C/N และ FI:C/N) ชี้ให้เห็นว่ามีการละลายของสารอินทรีย์จากอาหารสดและถูกย่อยสลายให้กลายเป็นแอมโมเนียอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการทดลอง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระยะเวลาเดียวกันจะเห็นว่าตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S:C/N และ SI:C/N) ทั้งสองชุดมีระดับแอมโมเนียสูงกว่าชุดทดลองที่ใส่อาหารสดเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยเสริมที่มาจากของเสียซึ่งสัตว์ทดลองขับถ่ายออกมา

ภาพที่ 22 ทั้ง (2) และ (3) ยังแสดงให้เห็นว่าหลังจากทำการปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 59.59 โดยการเติมน้ำตาลทรายขาวทุกๆ 2 วัน ระดับความเข้มข้นแอมโมเนียของทั้ง 4 ชุดทดลองลดลงแล้วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วสลับกันไปทุกๆ 2 วัน การที่ระดับแอมโมเนียลดลงแล้วเพิ่มขึ้นสลับกันไปตลอดระยะเวลาการทดลองเนื่องจากกระบวนการ ammonification กระบวนการสังเคราะห์เซลล์ และกระบวนการ nitrification ในแต่ละครั้งที่เติมน้ำตาลทรายขาวเพื่อปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน heterotrophic bacteria จะดึงอินทรีย์คาร์บอนและแอมโมเนียจากน้ำมาสร้างเซลล์ใหม่ (Lancelot and Billen,1985 อ้างโดย Burford *et al*, 2003) และการที่ในตู้เลี้ยงกุ้งทดลองที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ ความเข้มข้นแอมโมเนียรวมที่ระยะเวลาเดียว อยู่ในระดับต่ำกว่าตู้เลี้ยงกุ้งทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังตลอดเวลา เนื่องจากวัสดุตรึงจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของ nitrifying bacteria กระบวนการ nitrification จึงเกิดขึ้นได้ดีกว่า ทำให้แอมโมเนียส่วนที่ถูกออกซิไดซ์กลายเป็นไนไตรท์และไนเตรท

ซึ่งไม่สามารถกลับมาเป็นแอมโมเนียในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลได้อีกมีปริมาณมากขึ้น (Wijffels and Tramper, 1995) ไม่เหมือนกับแอมโมเนียที่ถูกใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ที่สามารถกลับมาเพิ่มระดับแอมโมเนียในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลได้อีกจากกระบวนการ ammonification ทำให้ชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์มีระดับแอมโมเนียลดลงได้มากกว่าและเพิ่มขึ้นในระดับที่น้อยกว่าชุดทดลองระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

2. ไนไตรท์

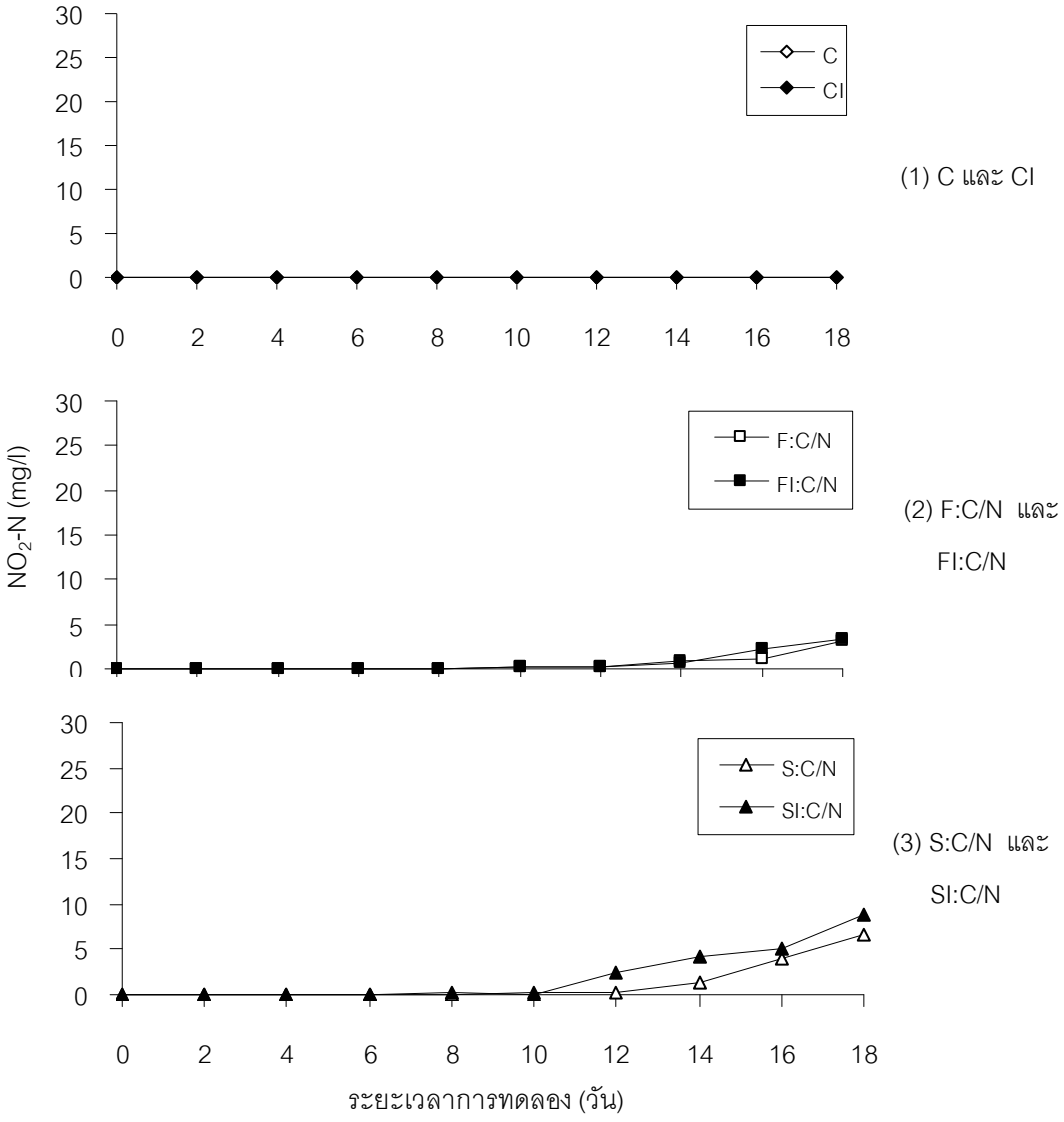
ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ (NO_2-N) ในชุดควบคุมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง จะเห็นว่าแทบไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ ดังแสดงในภาพที่ 23 (1) ตรวจวัดได้ในระดับ 0.00-0.01 และ 0.00-0.00 mg/l ตามลำดับ และระบบทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 30)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลองและปรับอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 23 (2) พบว่าความเข้มข้นของไนไตรท์แปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.00-3.09 และ 0.00-3.40 mg/l ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการทดลอง 18 วัน ระดับไนไตรท์ของทั้ง 2 ชุดทดลองส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 30)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหารและปรับอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 23 (3) พบว่าความเข้มข้นของไนไตรท์แปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.00-6.66 และ 0.00-8.93 mg/l ตามลำดับตลอดระยะการทดลอง 18 วัน ระดับไนไตรท์ระหว่างชุดการทดลองทั้งสองส่วนใหญ่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 30)

การควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 59.59 โดยการเติมน้ำตาลทรายขาวทุกๆ 2 วัน ทำให้ปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทำให้ขาดแคลนออกซิเจนซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนใน กระบวนการ nitrification แบคทีเรียจึงไม่สามารถออกซิไดซ์ไนไตรท์ไปเป็นไนเตรท (Spotte, 1979) เมื่อพิจารณาในชุดทดลองที่มีแหล่งไนโตรเจนเท่ากันพบว่าชุดทดลองระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (F:C/N,S:C/N) มีความเปลี่ยนแปลงของระดับไนไตรท์ในช่วงที่แคบกว่าชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N,SI:C/N) เนื่องจากชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตของ nitrifying bacteria สูงกว่าชุดทดลองระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ กระบวนการ nitrification จึง

เกิดได้มากและรวดเร็ว (Wijffels and Tramper, 1995) แต่เมื่อระบบมีออกซิเจนไม่เพียงพอ ทำให้ไนไตรท์สะสมอยู่ในระดับที่สูงกว่า (Boyd, 1990) เป็นที่น่าสังเกตว่าระดับไนไตรท์ของทั้ง 4 ชุดทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในช่วงระยะเวลาการทดลอง 10 วัน (<0.19 mg/l) หลังจากนั้นระดับความเข้มข้นไนไตรท์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย อาจเนื่องกระบวนการ nitrification เกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดการสะสมของไนไตรท์ในระดับความเข้มข้นสูงขึ้นเรื่อยๆ ในระยะหลังของการทดลอง



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงของระดับไนไตรท์ (NO_2-N) ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้งและควบคุมอัตราส่วน C/N (F:C/N) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N (S:C/N) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

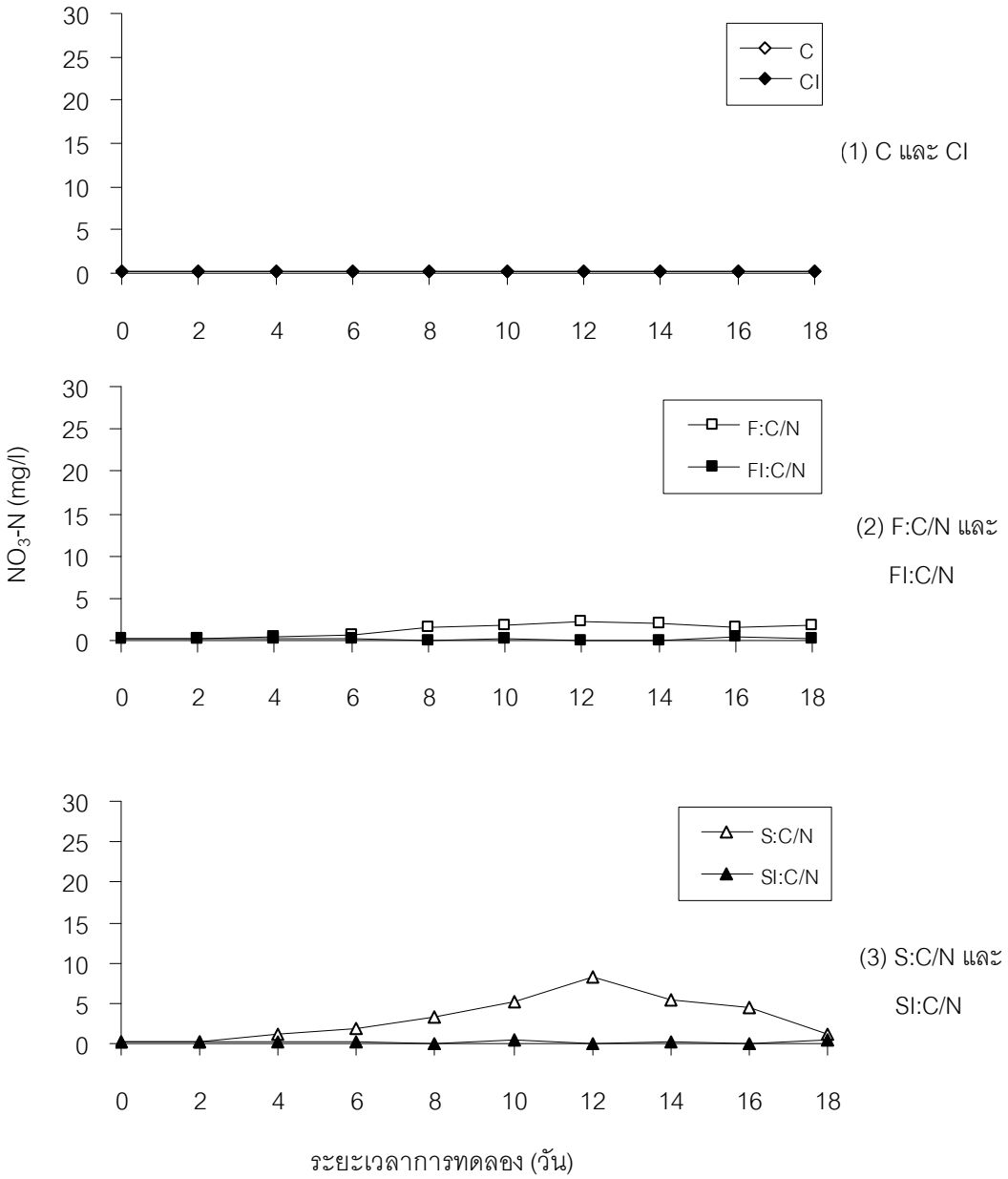
3. ไนเตรท

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรท (NO_3-N) ในชุดควบคุมของระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (CI) ดังแสดงในภาพที่ 24 (1) จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยโดยตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 0.22-0.24 และ 0.23-0.24 mg/l ตามลำดับ ตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลองไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบทั้งสอง ($p>0.05$) (ตารางที่ 31)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 24 (2) พบว่าความเข้มข้นของไนเตรทแปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.23-2.21 และ 0.05-0.44 mg/l ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการทดลอง 18 วัน ส่วนใหญ่พบความแตกต่างระหว่างสองระบบนี้ ($P>0.05$) (ตารางที่ 31)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรท เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหารและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 24 (3) พบว่าความเข้มข้นของไนเตรทแปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.21-8.37 และ 0.04-0.43 mg/l ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการทดลอง 18 วัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทในระบบทั้งสองส่วนใหญ่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 31)

ในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระดับไนเตรทเพิ่มขึ้นและลดลงเนื่องจากกระบวนการ nitrification และ denitrification ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของระดับไนเตรทในตู้ทดลองซึ่งใส่เพียงอาหารสดลงไป (F:C/N และ FI:C/N) และ ชุดทดลองเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหาร (S:C/N และ SI:C/N) พบว่าทั้ง 4 ชุดทดลองมีระดับไนเตรทลดลง แสดงว่ามีกระบวนการ denitrification เกิดขึ้นในทั้ง 4 ชุดทดลอง โดยเฉพาะชุดทดลองที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N SI:C/N) ในระยะเวลาการทดลอง 18 วัน พบการสะสมของระดับไนเตรทอยู่ในระดับต่ำกว่าชุดทดลองที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (F:C/N S:C/N) ตลอดระยะเวลาการทดลอง แสดงให้เห็นว่าตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ ทำให้อัตราการเกิดกระบวนการ nitrification และ denitrification สูงขึ้นและรวดเร็วกว่าตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ เนื่องจากระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มส่วนที่มีสภาวะขาดแคลนออกซิเจนซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการ denitrification ในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล (Wijffels and Tramper, 1995; Kotlar *et.al.*, 1996) และการปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เป็น 59.59 โดยการเติมน้ำตาลทรายขาว ทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้ไนเตรทในการสังเคราะห์โปรตีนและสร้างเซลล์ เรียกว่า assimilatory denitrification หากระบบมีแอมโมเนียไม่เพียงพอ (Gayle, 1989)



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงของระดับไนเตรท (NO_3-N) ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้งและควบคุมอัตราส่วน C/N (F:C/N) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N (S:C/N) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

4. pH

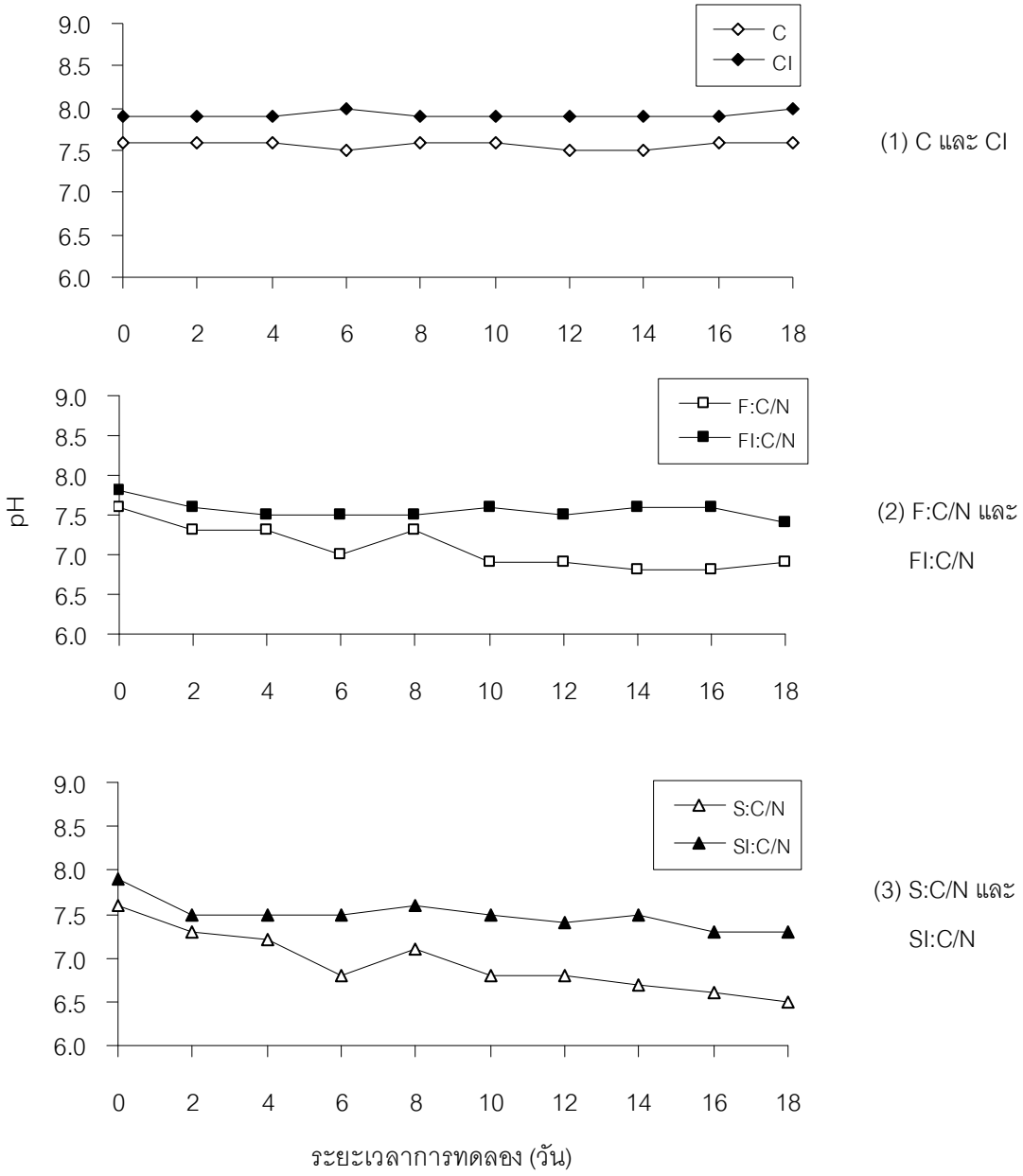
ผลการเปลี่ยนแปลงระดับ pH ในชุดควบคุมของระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลาการทดลอง 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 25 (1) พบว่าระดับ pH ของน้ำทะเลทั้งในชุดทดลอง C และชุดทดลอง CI เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 7.5-7.6 และ 7.9-8.0 ตามลำดับ ระดับ pH ของทั้งสองชุดทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 32) ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากคุณสมบัติความเป็นด่างของแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของซากปะการัง

ผลการเปลี่ยนแปลง pH เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 25 (2) พบว่าระหว่าง 18 วันของการทดลอง pH ในตู้ที่ไม่ใช้ปะการังจะลดลงตลอดเวลาคือเปลี่ยนจาก 7.6 ถึง 6.9 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ในตู้ที่มีซากปะการังเกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยคือเปลี่ยนจาก 7.8 ถึง 7.4 และผลการทดสอบทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองสองระบบนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 32)

ผลการเปลี่ยนแปลง pH ในตู้ทดลองเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S:C/N) และ ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหารและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 25 (3) พบว่า pH ในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ปะการังจะค่อยๆลดลงจาก 7.6 ถึง 6.5 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะตู้ที่มีซากปะการังมีการเปลี่ยนแปลง pH น้อยกว่าอยู่ในช่วง 7.9-7.3 เมื่อสิ้นสุดการทดลองจากการทดสอบทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลง pH ระหว่างตู้ทดลองสองระบบนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 32)

จากผลการศึกษาระดับแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท พบว่ามีการลดลงของค่าแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ในตู้ทดลองที่เติมเพียงอาหารที่เป็นเนื้อกุ้งสดและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 (F:C/N และ FI:C/N) และตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งทดลองโดยให้อาหารเป็นเนื้อกุ้งสดปรับอัตราส่วน C/N ratio 59.59 (S:C/N และ SI:C/N) แสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการ nitrification เกิดขึ้นทั้งในระบบที่ใช้และไม่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ กระบวนการ nitrification จะปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ และ H^+ ออกมาทำให้ pH ในน้ำลดลง ตู้ทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการัง ระดับ pH จึงลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ตู้ทดลองที่ใช้ซากปะการังโดยเฉพาะตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งโดยให้อาหารเป็นเนื้อกุ้งสด ระดับ pH ลดลงน้อยกว่า น่าจะมีผลมาจากซากปะการังซึ่งมีส่วนประกอบเป็นคาร์บอเนตช่วยเพิ่มความเป็นด่างในน้ำ ทำให้ระบบทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH (Menasveta *et al.,* 2001; Birkeland, 1997) และเนื่องจากระบบตู้เลี้ยงสัตว์น้ำที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มพื้นที่ที่มี

สภาวะกึ่งไร้ออกซิเจน จึงช่วยเพิ่มอัตรา denitrification ซึ่งเป็นกระบวนการที่ให้ความเป็นด่างกลับมาด้วยเช่นกัน (Khin and Annachhatre, 2004)



ภาพที่ 25 การเปลี่ยนแปลงของระดับ pH ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้งและควบคุมอัตราส่วน C/N (F:C/N) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N (S:C/N) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

5. ออกซิเจนละลาย (DO)

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลาย ในชุดควบคุมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI) ดังแสดงในภาพที่ 26 (1) ตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 7.1-7.8 และ 6.9-7.9 mg/l ตามลำดับ ตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง ทั้ง 2 ชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นวันที่ 5 ของการทดลอง (ตารางที่ 33)

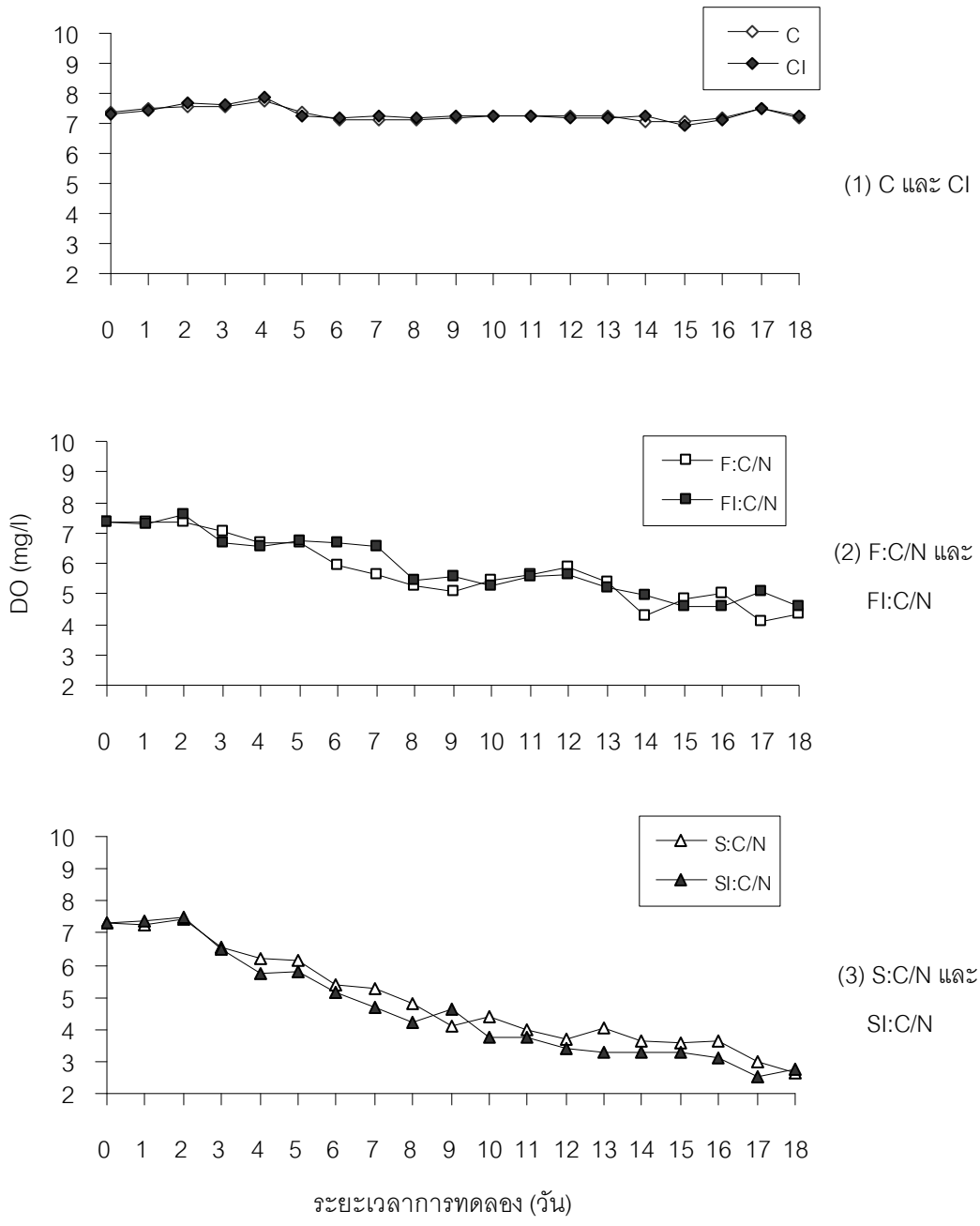
ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลาย เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI:C/N) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 26 (2) จะเห็นว่าตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง รูปแบบการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนละลายของทั้ง 2 ชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เช่นเดียวกัน มีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 7.4-4.1 และ 7.6-4.6 mg/l ตามลำดับ (ตารางที่ 33)

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลายในตู้ทดลองเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S:C/N) และ ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหาร ควบคุมอัตราส่วน C/N ratio 59.59 ดังแสดงในภาพที่ 26 (3) จะเห็นว่าตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง รูปแบบการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนละลายของทั้ง 2 ชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เช่นเดียวกัน มีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 7.4-2.6 และ 7.5-2.6 mg/l ตามลำดับ (ตารางที่ 33)

เมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่นๆจะเห็นว่าระดับออกซิเจนละลายในชุดควบคุมทั้ง 2 ระบบซึ่งไม่เลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหาร และไม่ปรับอัตราส่วน C/N ratio ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงน้อย ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีแหล่งสารอินทรีย์ ที่จะทำให้เกิดกิจกรรมการใช้ออกซิเจน เช่น กระบวนการ nitrification ของจุลินทรีย์ เมื่อทดสอบทางสถิติ ตลอดระยะเวลา 18 วันของการทดลอง ส่วนใหญ่ไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบทั้งสอง ($p>0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าซากปะการังที่ใช้เป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ไม่มีแหล่งสารอินทรีย์ จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับออกซิเจนละลายในน้ำ

สำหรับการลดลงของระดับออกซิเจนละลายในตู้ทดลองซึ่งใส่เพียงอาหารสดลงไป (F:C/N และ FI:C/N) ชี้ให้เห็นว่ามีการละลายของสารอินทรีย์จากอาหารสดและถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระยะเวลาเดียวกันจะเห็นว่าตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S:C/N และ SI:C/N) ทั้งสองชุดมีระดับออกซิเจนละลายต่ำกว่าชุดทดลองที่ใส่อาหารสดเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยเสริมจากการหายใจและแหล่งสารอินทรีย์จากการ

ขับถ่ายของเสียของสัตว์ทดลอง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการลดลงของแอมโมเนียรวมและไนไตรท์ดังที่กล่าวไปแล้ว



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลายในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้งและควบคุมอัตราส่วน C/N (F:C/N) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N (S:C/N) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI:C/N และ SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

ในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล นอกจากการหายใจของสัตว์ทดลองแล้วการลดลงของระดับออกซิเจนละลายยังขึ้นอยู่กับจำนวนแบคทีเรียและปริมาณแหล่งสารอาหารที่จำเป็นต่อการสร้างพลังงานและเซลล์ใหม่ ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอ nitrifying bacteria สร้างพลังงานโดยออกซิไดซ์แอมโมเนียและไนไตรท์ ซึ่งต้องใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียดังกล่าวเพิ่มขึ้น (Wijffels and Tramper, 1995) และหากระบบมีการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนในปริมาณสูง การเติมสารอินทรีย์คาร์บอนในระบบจึงทำให้เกิดความสมดุลของคาร์บอนและไนโตรเจน ทำให้ heterotrophic bacteria เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว (Avnimelech, 1999) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระดับออกซิเจนที่ระยะเวลาเดียวกันจะเห็นตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S:C/N และ SI:C/N) ทั้งสองชุดมีระดับออกซิเจนละลายใกล้เคียงกับชุดทดลองที่ใส่อาหารสดเพียงอย่างเดียว ตลอดระยะทดลอง 18 วัน ส่วนใหญ่ระดับออกซิเจนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มจำนวนของ heterotrophic bacteria จากการควบคุม C/N ratio มีผลต่อการลดลงของระดับออกซิเจนมากกว่าการตรึงจุลินทรีย์

5.3.2 ประสิทธิภาพการเลี้ยง

1. อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (weight gain)

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าในชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่มีการปรับ C/N ratio 59.59 และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) มีอัตราการเพิ่มน้ำหนักของกุ้งขาวแวนนาไม สูงกว่าในชุดทดลองที่มีการปรับ C/N ratio แต่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) มีค่าเท่ากับ 20.87±1.06 % และ 9.49±2.10 % ตามลำดับ โดยอัตราการเพิ่มน้ำหนักทั้ง 2 ชุดทดลองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

Chen และ คณะ (1990) รายงานว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมและไนไตรท์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำวัยรุ่นเท่ากับ 4.26 mg/l และ 10.60 mg/l ตามลำดับเมื่อใช้เกณฑ์ดังกล่าวเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ พบว่าชุดทดลองที่มีการควบคุม C/N ratio (SI:C/N) ระดับแอมโมเนียรวมไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อกุ้งในระยะเวลาการทดลอง 16 วัน อย่างไรก็ตามชุดทดลองที่ปรับเพียง C/N ratio โดยไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรี (S:C/N) ระบบสามารถรักษาระดับแอมโมเนียรวมให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อกุ้งได้ในระยะเวลา 12 วันของการทดลองเท่านั้น ด้วยความเป็นพิษของแอมโมเนียทำให้อัตราการเพิ่มน้ำหนักของชุดทดลอง SI:C/N มากกว่าชุดทดลอง S:C/N อย่างชัดเจน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของระดับไนไตรท์ของทั้งสองชุดทดลองพบว่าไม่อยู่ในระดับที่เป็นอันตรายต่อกุ้ง ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ตารางที่ 8 อัตราการเพิ่มน้ำหนัก อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย ในชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลองและควบคุมอัตราส่วน C/N 59.59 เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน แสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (%)	อัตราการแลกเนื้อ	อัตราการรอดตาย (%)
S:C/N	9.49±2.10[a]	21.47±5.93[a]	0.00±0.00[a]
SI:C/N	20.87±1.06[b]	9.97±0.74[b]	66.67±57.74[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรในแนวตั้งเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. อัตราการแลกเนื้อ

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าในชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่มีการควบคุม C/N ratio 59.59 และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) มีอัตราการแลกเนื้อน้อยกว่าในชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่ปรับเพียง C/N ratio โดยไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) มีค่าเท่ากับ 9.97±0.74 และ 21.47±5.93 ตามลำดับ โดยอัตราการแลกเนื้อทั้ง 2 ชุดทดลองแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงกุ้งในภาวะที่มีแอมโมเนียและไนไตรท์สูง กุ้งจะมีความเครียด การอัตราการเผาพลังงานในร่างกายสูงขึ้น แม้กินอาหารในปริมาณมากแต่การแลกเป็นเนื้อจะน้อย (Chen and Kou, 1992) มีผลให้ชุดทดลอง SI:C/N มีอัตราการแลกเนื้อน้อยกว่าชุดทดลอง S:C/N อย่างไรก็ตาม Akiyama (1990) รายงานว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาด 4.0 กรัมในตู้น้ำทะเลที่ความหนาแน่น 30 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.20 แต่อย่างไรก็ตามอัตราการแลกเนื้อขึ้นอยู่กับคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงด้วย ในการทดลองนี้ใช้อาหารที่เป็นเนื้อกุ้งสดซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำมากกว่าอาหารสำเร็จรูปจึงทำให้อัตราแลกเนื้อในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าการเลี้ยงกุ้งที่ใช้อาหารสำเร็จรูปทั่วไป

3. อัตราการรอดตาย

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่มีการปรับ C/N ratio 59.59 และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) มีอัตราการรอดตายของกุ้งสูงกว่าในชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่ควบคุมเพียง C/N ratio โดยไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) มีค่าเท่ากับ

66.67±57.74 % และ 0.00±0.00 % ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 แต่เนื่องจากในชุดทดลอง SI:59.59 อัตราการรอดตายแต่ละตู้เลี้ยงกุ้งทดลองมีค่าแตกต่างกันมาก ทำให้อัตราการรอดตายทั้ง 2 ชุดทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ระดับออกซิเจนละลายที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำควรมีค่ามากกว่า 5 mg/l ถึงจุดอิ่มตัว ระดับออกซิเจนละลายมีค่าน้อยกว่านี้และเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องสัตว์น้ำจะเจริญเติบโตช้าและขยายพันธุ์ได้ไม่ดี (Swingle 1969 อ้างโดย Boyd, 1982) ส่วน Seidman และ Lawrence (1985) รายงานว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไม *(Litopenaeus vannamei)* ขนาด 0.2-0.5 กรัม จะตายเมื่อระดับ DO ในน้ำต่ำกว่า 1.9 mg/l และ 2.2 mg/l ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของระดับออกซิเจนละลายของทั้ง 2 ชุดทดลอง พบว่าระดับออกซิเจนละลายลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง 18 วัน และมีค่าน้อยกว่า 5 mg/l ตั้งแต่วันที่ 7-8 ของการทดลอง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้อัตราการรอดตายระหว่างชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่มีการควบคุม C/N ratio 59.59 และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI:C/N) กับชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่ควบคุมเพียง C/N ratio โดยไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S:C/N) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แม้ว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักและอัตราการแลกเนื้อของทั้ง 2 ชุดทดลองจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)