โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) ระยะโพสลาร์วา

Major mineral supplementary for nursing *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) postlarvae

ชื่อนิสิต นายอนุรักษ์ เกตุเลขา **เลขประจำตัว** 5732826423

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) ระยะโพสลาร์วา

อนุรักษ์ เกตุเลขา

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

Major mineral supplementary for nursing *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) postlarvae

Anurak Ketlekha

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science

Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Academic Year 2018

หัวข้อโครงงาน	การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) ระยะโพสลาร์วา
โดย	นายอนุรักษ์ เกตุเลขา
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. สุจารี บุรีกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงงานวิทยาศาสตร์

.....หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. สุจารี บุรีกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมฤดี จิตประไพ)

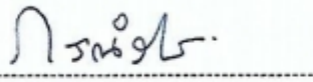
Project Title	Major mineral supplementary for nursing *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) postlarvae
By	Mr. Anurak Ketlekha
Field of Study	Marine Science
Project Advisor	Sujaree Bureekul, Ph. D.
Project Co-advisor	Asst. Prof. Kornrawee Aiemsomboon, Ph. D.

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Bachelor's Degree.

..... Head of Marine Science Department
(Assoc. Prof. Voranop Viyakarn, Ph. D.)

PROJECT COMMITTEE

..... Project Advisor
(Sujaree Bureekul, Ph. D.)



..... Project Co-advisor
(Asst. Prof. Kornrawee Aiemsomboon, Ph. D.)

..... Member
(Asst. Prof. Penjai Sompongchaiyakul, Ph. D.)

Somrudee Jitpraphai ..... Member
(Asst. Prof. Somrudee Jitpraphai, Ph. D.)

ชื่อโครงการ การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) ระยะโพสลาร์วา
ชื่อนิสิต อนุรักษ์ เกตุเลขา
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.สุจารี บุรีกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์
ปีการศึกษา 2561
ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้และปริมาณแร่ธาตุหลักจำเป็น ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ที่ลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา 7 ดึงไปใช้ในการเจริญเติบโตในน้ำทดลองเลี้ยงความเค็ม 2 psu ตลอดการเลี้ยง 30 วัน เปรียบเทียบผลการเลี้ยงระหว่างชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (น้ำเลี้ยงเจือจางจากนาเกลือ) ชุดการทดลอง 1 (น้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผง) และชุดการทดลอง 2 (น้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผงที่มีการเสริมแร่ธาตุ) เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงมากรองและวิเคราะห์แร่ธาตุหลักด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP - OES) และค่าอัลคาลินิตี้ด้วยวิธี Gran potentiometric titration

ค่าอัลคาลินิตี้ที่ตรวจวิเคราะห์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและมีค่าระหว่าง 105.0 –134.7 mg/L as $CaCO_3$ ขณะที่ในระหว่างวันที่ 12 – 30 ของการเลี้ยงปริมาณความเข้มข้นของแร่ธาตุหลัก ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียมในชุดทดลองมีค่าค่อนข้างคงที่ โดยมีค่าระหว่าง 474.2 - 654.2, 43.0 – 59.4, 45.5 – 292.9 และ 78.9 – 156.6 mg/L ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าสัดส่วน พบว่าคู่สัดส่วนระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียมมีค่าลดลงในช่วงระหว่างวันที่ 12 - 21 ของการทดลองเลี้ยง จากนั้นมีค่าค่อนข้างคงที่ ในขณะที่คู่สัดส่วนระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียมมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง หลังสิ้นสุดการทดลองปริมาณลูกกุ้งมีปริมาณน้อยจึงไม่ได้ทำการเปรียบเทียบอัตราการรอดตายของลูกกุ้ง แต่สำหรับความยาวลำตัวที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำเลี้ยงเจือจางจากนาเกลือ (ชุดควบคุม) มีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงสุด 1.81 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีความยาวเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 1.41 และ 1.39 เซนติเมตร ตามลำดับ กล่าวได้ว่าความยาวที่เพิ่มขึ้นของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมมีค่ามากกว่าชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้การเสริมแร่ธาตุหลักในน้ำทดลองเลี้ยงที่เตรียมจากเกลือทะเลผงมีความสำคัญเพื่อควบคุมค่าอัลคาลินิตี้ในน้ำเลี้ยงให้เหมาะสม แต่การเสริมปริมาณแร่ธาตุรองที่พบในน้ำทะเลเจือจางจากชุดควบคุมมีความจำเป็นต่อการเติบโตของลูกกุ้ง

คำสำคัญ: กุ้งก้ามกราม น้ำทะเลผงธรรมชาติ แร่ธาตุหลักจำเป็น การเสริมแร่ธาตุ

Project Title Major mineral supplementary for nursing *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) postlarvae
Name Anurak Ketlekha
Advisor Sujaree Bureekul, Ph.D.
Co-advisor Assistant Professor Kornrawee Aiemsomboon, Ph.D.
Academic Year 2018
Department Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

This study monitored the change of alkalinity and major essential elements i.e. Sodium (Na), Potassium (K), Magnesium (Mg) and Calcium (Ca) in cultured water for shrimp larvae (PL7) during 30 hatching days with 4 feeding times a day and remove waste every day. Survival and growth were compared in 3 sets of low salinity cultured water (at 2 psu) experiment namely; a control set (diluted cultured water from a salt pond's water), the 1st experiment (diluted cultured water from sea salt powder) and the 2nd experiment (diluted cultured water from sea salt powder with supplement of major elements). Cultured water was collected, filtered and analyzed for major minerals using with Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP - OES) technique and alkalinity.

Result shows that alkalinity in all experiment was in appropriate value for aquaculture and ranged in between 105.0 – 134.7 mg/L as $CaCO_3$. Concentration of 4 major elements; Na, K, Mg, Ca in all sets measured during 12th – 30th day of experiment were quite constant and ranged between 474.2 - 654.2, 43.0 – 59.4, 45.5 – 292.9 and 78.9 – 156.6 mg/L, respectively. Na:K ratio was decreased during the day 12th to 21st and remained constant until the end while; Mg:Ca ratio was remained quite constant thorough out the experiment. At the end, number of shrimp larvae survived in the experiment was relatively low, thus survival rate was not determined. But shrimp larvae in control set displayed the best growth rate in which calculated from the increased in length and was 1.81 cm longer. While, in the 1st and 2nd experiment, the growth rate was 1.41 and 1.39 cm longer in average. The growth rate in the control set was greater significantly ($P < 0.05$) which indicated that in the uses of salt powder for cultured water, it is necessary to supplement not only the major essential elements (maintain alkalinity) but also minor and trace element in similar concentration to seawater, for better growth rate.

Keywords: *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), natural seawater powder, major mineral, mineral supplementation

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.สุจารี บุรีกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำแนวทาง ตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่อง เพื่อให้งานชิ้นนี้ออกมาอย่างสมบูรณ์ที่สุด และขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยแนะนำ และให้กำลังใจ จนทำให้งานชิ้นนี้ออกมาเป็นผลสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ ที่คอยเฝ้าดู ให้คำชี้แนะตลอดการเลี้ยง รวมถึงอำนวยความสะดวกในการเลี้ยง และขอขอบพระคุณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องมือ รวมถึงสถานที่ในการทดลองเลี้ยง

ขอขอบพระคุณ คุณปรีชา เสนสิทธิ์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเคมี ที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือ แนะนำวิธีการที่เหมาะสม และเฝ้าดูความปลอดภัยในระหว่างทำการทดลอง และขอขอบคุณ คุณจริยา กาหยี และคุณธนกร อุบลแย้ม ที่ช่วยควบคุมดูแลผู้ทำวิจัยขณะทำการทดลอง พร้อมทั้งช่วยแนะนำขั้นตอนการใช้เครื่องมือ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมฤดี จิตประไพ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล อาจารย์ประจำรายวิชาโครงงานวิทยาศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำ ตักเตือน และชี้ให้เห็นถึงจุดบกพร่องของชิ้นงาน เพื่อให้งานออกมาอย่างสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบคุณพี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคน รวมถึงคนในครอบครัว ที่ให้ความช่วยเหลืออยู่ห่าง ๆ เป็นกำลังใจในยามท้อแท้ และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2561 ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

อนุรักษ์ เกตุเลขา

พฤษภาคม 2562

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก
Abstract ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญรูป ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 2
1.3 ขอบเขตการศึกษา 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม 3
2.2 ปัจจัยในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม 4
2.2.1 คุณภาพน้ำในการเลี้ยง 4
2.2.2 แหล่งของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยง 4
2.3 การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็น 5
2.4 วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี 6
2.4.1 วิธีวิเคราะห์อัลคาลินิตี้ 6
2.4.2 วิธีวิเคราะห์แร่ธาตุหลัก 7
บทที่ 3 วิธีการศึกษา 9
3.1 แผนการทดลอง 9
3.2 การเตรียมชุดทดลอง 10
3.2.1 การเตรียมตู้ทดลอง 10
3.2.2 การเตรียมลูกกุ้ง 11
3.2.3 การเตรียมน้ำ 12
3.2.4 การเสริมแร่ธาตุ 12
3.3 วิธีการทดลองเลี้ยง 13
3.4 การเก็บตัวอย่าง และข้อมูลชุดทดลอง 13
3.5 การวิเคราะห์ทางเคมี 14

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5.1 การเก็บน้ำตัวอย่าง 14
3.5.2 การวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้ 14
3.5.3 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแร่ธาตุหลัก 16
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล 19
3.6.1 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น 19
3.6.2 การหาความสัมพันธ์ปัจจัยเลี้ยงต่ออัตราการรอดและการเจริญเติบโต 19
บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล 20
4.1 ปัจจัยทางกายภาพในชุดทดลองเลี้ยง 20
4.2 ค่า pH และ อัลคาลินิตี้ ในชุดทดลองเลี้ยง 22
4.3 แร่ธาตุหลักจำเป็น 23
4.3.1 ค่าความเข้มข้นของแร่ธาตุหลักในชุดทดลองเลี้ยง 23
4.3.2 สัดส่วนของแร่ธาตุหลักจำเป็น 26
4.4 อัตราการรอดตาย และการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม 28
บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ 30
5.1 สรุปผลการศึกษา 30
5.2 ข้อเสนอแนะ 30
เอกสารอ้างอิง 33
ภาคผนวก 36

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม 3
3.1 แผนการทดลองเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในน้ำความเค็มต่ำ 9
3.2 ตู้ทดลองสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งในการวิจัย 10
3.3 ระบบกรองเพื่อบำบัดน้ำ 10
3.4 ถังปรับสภาพลูกกุ้งก่อนการทดลอง 11
3.5 ขนาดลูกกุ้งก้ามกราม ระยะโพสลาร์วา 7 (0.5 เซนติเมตร) ที่ใช้สำหรับการทดลอง 11
3.6 เกลือทะเลผงธรรมชาติ จากโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่างตามพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี 12
3.7 เครื่องวิเคราะห์แร่ธาตุจำเป็นหลักในการทดลอง 16
3.8 ขั้นตอนการวิเคราะห์แร่ธาตุหลักจำเป็น 17
3.9 กราฟมาตรฐานของแร่ธาตุหลักในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ของ (ก) โซเดียม(ข) โพแทสเซียม (ค) แมกนีเซียม และ (ง) แคลเซียม 18
4.1 ค่าคุณภาพน้ำเบื้องต้นในชุดทดลองเลี้ยง (ก) ค่าความเค็ม (ข) ค่าอุณหภูมิ (ค) ค่าแอมโมเนีย และ (ง) ค่าไนไตรท์ 21
4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในชุดทดลองระหว่างวันที่ 1 – 30 ของการทดลองเลี้ยง 22
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ในชุดทดลองระหว่างวันที่ 1 – 30 ของการทดลองเลี้ยง 22
4.4 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ โซเดียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 24
4.5 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ โพแทสเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 24
4.6 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ แมกนีเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 25
4.7 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 25
4.8 สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 27
4.9 สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียม ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30 27
4.10 การเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมและชุดการทดลอง 29

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ความสำคัญของแร่ธาตุหลักจำเป็นที่ส่งผลต่อการเติบโตของกุ้งก้ามกราม และสัดส่วนการเติมแร่ธาตุหลักจำเป็นสำหรับการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม 6

3.1 ความเข้มข้นและสัดส่วนของแร่ธาตุหลักจำเป็นที่เสริมในน้ำเลี้ยงกุ้งก้ามกรามความเค็มต่ำ 13

4.1 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมและชุดการทดลอง 28

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

กุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) เป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยและอาเซียน พบอาศัยได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย แต่ปัจจุบันพบว่าปริมาณกุ้งก้ามกรามในธรรมชาติลดลงอย่างมาก เนื่องจากปริมาณการจับที่มากเกินไป ประกอบกับปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมและปัญหามลพิษทางน้ำ การปล่อยน้ำเน่าเสียลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้มีการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในบ่อดิน หรือบ่อซีเมนต์เพิ่มมากขึ้น โดยทั่วไปรูปแบบการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามจะเป็นการอนุบาลลูกกุ้งในบ่อซีเมนต์ หรือบ่อดิน (ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล และ นิสรา กิจเจริญ, 2560) ก่อนที่จะปล่อยลงเลี้ยงเป็นกุ้งเนื้อในบ่อดิน หรือแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยให้ลูกกุ้งมีขนาดตัวที่เหมาะสม และมีอัตราการรอดตายเพิ่มขึ้น (สุรังษี ทัพพะรังสี และคณะ, 2556)

กุ้งก้ามกรามสามารถเลี้ยงในน้ำที่ความเค็มค่อนข้างต่ำได้ เนื่องจากกุ้งก้ามกรามตัวเต็มวัยจะอาศัยอยู่ด้านในของแม่น้ำ และจะอพยพมายังปากแม่น้ำที่มีความเค็มเมื่อเข้าสู่ช่วงผสมพันธุ์และแม่กุ้งก้ามกรามวางไข่ และลูกกุ้งจะเจริญเติบโตต่อในน้ำที่มีความเค็มจนกระทั่งถึงระยะโพสลาร์วา (ระยะกุ้งคว่ำ) ซึ่งลูกกุ้งจะอพยพไปยังแหล่งน้ำจืดต่อไป โดยความเค็มของน้ำทะเลที่เหมาะสมต่อการเพาะและอนุบาลวัยอ่อนคือ 12 - 15 psu (New, 2002)

การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม มักทำในพื้นที่ที่จัดหาน้ำทะเลได้ เพราะลูกกุ้งจะฟักจากไข่ในน้ำที่มีความเค็ม ในปัจจุบันพบการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในพื้นที่ภาคเหนือและภาคอีสานเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีการขนส่งน้ำเค็มจากชายฝั่งติดทะเลขึ้นไป ก่อให้เกิดค่าใช้จ่ายในการขนส่งน้ำทะเล ซึ่งทำให้ต้นทุนของการเพาะและอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามสูงขึ้นทั้งนี้การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในพื้นที่ความเค็มต่ำได้มีการนำน้ำทะเลสังเคราะห์มาใช้ในการเพาะลูกกุ้ง ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพาะเลี้ยง หากแต่ยังพบปัญหาของการเลี้ยงในบริเวณที่มีความเค็มต่ำ เนื่องจากปริมาณแร่ธาตุที่จำเป็นในน้ำที่เลี้ยงไม่สมดุลกับความต้องการนำไปใช้ในการเติบโตของกุ้ง ทำให้ไม่ประสบความสำเร็จในการเลี้ยง

การเสริมแร่ธาตุจึงเป็นทางเลือกสำหรับระบบการเลี้ยงที่มีการใช้น้ำความเค็มต่ำและการเลี้ยงมีความหนาแน่น โดยแร่ธาตุหลักที่ลูกกุ้งก้ามกรามมักดึงไปใช้ ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ซึ่งลูกกุ้งได้รับจากน้ำเป็นส่วนใหญ่ (กระสินธุ์ หังสพฤกษ์, 2553) มีรายงานว่า สัดส่วนความเข้มข้นของแร่ธาตุมีความสำคัญมากกว่าความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยง โดยสัดส่วนที่แนะนำคือ สัดส่วนเดียวกับที่พบในน้ำทะเล การเสริมแร่ธาตุจึงเป็นการเติมแร่ธาตุให้ได้สัดส่วนใกล้เคียงกับน้ำทะเล จะทำให้ลูกกุ้งมีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

โดยทั่วไปเกษตรกรจะนำกุ้งก้ามกรามระยะคว่ำ (Postlarvae) อายุ 1 เดือน นำไปอนุบาลลูกกุ้งต่อในบ่อดินหรือบ่อซีเมนต์ โดยต้องมีการลดความเค็มของน้ำให้เหลือ 0.5 - 2.0 psu ก่อนที่จะนำลูกกุ้งระยะนี้ลงเลี้ยงในบ่อเลี้ยงต่อไป กุ้งก้ามกรามระยะนี้จึงสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ ซึ่งพื้นที่ในการเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามในบ่อดินส่วนมาก จะอยู่ในจังหวัดราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ดังนั้นหากทราบปริมาณแร่ธาตุหลักที่มีความจำเป็นต่อลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วาในน้ำความเค็มต่ำที่ลูกกุ้งต้องดึงไปใช้ในการเติบโตในช่วงอนุบาล จะทำให้ทราบแนวทางและระดับความเหมาะสมต่อปริมาณการเสริมแร่ธาตุหลักในน้ำ ซึ่งจะทำให้สามารถนำน้ำมาหมุนเวียนใช้หลังการปรับแร่ธาตุจำเป็นแล้ว ซึ่งนอกจากจะสามารถนำน้ำมาใช้ซ้ำแล้วยังไม่กระทบต่อการรอดตายและการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม ซึ่งเป็นผลดีต่อการพัฒนาการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามในพื้นที่ความเค็มต่ำต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยทำการทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกราม ระยะโพสลาร์วา (PL7) เป็นเวลา 30 วัน ในน้ำเลี้ยง จากชุดควบคุม (น้ำเลี้ยงเจือจางจากนาเกลือ) ชุดการทดลอง 1 (น้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผง) และชุดการทดลอง 2 หรือ น้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผงและทำการเสริมแร่ธาตุ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดตายและการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

ติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแร่ธาตุหลักได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ในน้ำเลี้ยงความเค็มต่ำที่ใช้สำหรับอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) จากชุดควบคุม (น้ำเลี้ยงเจือจางจากนาเกลือ) ชุดการทดลอง 1 (น้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผง) และ ชุดการทดลอง 2 หรือน้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผงและทำการเสริมแร่ธาตุ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดตายและการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม

1.3 ขอบเขตการศึกษา

วิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลักที่จำเป็น ได้แก่ โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) และแคลเซียม (Ca) และค่าอัลคาลินิตี้ในน้ำเลี้ยงที่มีความเค็มต่ำที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) ในระยะเวลาการเลี้ยง 30 วัน โดยทำการทดลองเลี้ยง ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และทำการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลักในน้ำที่มีความเค็มต่ำในชุดทดลองที่ห้องปฏิบัติการทางเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

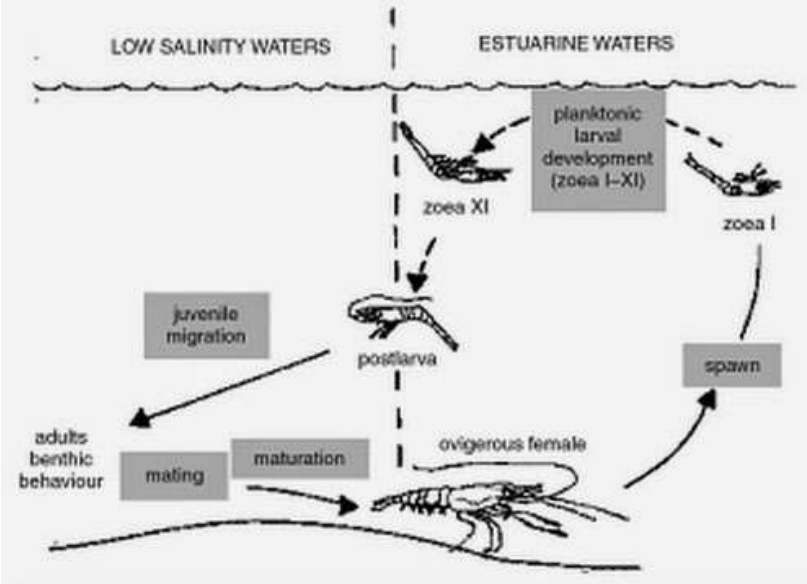
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงปริมาณการใช้แร่ธาตุหลักจำเป็นของลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา ที่ทำการอนุบาลในน้ำความเค็มต่ำ

บทที่ 2
ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกราม (Giant River Prawn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Macrobrachium rosenbergii* (Michael, 2002) เป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยและอาเซียน สามารถพบกุ้งก้ามกรามอาศัยได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย เช่น ทะเลสาบ อ่างเก็บน้ำ แม่น้ำลำคลอง ที่มีทางออกสู่ทะเล (Ling, 1964) วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกรามประกอบไปด้วย 4 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ (Egg), ระยะตัวอ่อน (Larva), ระยะโพสลาร์วา (Juvenile) และระยะตัวเต็มวัย (Adult) ตามลำดับ โดยกุ้งก้ามกรามตัวเต็มวัยจะอาศัยอยู่ด้านในของแม่น้ำ และจะอพยพมายังปากแม่น้ำที่มีความเค็มเมื่อเข้าสู่ช่วงผสมพันธุ์และแม่กุ้งก้ามกรามวางไข่ และลูกกุ้งจะเจริญเติบโตต่อในน้ำที่มีความเค็มจนกระทั่งถึงระยะโพสลาร์วา (ระยะกุ้งคว่ำ) ลูกกุ้งจะอพยพไปยังแหล่งน้ำจืดต่อไป (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม (New and Singholka, 2000)

ลูกกุ้งในระยะโพสลาร์วาสามารถอาศัยอยู่ในน้ำที่ความเค็มต่ำได้ โดยหลังจากลูกกุ้งเริ่มคว่ำ เกษตรกรจะค่อยๆปรับลดความเค็มของน้ำลง จนเหลือความเค็มประมาณ 0 - 2 psu ก่อนปล่อยลงเลี้ยงในบ่อดินหรือเรียกว่าการชำลูกกุ้ง ซึ่งจะนำลูกกุ้งหลังจากเริ่มคว่ำมาทำการอนุบาลต่อ โดยทั่วไปจะใช้ระยะเวลาในการชำทั้งสิ้น 60 วัน เพื่อให้ได้ลูกกุ้งที่มีขนาดตัวเหมาะสม และมีอัตราการรอดที่สูงขึ้น (สุรังษี ทัพพะรังสี และคณะ, 2556)

2.2 ปัจจัยในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

2.2.1 คุณภาพน้ำในการเลี้ยง

กุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงที่อยู่ห่างไกลจากทะเล สามารถเติบโตได้ดีในช่วงความเค็มกว้างตั้งแต่ 0 - 20 psu โดยมีอัตราการรอดตายระหว่าง 78 – 91% ที่ระดับความเค็ม 20 – 0 psu ตามลำดับ (Chand *et al*., 2015) และควรมีอัตราส่วนไอออนจำเป็น (Ionic ratio) เช่นเดียวกับที่พบในน้ำทะเล (New, 2002) โดยค่า pH ที่เหมาะสม มีค่าระหว่าง 7.8 – 8.2 ซึ่งเป็นค่า pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งค่า pH ที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลต่อสมดุลกรดเบสภายในร่างกายของกุ้งทำให้ลูกกุ้งเกิดภาวะเครียดอันเนื่องมาจากการปรับระดับความเข้มข้นภายในเซลล์ (Osmotic stress) และเป็นผลให้ลูกกุ้งต้องใช้พลังงานมาก พร้อมกับขับถ่ายของเสียในรูปแอมโมเนียมากขึ้นด้วยทำให้ในการเพาะเลี้ยงต้องมีการควบคุมระดับอัลคาลินิตี้ให้คงที่ เพื่อควบคุมไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า pH ที่มากเกินไป โดยการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตหรือโซเดียมคาร์บอเนตลงไปในระบบเลี้ยงเพื่อช่วยในการปรับเพิ่มค่าอัลคาลินิตี้ในน้ำ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ, 2547)

นอกจากนี้ สารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียและไนไตรท์ในน้ำสามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อกุ้งและสัตว์น้ำ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ,2547) ทั้งนี้สารประกอบไนโตรเจนในน้ำส่วนมากจะเกิดจากกระบวนการย่อยสลายของเสียโดยจุลินทรีย์แล้วปล่อยไนโตรเจนออกมาในรูปแอมโมเนียลงสู่น้ำโดยตรง ถ้าในระบบเลี้ยงมีออกซิเจนเพียงพอแบคทีเรียจำพวกไนตริไฟอิ้งแบคทีเรีย (Nitrifying bacteria) จะเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์และไนเตรท ตามลำดับ สำหรับค่าแอมโมเนียและไนไตรท์ที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำควรมีค่าไม่เกิน 0.1 และ 1.0 mg/L ตามลำดับ

2.2.2 แหล่งของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยง

ลูกกุ้งก้ามกรามจำเป็นต้องใช้แร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำทะเลเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในน้ำความเค็มต่ำควรมีค่าสัดส่วนแร่ธาตุที่ใกล้เคียงกับน้ำทะเล ทั้งนี้สามารถใช้น้ำเค็มที่ได้จากน้ำนาเกลือที่มีค่าความเค็มสูงมาเจือจางให้ได้น้ำความเค็มต่ำที่คงสัดส่วนแร่ธาตุที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงได้ หรือการนำเกลือสินเธาว์มาใช้ในการเพาะเลี้ยง แต่การนำเกลือสินเธาว์มาใช้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องปริมาณแร่ธาตุจำเป็นที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของลูกกุ้งก้ามกราม พบว่าลูกกุ้งที่อนุบาลในน้ำเกลือสินเธาว์ที่ไม่ได้ผ่านการเสริมแร่ธาตุตายทั้งหมดในวันแรกของการอนุบาล (ศิริภรณ์ โคตะมี และคณะ, 2556) จึงต้องมีการเสริมแร่ธาตุจำเป็นเพิ่มเติม นอกจากนี้ยังมีการนำเกลือผงธรรมชาติ (ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์ NaCl และ แมกนีเซียมซัลเฟต Mg_2SO_4) ที่มีวางขายตามท้องตลาดมาละลายน้ำจนได้น้ำความเค็มที่ต้องการก็จะสามารถนำมาใช้เลี้ยงกุ้งได้ ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและประหยัดค่าใช้จ่ายในการขนส่ง (Brown, 1991)

2.3 การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็น

ในแหล่งน้ำธรรมชาติแต่ละแหล่งจะมีปริมาณแร่ธาตุแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถแบ่งแร่ธาตุออกเป็น 2 ประเภท ตามปริมาณความเข้มข้นที่พบในน้ำ ได้เป็น แร่ธาตุหลัก (Major element) และแร่ธาตุรอง (Minor or Trace element) ซึ่งแร่ธาตุทั้ง 2 ประเภทมีความจำเป็นต่อสัตว์น้ำ แหล่งน้ำบางแหล่งที่พบปริมาณแร่ธาตุบางชนิดน้อยจำเป็นที่จะต้องมีการเสริมแร่ธาตุเพิ่มก่อนจะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงหรืออนุบาลสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ 1) เติมละลายลงไปในน้ำโดยตรง แร่ธาตุประเภทนี้ส่วนใหญ่เป็นแร่ธาตุหลักที่สามารถละลายน้ำได้ดี 2) เติมแร่ธาตุเสริมในอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากแร่ธาตุชนิดนี้มักจะละลายน้ำได้น้อย การให้ผสมไปกับอาหารจึงเป็นการให้ทางอ้อมที่สัตว์น้ำสามารถกินแล้วนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยลูกกุ้งก้ามกรามสามารถรับแร่ธาตุได้ทางอาหารจากการกินแล้วดูดซึมผ่านระบบภายใน ขณะเดียวกันก็สามารถดูดซึมจากน้ำได้โดยตรงผ่านทางเหงือกหรือรอยแยกบนเปลือกกุ้ง ทั้งนี้ลูกกุ้งจะสามารถดูดซึมแร่ธาตุได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำและอาหารด้วย (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2551)

แร่ธาตุหลักจำเป็นที่มีความสำคัญต่อการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม โดยลูกกุ้งก้ามกรามจะดึงแร่ธาตุเหล่านี้ไปใช้ในการเจริญเติบโต (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ, 2547) โดยเฉพาะแคลเซียมที่ลูกกุ้งต้องการเพื่อใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ รักษาสมดุลกรดด่างภายในร่างกาย ความต่างศักย์ของเนื้อเยื่อ การแข็งตัวของเลือด การหดตัวของกล้ามเนื้อ และช่วยในการดูดซับวิตามินบี 12 (Deshimaru *et al.*, 1978) และต้องการแมกนีเซียม เพื่อช่วยปรับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกาย ความต่างศักย์ของเนื้อเยื่อ การสร้างเปลือก และการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2551) ดังตารางที่ 2.1

จากการศึกษาแร่ธาตุหลักในน้ำที่เลี้ยงกุ้งก้ามกรามพบว่าแร่ธาตุหลักมีความเข้มข้นลดลงโดยเฉพาะแมกนีเซียม โซเดียม และแคลเซียม หลังจากการฟัก 30 วัน โดยสัดส่วนระหว่างแมกนีเซียมต่อแคลเซียมที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง เท่ากับ 1.51 และ 0.61 ตามลำดับ (Hangsapreurke *et al.*, 2009) จึงจะต้องมีการเสริมแร่ธาตุในระหว่างการเลี้ยงโดยเฉพาะแมกนีเซียมและแคลเซียมที่พบว่าลูกกุ้งก้ามกรามดึงแร่ธาตุไปใช้มากจึงจำเป็นต้องเสริมแร่ธาตุโดยการเติมผ่านทางน้ำโดยตรง เนื่องจากแร่ธาตุกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ค่อนข้างดี สอดคล้องกับการเสริมแร่ธาตุในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวโดยการเติมแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และ แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ในสัดส่วนที่เหมาะสมคือ สัดส่วนระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียมเป็น 3:1 (ณัฐพล แก้วละเอียด และบุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2553) และอาจจะเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ผ่านทางน้ำโดยตรง โดยคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) กุ้งจะนำไปใช้ในการสร้างเปลือก และเป็นแร่ธาตุช่วยเพิ่มระดับอัลคาลินิตี้ ช่วยควบคุม pH ของระบบไม่ให้เปลี่ยนแปลงไปมาก

ตารางที่ 2.1 ความสำคัญของแร่ธาตุหลักจำเป็นที่ส่งผลต่อการเติบโตของกุ้งก้ามกราม และสัดส่วนการเติมแร่ธาตุหลักจำเป็นสำหรับการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม
(ดัดแปลงจากบุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ (2551); Boyd, C. and Zimmerman S. (2000); Deshimaru *et al.* (1978); Roy, L.A. *et al*. (2010))

แร่ธาตุหลักจำเป็น	ความสำคัญ	สัดส่วนแร่ธาตุหลักจำเป็นที่แนะนำ
แคลเซียม (Calcium)	เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเปลือก (exoskeleton) เลือดและของเหลวในร่างกาย มีส่วนช่วยในการควบคุมระดับ pH การพัฒนาของตัวอ่อนนับตั้งแต่ปฏิสนธิ ช่วยในการทำงานของเอนไซม์และรักษาสมดุลน้ำภายในร่างกาย ถ้ามีปริมาณไม่เพียงพอจะส่งผลให้กุ้งลอกคราบผิดปกติ ลอกคราบแต่เปลือกแข็งช้า หรือเปลือกนิ่มหลังการลอกคราบ	Ca:Mg = 1:3
แมกนีเซียม (Magnesium)	เป็นส่วนประกอบของเลือดและของเหลว มีส่วนช่วยในการทำงานของระบบประสาท เป็นโครงสร้างเปลือก ช่วยควบคุมอัลคาลินิตี้ และช่วยในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ รักษาสมดุลน้ำภายใน และช่วยในการเผาผลาญอาหาร ถ้ามีปริมาณไม่เพียงพอจะทำให้กุ้งลอกคราบแล้วแข็งตัวช้า หรือลอกคราบไม่ผ่านแล้วตาย	Mg:Ca = 3:1
โพแทสเซียม (Potassium)	ช่วยในการรักษาสมดุลกรดด่าง และช่วยในการทำงานของระบบประสาทโดยมีส่วนร่วมบริเวณศักย์เยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยในการรักษาสมดุลน้ำภายในร่างกาย และช่วยในการดูดซึมกรดอะมิโน ถ้ามีปริมาณไม่เพียงพอจะทำให้กุ้งเจริญเติบโตช้าและสูญเสียน้ำหนักตัว	K:Na = 1:28
โซเดียม (Sodium)	เป็นส่วนประกอบของระบบที่ทำหน้าที่รักษาสมดุลน้ำภายในร่างกาย รักษาระดับ pH ในเลือด ถ้ามีปริมาณไม่เพียงพอจะส่งผลให้กุ้งโตช้า ไม่กินอาหาร ย่อยโปรตีนได้ต่ำ และส่งผลต่อการทำงานของระบบประสาท	Na:K = 28:1

2.4 วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

2.4.1 วิธีวิเคราะห์อัลคาลินิตี้

อัลคาลินิตี้ (Alkalinity) คือ ความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ของน้ำ (Buffering capacity) ดังนั้นหลักการวัดค่าอัลคาลินิตี้ จึงเป็นการวัดความสามารถในการสะเทินกรดหรือด่าง เพื่อควบคุม pH ให้เสถียร (Stable) โดยจะพบว่าน้ำที่มีค่าอัลคาลินิตี้สูงจะมีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ที่สูงกว่าน้ำที่มีค่าอัลคาลินิตี้

ต่ำกว่า โดยค่าอัลคาลินิตี้ของน้ำจะมีค่าสูงหรือต่ำขึ้นอยู่กับปริมาณไบคาร์บอเนต (HCO_3^-), คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) ที่ละลายอยู่ในน้ำ

น้ำทะเลจะมีค่าอัลคาลินิตี้สูงกว่าน้ำจืด เนื่องจากน้ำทะเลมีเกลือละลายอยู่มาก รวมถึงมีแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ละลายอยู่สูง ทำให้น้ำทะเลสามารถควบคุมสมดุลของระบบคาร์บอเนต (Carbonate system) และทำให้น้ำทะเลมีสภาพเป็นบัฟเฟอร์ที่มากกว่าน้ำจืด

หลักการ

จากนิยาม ค่าอัลคาลินิตี้ คือ ปริมาณไฮโดรเจนไอออนที่ต้องใช้ไปในการสะเทินด่างที่เกิดขึ้นจากการแตกตัวของกรดอ่อนในน้ำ 1 กิโลกรัม (Grasshoff *et al*., 1999) ดังนั้นหลักในการวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้จึงอาศัยการไทเทรตด้วยกรดอ่อน ซึ่งนิยมใช้ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เพื่อสะเทินด่างและหาปริมาณไฮโดรเนียมไอออนที่แตกตัวต่อปริมาณน้ำตัวอย่าง ซึ่งในการวิเคราะห์นี้ต้องทราบความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดที่นำมาสะเทิน รวมถึงปริมาณกรดที่ใช้ เพื่อนำไปคำนวณ

สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้ นับว่ามีความสำคัญมาก เนื่องจากต้องระมัดระวังการปนเปื้อนของกรดที่มาพร้อมกับภาชนะที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง และระหว่างทำการเก็บตัวอย่างก็ต้องระวังไม่ให้เกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ขึ้น ดังนั้นการเก็บตัวอย่างที่ดี จึงต้องเลือกใช้ภาชนะที่สะอาด ปราศจากการปนเปื้อน และทำการเก็บตัวอย่างด้วยความระมัดระวัง และเก็บให้เต็มภาชนะเพื่อป้องกันการละลายของแก๊สเพิ่มเติมลงไปในขวดเก็บตัวอย่าง ทำการกรองน้ำและวิเคราะห์ทันที หรือถ้าไม่สามารถทำได้ให้เก็บในที่มืดและเย็น และควรรีบทำการวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง

2.4.2 วิธีวิเคราะห์แร่ธาตุหลัก

การวิเคราะห์แร่ธาตุหลักในน้ำสามารถวิเคราะห์ปริมาณธาตุจากการคายพลังงาน (แสง) ที่ความยาวคลื่นที่จำเพาะของอะตอม หรือไอออนของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ หลังถูกกระตุ้นด้วยพลังงานสูง ซึ่งเป็นเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) โดยเครื่องมือที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ธาตุในน้ำทะเล ได้แก่ เครื่อง Flame – Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS) และเครื่อง Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP - OES) สำหรับ เครื่อง FAAS นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์แร่ธาตุที่มีความเข้มข้นในน้ำสูง เนื่องจากขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่ค่อนข้างสูง (high detection limit and low sensitivity) แต่สามารถวิเคราะห์ได้เร็ว ไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง และมีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ต่ำ สำหรับ ICP - OES เป็นเครื่องมือที่มีขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่ต่ำ (low detection limit and high sensitivity) และสามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุที่มีความเข้มข้นต่ำได้ โดยสามารถทำการวิเคราะห์หาแร่ธาตุหลายตัวได้ในคราวเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ในการวิเคราะห์แร่ธาตุหลักในน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นสูง จำเป็นที่จะต้องมีการเจือจางตัวอย่างให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อเครื่องตรวจจับสัญญาณ สำหรับการศึกษาครั้งนี้จะใช้เครื่อง ICP - OES ในการวิเคราะห์ธาตุหลักในน้ำจากการทดลองเลี้ยง

หลักการ

เครื่อง ICP - OES ใช้หลักการวัดการคายแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะตัวของอะตอมหรือไอออนของธาตุที่เฉพาะกับความยาวคลื่น ประกอบด้วย เครื่องกำเนิดพลาสมาที่ให้แหล่งกำเนิดพลังงานความร้อนสูง โดยที่พลังงานสูงกว่า 10,000 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้อะตอมของธาตุต่างๆเกิดการเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้น (Ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (Exited state) การที่อะตอมของธาตุอยู่ในสถานะกระตุ้นนั้น ความเสถียรจะต่ำ อะตอมจึงพยายามลดระดับพลังงานมาสู่สถานะพื้นดังเดิม ซึ่งเป็นสภาวะที่เสถียร ในกระบวนการนี้เองที่อะตอม หรือไอออนของธาตุจะมีการคายพลังงานออกมา (Emission) ซึ่งธาตุแต่ละตัวจะมีความยาวคลื่นของพลังงานที่ปล่อยออกมาที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว ทำให้สามารถแยกแยะธาตุแต่ละตัวออกจากกัน โดยใช้เครื่องแยกแสงที่มีประสิทธิภาพสูงแยกแสงจำเพาะความยาวคลื่นของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ได้ ในส่วนความเข้มข้นของการคายแสง (Intensity) จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของแร่ธาตุนั้นในสารละลายตัวอย่าง (แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม, 2554) ทั้งนี้การวิเคราะห์เชิงปริมาณสำหรับธาตุต่างๆ (Quantitative analysis) จำเป็นต้องมีการทำ Standard solution ซึ่งก็คือการเตรียมสารละลายที่เรานั้นทราบความเข้มข้นที่แน่นอน เพื่อใช้เปรียบเทียบกับสารละลายตัวอย่าง

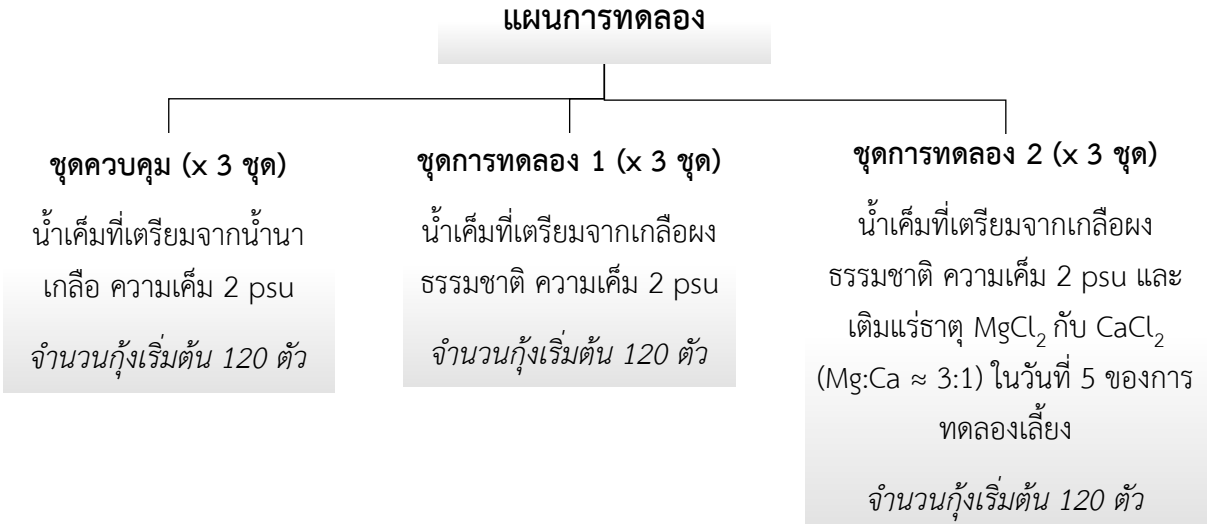
บทที่ 3
วิธีการศึกษา

ศึกษาค่าอัลคาลินิตี้และปริมาณแร่ธาตุหลักในน้ำความเค็มต่ำที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) เพื่อทราบการเปลี่ยนแปลงของค่าอัลคาลินิตี้และปริมาณแร่ธาตุหลัก ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ในน้ำความเค็มต่ำที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้ง

3.1 แผนการทดลอง

ยื่นโครงร่างวิจัย ฯ ขอใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ต่อคณะกรรมการ คกส. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองมี 3 ซ้ำ นำลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) มาทดลองเลี้ยงในชุดทดลองตามแผนในรูปที่ 3.1 ดังนี้



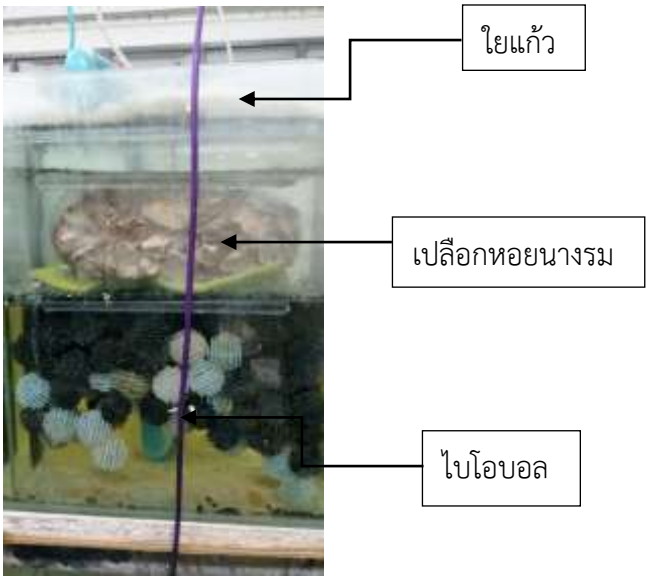
รูปที่ 3.1 แผนการทดลองเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในน้ำความเค็มต่ำ

3.2 การเตรียมชุดทดลอง

3.2.1 การเตรียมตู้ทดลอง

ตู้ทดลองที่ใช้ในการอนุบาลลูกกุ้งมีขนาด 36 x 18 x 18 นิ้ว และใช้ปริมาตรน้ำเลี้ยงประมาณ 100 ลิตรต่อตู้ (รูปที่ 3.2) และมีระบบกรอง (รูปที่ 3.3) สำหรับการบำบัดน้ำที่ใช้หมุนเวียนภายในตู้ซึ่งประกอบด้วย ไบโอบอล ใช้ในการบำบัดแอมโมเนียในน้ำโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแอมโมเนียให้กลายเป็น ไนไตรท์และไนเตรท ตามลำดับ สำหรับใยแก้วใช้เพื่อกรองเศษตะกอน และเปลือกหอยนางรม ใช้สำหรับดักจับตะกอนและควบคุมระดับอัลคาลินิตี้ของน้ำ ในแต่ละตู้มีการใส่หัวทรายเพิ่มออกซิเจน 1 หัว นอกจากนี้ยังมีผ้ามุ้งไนลอนสำหรับให้ลูกกุ้งได้ยึดเกาะ และใช้ติดตั้งระหว่างชุดกรองเพื่อป้องกันลูกกุ้งถูกดึงเข้าไปติดในชุดกรอง ทำการทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามเป็นระยะเวลา 30 วัน ที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.2 ตู้ทดลองสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งในการวิจัย

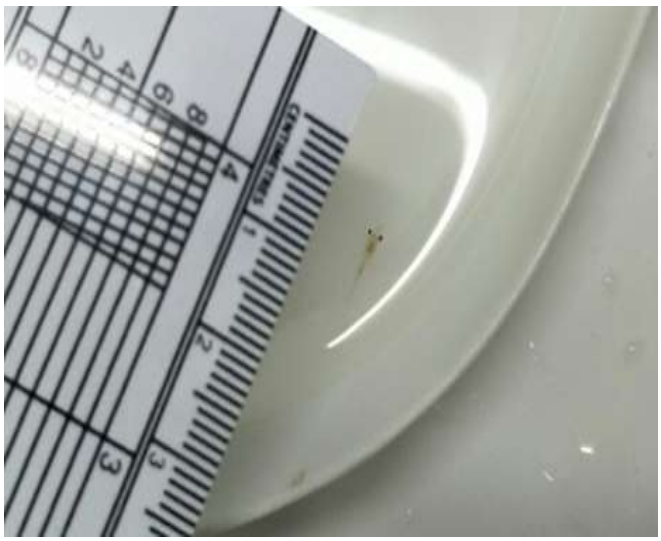


รูปที่ 3.3 ระบบกรองเพื่อบำบัดน้ำ

3.2.2 การเตรียมลูกกุ้ง

นำลูกกุ้งก้ามกรามจากลูกกุ้งกอล์ฟฟาร์ม จังหวัดฉะเชิงเทรา ระยะโพสลาวาร์ (PL2) ขนาดความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร มาทำการปรับสภาพก่อนการทดลองเลี้ยง (acclimatization) ในถังพักน้ำความเค็มต่ำ (ความเค็ม 2 psu) เป็นเวลา 5 - 7 วัน ก่อนการทดลองเลี้ยง เพื่อเป็นการลดความเครียดที่อาจเกิดขึ้นและกระทบต่อผลการทดลอง โดยให้อาหารเกล็ดสำเร็จรูปเพื่อให้ลูกกุ้งก้ามกรามคุ้นชินกับอาหาร และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 % วันเว้นวันเพื่อลดปริมาณของเสียที่เกิดขึ้นในระบบ และวางหัวทรายเพื่อให้อากาศ ระหว่างเลี้ยงอาศัยอุณหภูมิตามธรรมชาติ

รูปที่ 3.4 ถังปรับสภาพลูกกุ้งก่อนการทดลอง



รูปที่ 3.5 ขนาดลูกกุ้งก้ามกราม ระยะโพสลาร์วา 7 (0.5 เซนติเมตร) ที่ใช้สำหรับการทดลอง

3.2.3 การเตรียมน้ำ

การเตรียมน้ำความเค็มต่ำสำหรับการทดลอง แบ่งเป็น การเตรียมน้ำสำหรับชุดควบคุม โดยใช้น้ำจากนาเกลือ ที่มีความเค็ม 33.5 psu มากรองด้วยถุงกรอง แล้วนำน้ำไปเจือจางให้มีความเค็ม 2 psu ด้วยน้ำประปาที่ได้ทำการพักไว้และให้อากาศตลอด 7 วัน

สำหรับการเตรียมน้ำความเค็มต่ำในชุดการทดลอง 1 และ 2 เตรียมจากเกลือทะเลผงธรรมชาติ ซึ่งเป็นผงเกลือที่เตรียมจากน้ำทะเลธรรมชาติ จากโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่างตามพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี (รูปที่ 3.6) เตรียมโดยใช้เกลือทะเลผงธรรมชาติ 6 กิโลกรัม ละลายในน้ำประปา 200 ลิตร ที่ได้ทำการพักและให้อากาศไว้แล้ว 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเจือจางให้มีความเค็ม 2 psu

รูปที่ 3.6 เกลือทะเลผงธรรมชาติ จากโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่างตามพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี

3.2.4 การเสริมแร่ธาตุ

ในการเสริมแร่ธาตุสำหรับการทดลองในครั้งนี้ จะเติมทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ โซเดียม แมกนีเซียม และแคลเซียม โดยเติมในรูปของสารประกอบโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ตามลำดับ โดยการเติมสารประกอบโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ทำการเติมในทุกชุดทดลอง เพื่อปรับระดับอัลคาลินิตี้ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม สำหรับการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในการทดลองนี้ใช้การประมาณและตรวจวัดด้วย Test Kit โดยชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนตด้วยเครื่องชั่งหยาบ หลังจากนั้นนำไปใส่ภาชนะแล้วเติมน้ำประปาที่ได้มีการพักไว้แล้ว ใช้ออกซิเจนตีจนกว่าโซเดียมไบคาร์บอเนตจะละลายหมด จากนั้นค่อยๆเติมสารละลายลงในชุดทดลอง

สำหรับการเติมสารประกอบแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และ สารประกอบแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ใช้การคำนวณความเข้มข้นแร่ธาตุหลักจำเป็นที่เสริมในการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามความเค็มต่ำ โดยดัดแปลงมาจาก ณัฐพล แก้วละเอียด และ บุญรัตน์ ประทุมชาติ (2553) ดังตารางที่ 3.1 แล้วนำมาหาปริมาณการเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในน้ำสำหรับชุดการทดลอง 2 และในการทดลองครั้งนี้เติมแร่ธาตุหลักในรูปของสารประกอบแมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และสารประกอบแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ในปริมาณ 2.2 และ 0.19 g/L ตามลำดับ ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมน้ำทดลองเลี้ยงของชุดการทดลอง 2 กล่าวคือ เตรียมน้ำเลี้ยงจากเกลือทะเลผงก่อน แล้วชั่งน้ำหนักสารประกอบแมกนีเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ที่คำนวณได้ด้วยเครื่องชั่งหยาบ นำไปละลายในน้ำประปา เช่นเดียวกับการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต และละลายลงในน้ำเลี้ยงอีกที ทั้งนี้สารประกอบโซเดียมไบคาร์บอเนต แมกนีเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในน้ำทดลองเลี้ยงเป็นชนิดที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ (Commercial grade) ทำให้เมื่อละลายน้ำแล้วมีคราบตะกอนสีขาว จึงจำเป็นต้องมีการกรองน้ำเอาเฉพาะส่วนใสมาใช้ในการเลี้ยงและอนุบาลลูกกุ้งในการทดลอง

ตารางที่ 3.1 ความเข้มข้นและสัดส่วนของแร่ธาตุหลักจำเป็นที่เสริมในน้ำเลี้ยงกุ้งก้ามกรามความเค็มต่ำ (ดัดแปลงจาก ณัฐพล แก้วละเอียด และ บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2553)

สัดส่วนแร่ธาตุหลักจำเป็นในน้ำเลี้ยงลูกกุ้ง	**ความเข้มข้น (mg/L) (สัดส่วนแร่ธาตุหลัก)**	
	ในน้ำเลี้ยง (ความเค็ม 2 psu)	**ในน้ำเลี้ยงที่เสริมแร่ธาตุแล้ว**
แมกนีเซียม : แคลเซียม	40:30 (1.33:1)	300:100 (3:1)

3.3 วิธีการทดลองเลี้ยง

นำลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) ลงเลี้ยงที่ความหนาแน่น 360 ตัว/ตารางเมตร (สุรังษี ทัพพะรังสี และคณะ, 2556) หรือ 120 ตัวต่อ 1 ตู้ทดลอง ให้อาหารเกล็ดสำเร็จรูป วันละ 4 เวลา (8.00, 12.00, 16.00, และ 20.00 น.) และให้อากาศตลอดระยะเวลาการทดลอง 30 วัน โดยดูดตะกอนช่วงเย็นทุกวัน

ระหว่างทำการเลี้ยงมีการเติมน้ำเพิ่มเติมเพื่อชดเชยน้ำที่สูญเสียไปจากการเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 12 และ 22 ของการทดลองเลี้ยง โดยใช้น้ำที่มีความเค็มและการเตรียมน้ำตั้งต้นของแต่ละชุดการทดลองในการเติมน้ำ

3.4 การเก็บตัวอย่าง และข้อมูลชุดทดลอง

เก็บตัวอย่างน้ำทุกวันในช่วง 5 วันแรกของการทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์อัลคาลินิตี้ หลังจากนั้นเก็บทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง โดยใช้ปริมาตรน้ำ 60 mL ต่อ 1 ตู้การทดลอง โดยเก็บตัวอย่างน้ำด้วยขวดพลาสติก และเลือกจุดเก็บที่ใกล้กับบริเวณที่ออกซิเจนตีขึ้นมา แต่ต้องระวังไม่ให้ฟองอากาศเข้าไป

ภายในขวด ในขณะที่การเก็บน้ำเพื่อนำไปวิเคราะห์แร่ธาตุหลักจะทำการเก็บทุกวัน โดยเก็บรูปแบบเดียวกับการเก็บน้ำเพื่อวิเคระห์อัลคาลินิตี้ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลักและค่าอัลคาลินิตี้ ที่ห้องปฏิบัติการทางเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จดบันทึกค่าคุณภาพน้ำ ได้แก่ ความเค็ม, อุณหภูมิ, ปริมาณแอมโมเนีย และไนไตรท์ ทุก ๆ 5 วัน โดยวัดค่าความเค็มและค่าอุณหภูมิด้วยเครื่อง SCT meter, วัดปริมาณแอมโมเนีย และไนไตรท์ด้วย Test kit บันทึกอัตราการรอดตาย และการเติบโตโดยวัดความยาวลำตัวของลูกกุ้งด้วยไม้โปรเจคเตอร์

3.5 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.5.1 การเก็บน้ำตัวอย่าง

นำน้ำตัวอย่างที่เก็บไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C แล้วเก็บน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองในขวดพลาสติกใหม่ นำไปแช่เย็นในตู้เย็นเพื่อรอวิเคราะห์แร่ธาตุหลัก ส่วนการวิเคราะห์อัลคาลินิตี้ จะทำการวิเคราะห์ทันทีหลังจากการกรองน้ำ

3.5.2 การวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้

ใช้วิธี Gran Potentiometric Titration (Strickland and Parsons, 1972)

<u>การหา standardize กรด 0.01 M HCl</u>

อาศัยการไทเทรตกับสารละลายที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ในที่นี้ คือ โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) โดยการชั่ง Na_2CO_3 0.05 g ด้วยเครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง หลังจากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยขวดกำหนดปริมาตร (Volumetric flask) เขย่าให้เข้ากัน แล้วปิเปตมา 20 ml นำไปไทเทรตกับ 0.01 M HCl (จุดยุติ คือจุดที่สารละลายมีค่า pH ลดเหลือ 3.7) บันทึกค่าปริมาตรกรดที่ใช้ แล้วนำไปคำนวณ

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังนี้

$$Na_2CO_3 + 2HCl \rightarrow 2NaCl + H_2CO_3$$

<u>การหาค่าอัลคาลินิตี้ของน้ำตัวอย่าง</u>

น้ำตัวอย่าง 20 ml (ผ่านการกรองแล้ว)

↓

ไทเทรตด้วย 0.01 HCl

↓

ตรวจวัดด้วย pH meter บันทึกค่าตั้งแต่ pH 4.0 – 2.9

นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว มาไทเทรตด้วย 0.01 M HCl บันทึกค่า pH และอุณหภูมิเริ่มต้น หลังจากนั้นไทเทรตจนกระทั่ง pH ของสารละลายตัวอย่างอยู่ที่ 4.0 บันทึกค่าปริมาตรกรดที่ใช้ ทำการไทเทรตและบันทึกค่าเช่นนี้ ทุก ๆ การลดลงของ pH 0.1 สิ้นสุดการไทเทรตเมื่อ pH ของสารละลายตัวอย่างอยู่ที่ 2.9 นำค่าปริมาตรกรดที่ใช้ไป กับ pH ที่เปลี่ยนแปลงไป มาพล็อตกราฟความสัมพันธ์ แล้วดึงเอาความชัน (Slope) กับจุดตัดแกน X (Intercept) มาคำนวณหาค่า V_2 และ ค่าอัลคาลนิตี้รวม (Total Alkalinity) โดยใช้สมการดังนี้

$$V_2 = -\frac{Intercept}{Slope}$$

$$\text{Total Alkalinity (T.A.)} = \frac{V2*CA}{Vs*1000}$$

C_A: ความเข้มข้นของกรด หน่วย mol/L

V_s: ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง หน่วย mL

และ หาค่าอัลคาลินิตี้ ในรูปของ แคลเซียมคาร์บอเนต

Alkalinity (mg/L as $CaCO_3$) = T.A. (meq/L) * (1 mmol $CaCO_3$ / 2 meq) *
(100.087 mg $CaCO_3$ / 1 mmol $CaCO_3$)

<u>การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์</u>

การปนเปื้อน/สูญเสีย

ตรวจเช็คความสะอาดของขวดพลาสติกเก็บตัวอย่าง บีกเกอร์ รวมถึงเครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดยล้างด้วยทีโพ หลังจากนั้นชะด้วยน้ำกลั่น แล้วตากให้แห้ง ขณะเก็บตัวอย่างระมัดระวังไม่ให้เกิดฟองแก๊ส แล้วทำการเก็บน้ำเต็มภาชนะแล้วปิดฝาให้มิดชิด ขณะกรองน้ำตัวอย่างพยายามให้เกิดฟองอากาศน้อยที่สุด แล้วรีบทำการวิเคราะห์ทันที หรือภายใน 24 ชั่วโมง

ความแม่นยำ

สำหรับการหาความเข้มข้นของ Standard 0.01 HCl นั้นจะทำการไทเทรตด้วยกัน 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย พร้อมกับค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard Error) โดยค่าคาดเคลื่อนมาตรฐานที่ดีไม่ควรมีค่าเกิน 5 % ส่วนการไทเทรตสารละลายตัวอย่าง ทำการไทเทรตอย่างน้อย 2 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ยพร้อมกับค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความถูกต้อง

ทำการสอบเทียบเครื่องมือวัด (Calibrate probe) ของ pH ทุกครั้งก่อนทำการวัด

3.5.3 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแร่ธาตุหลัก

เก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงจากชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 มาหาปริมาณแร่ธาตุหลักจำเป็นในน้ำได้แก่ โซเดียม (Na) โพแทสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) และแคลเซียม (Ca) ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry (ICP - OES) รุ่น Optima 7300 DV บริษัท Perkin Elmer ประเทศอังกฤษ (รูปที่ 3.7) ตามขั้นตอนดังนี้

รูปที่ 3.7 เครื่องวิเคราะห์แร่ธาตุหลักจำเป็นในการทดลอง (ICP - OES, Optima 7300 DV, Perkin Elmer, England)

1. กรองน้ำตัวอย่าง

- กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C
- เก็บตัวอย่างในตู้เย็น

2. การเตรียมกราฟมาตราฐาน (Mixed Standard) สำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุต่าง ๆ ด้วยเครื่อง ICP - OES

- ปิเปตสารละลายมาตรฐานของธาตุโซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม (ความเข้มข้น 1,000 mg/L) แล้วนำมาปรับปริมาตรด้วย 3 % HNO_3 (distilled) ให้มีความเข้มข้น ตั้งแต่ 0 - 4,000 µg/L

3. การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุ

- ใช้วิธีการชั่งน้ำหนัก โดยปิเปตตัวอย่างน้ำ 200 µL แล้วปรับจนได้ปริมาตร 40 mL ด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water - DI water) เพื่อเจือจางให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์โดยใช้กราฟมาตราฐาน

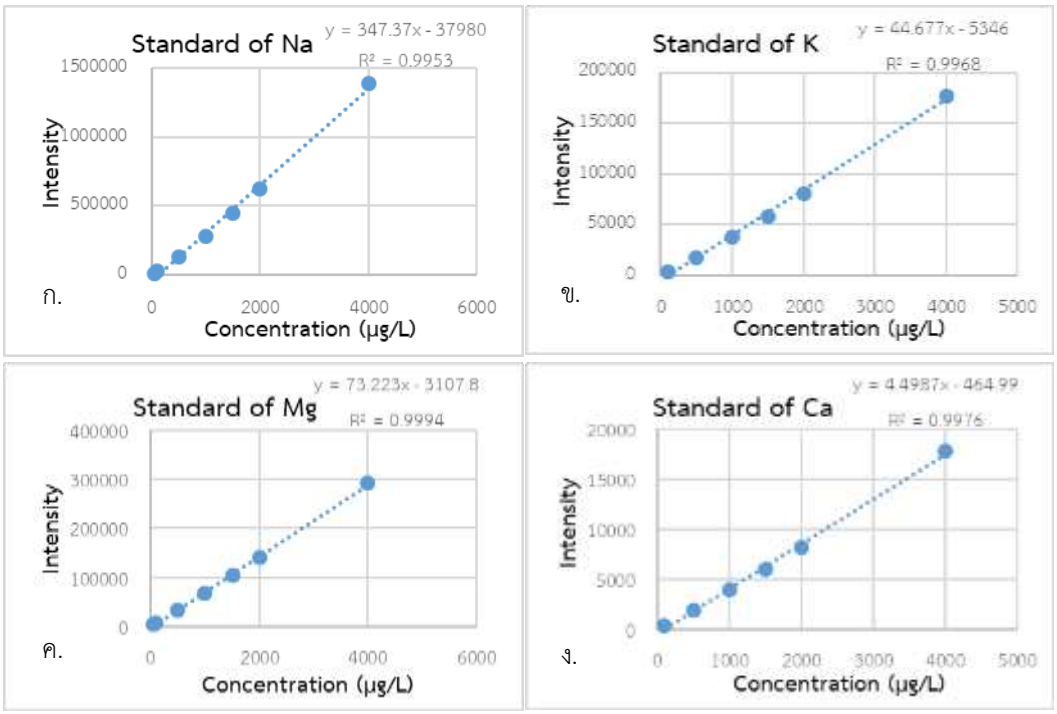
4. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแร่ธาตุหลักด้วยเครื่อง ICP - OES

- เปรียบเทียบค่า ความเข้มแสง (Intensity) ของน้ำตัวอย่างกับ กราฟมาตราฐานเพื่อหาค่าความเข้มข้น และคำนวณกลับด้วยค่าการเจือจางตัวอย่าง (Dilution factor) ซึ่งเท่ากับ 250 เท่า

รูปที่ 3.8 ขั้นตอนการวิเคราะห์แร่ธาตุหลักจำเป็น

<u>การสร้างกราฟมาตรฐานสารละลาย</u>

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานของธาตุโซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม (ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 mg/L) นำมาผสมในขวดเดียวกัน และนำมาปรับปริมาตรด้วย 3 % HNO_3ที่ผ่านการกลั่นแล้ว (distilled HNO_3) ให้มีความเข้มข้นของธาตุที่ต้องการวิเคราห์เท่ากัน โดยสารละลายผสมของสารมาตรฐาน (Mixed Stock Standard) ที่ได้นี้นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ครอบคลุมช่วงที่เราสนใจ (ตั้งแต่ 0 - 4,000 µg/L) โดยใช้วิธีการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง สุดท้ายนำไปตรวจหาค่า ความเข้มแสง (Intensity) ด้วยเครื่อง ICP - OES เพื่อหากราฟค่ามาตราฐานของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างความเข้มแสงและความเข้มข้นที่เตรียม จะได้กราฟ Linear Regression ดังรูปที่ 3.8 จากนั้นนำน้ำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มแสงและนำไปหาค่าความเข้มข้นของธาตุจากกราฟมาตราฐาน และคำนวณกลับด้วยค่าการเจือจางตัวอย่าง (Dilution factor) ซึ่งเท่ากับ 250 เท่า ให้ได้เป็นค่าความเข้มข้นของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ในหน่วย มิลลิกรัมต่อลิตรของน้ำทดลองเลี้ยง



รูปที่ 3.9 กราฟมาตรฐานของธาตุหลักในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES ของ (ก) โซเดียม(ข) โพแทสเซียม (ค) แมกนีเซียม และ (ง) แคลเซียม

<u>การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์</u>

การปนเปื้อน/สูญเสีย

- ทำการล้างขวดเก็บตัวอย่าง และภาชนะเครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสาร ด้วยสารซักล้าง น้ำกลั่น และแช่ในสารละลาย 10 % HNO_3 ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาชะด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water) จนหมดฤทธิ์ แล้วตากให้แห้งก่อนนำไปใช้
- นำน้ำตัวอย่างที่เก็บมาผ่านการกรองทันที แล้วเก็บในตู้เย็นเพื่อรอวิเคราะห์
- การเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์จะเตรียมในห้อง Clean room และสวมใส่ถุงมือ เสื้อกราว และหมวกกันเปื้อน ทุกครั้ง

ความแม่นยำ

- ในการตรวจวัดด้วยเครื่อง ICP – OES ทำการตั้งค่าการวัด 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย กับค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard Error) ซึ่งค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานที่ดีไม่ควรมีค่าเกิน 5 %

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.6.1 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

ศึกษาผลของปัจจัยการเลี้ยงทั้งทางด้านกายภาพ ได้แก่ ความเค็ม และอุณหภูมิ และค่าคุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณของเสียในรูปแอมโมเนียและไนไตรท์ โดยเปรียบเทียบกับค่าที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงลูกกุ้ง

3.6.2 การหาความสัมพันธ์ปัจจัยเลี้ยงต่ออัตราการรอดและการเจริญเติบโต

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการเติบโต (ความยาว) และอัตราการรอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามในแต่ละชุดทดลอง โดยใช้ One way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (จรัญ จันทลักษณา, 2527) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 16.0

ศึกษาความสัมพันธ์ของแร่ธาตุจำเป็น กับค่า pH และอัลคาลินิตี้ของน้ำที่ใช้เลี้ยง ที่มีผลต่อการเติบโต อัตราการรอดตาย และคำนวณการหายไปของแร่ธาตุจำเป็นชนิดต่างๆในแต่ละช่วงการเติบโต เพื่อหาจำนวนครั้งและความถี่ในการเติมแร่ธาตุเพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงลูกกุ้งระยะโพสลาร์วาในเวลาการเลี้ยง 30 วัน

บทที่ 4
ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

การเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม *M. rosenbergii* (de Man)ระยะโพสลาร์วา (PL7) โดยโครงการวิจัยดังกล่าวได้ผ่านการพิจารณาและอนุมัติการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการการควบคุมดูแลการเลี้ยง และการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Protocol Review No. 1923010)

การทดลองการเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม ประกอบด้วย ชุดทดลอง 3 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุม (น้ำเลี้ยงความเค็มต่ำที่เตรียมจากน้ำนาเกลือ) ชุดการทดลอง 1 (น้ำเลี้ยงที่เตรียมจากเกลือทะเลผง) และ ชุดการทดลอง 2 หรือ น้ำที่เตรียมจากเกลือทะเลผงและทำการเสริมแร่ธาตุ ทำการทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) เป็นเวลา 30 วัน โดยทำการตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำเบื้องต้น ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ แอมโมเนีย และไนไตรท์ทุก 5 วัน และเก็บน้ำเพื่อตรวจวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้และความเข้มข้นแร่ธาตุหลัก

4.1 ปัจจัยทางกายภาพในชุดทดลองเลี้ยง

การตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำเบื้องต้น ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ แอมโมเนีย และไนไตรท์ ทำการตรวจวัดค่าทุก 5 วัน โดยแสดงค่าความเค็ม อุณหภูมิ แอมโมเนีย และไนไตรท์ในชุดทดลองเลี้ยง ดังรูป 4.1

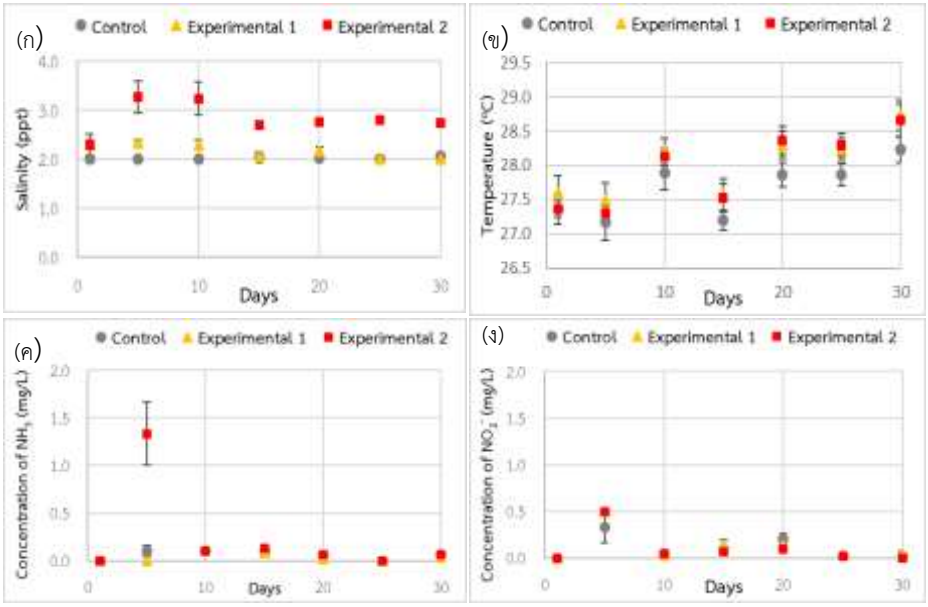
ตลอดการเลี้ยงความเค็มของน้ำในทุกชุดทดลองมีค่าค่อนข้างคงที่ โดยค่าที่วัดได้เมื่อเริ่มต้นการทดลองในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.0 psu ขณะที่ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ คือ 2.3 ± 0.1 และ 2.3 ± 0.2 psu ตามลำดับ หลังจากวันที่ 5 ของการทดลองมีการเสริมแร่ธาตุหลัก ได้แก่ แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ลงในชุดการทดลอง 2 ส่งผลให้ค่าความเค็มเพิ่มขึ้นประมาณ 1 psu (เป็นผลจากการแตกตัวของแร่ธาตุที่ให้ Cl^- ในสารละลาย) นอกจากนี้ในวันที่ 12 และ 22 ของการทดลองมีการเติมน้ำเข้าสู่ระบบ โดยใช้น้ำตั้งต้นของแต่ละชุดทดลองในการเติมให้ได้ระดับเดียวกับตอนเริ่มต้นการทดลอง (กล่าวคือ ปริมาตรน้ำตั้งต้น 100 L) ส่งผลให้ความเค็มของชุดการทดลอง 2 ลดต่ำลงอยู่ที่ประมาณ 2.7 - 2.8 psu และเริ่มคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ชุดควบคุมและชุดการทดลอง 1 ความเค็มค่อนข้างคงที่อยู่ที่ประมาณ 2.0 psu

จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความเค็มตลอดการทดลอง ถึงแม้จะไม่สามารถควบคุมความเค็มของชุดการทดลอง 2 ให้ใกล้เคียงกับความเค็มตั้งต้นได้ แต่จากการงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ลูกกุ้งก้ามกรามสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำความเค็มในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 0 - 20 psu (Chand *et al*., 2015)

ส่วนค่าอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาการเลี้ยง เนื่องจากไม่ได้มีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ โดยอุณหภูมิตลอดช่วงการเลี้ยงของทุกชุดทดลองอยู่ระหว่าง (26.9 - 29.1 °C) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ค่อนข้างเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (อุณหภูมิมาตรฐาน คือ 28 - 30 °C)

ค่าแอมโมเนียและไนไตรท์ในทุกชุดทดลองมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการเลี้ยง สาเหตุมาจากเศษอาหารที่เหลือตกค้างในระบบและของเสียที่ลูกกุ้งที่ขับถ่ายออกมา ในช่วงเริ่มต้นการทดลองไม่พบค่าแอมโมเนียในทุกชุดทดลองเช่นเดียวกับค่าไนไตรท์ แต่ในวันที่ 5 ของการทดลอง พบว่าชุดการทดลอง 2 มีค่าแอมโมเนียที่เพิ่มสูงขึ้นมาก ส่งผลให้ค่าไนไตรท์สูงขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากน้ำชั้นล่างและชั้นบนถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างทำการเสริมแร่ธาตุ หลังจากนั้นระบบสามารถควบคุมแอมโมเนียให้มีค่าไม่เกิน 0.1 mg/L ซึ่งเป็นค่าที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ (ค่ามาตรฐานแอมโมเนีย < 1.0 mg/L) เช่นเดียวกับ ค่าไนไตรท์ที่อยู่ในช่วงที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำตลอดการทดลอง (Nitrite < 1 mg/L)

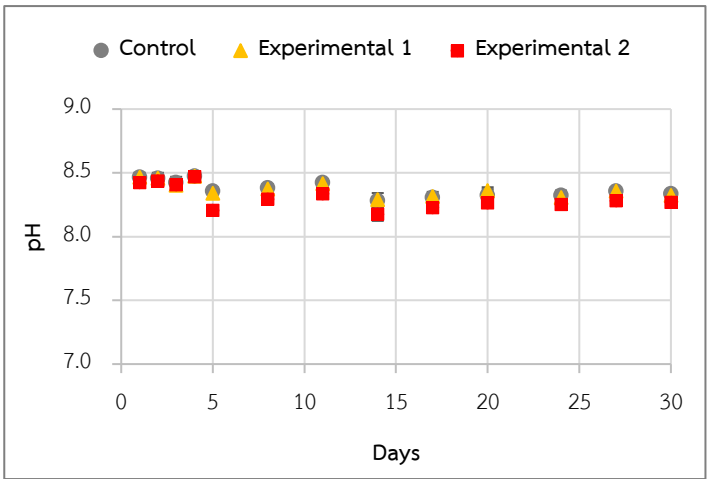
สารประกอบไนโตรเจน อันได้แก่ แอมโมเนียและไนไตรท์ เป็นสารพิษต่อกุ้งและสัตว์น้ำ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ, 2547) ซึ่งพบปริมาณของเสียทั้ง 2 รูปแบบในการทดลองครั้งนี้ อาจเป็นสาเหตุส่วนหนึ่งในการตายของลูกกุ้งที่ไม่แข็งแรง หรือทำให้ลูกกุ้งมีความแข็งแรงลดลง ทั้งนี้ในการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อหาปริมาณค่าแอมโมเนียและไนไตรท์ จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำที่ผิวหน้าบริเวณที่ออกซิเจนตีขึ้นมา แต่ในการเก็บตัวอย่างในวันที่ 5 พบว่า มีค่าแอมโมเนียและไนไตรท์สูงกว่าค่าการตรวจวัดในวันอื่น ๆ ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากในวันที่ 1 ถึงวันที่ 5 ของการทดลอง ตำแหน่งการให้ของออกซิเจนในตู้อยู่สูงจากระดับก้นตู้ประมาณ 5 เซ็นติเมตร ทำให้น้ำที่เก็บได้ เป็นน้ำที่ยังไม่ผสมกันดี หลังจากนั้นทำการปรับระดับตำแหน่งของออกซิเจนให้อยู่ติดกับระดับพื้นตู้ ทำให้ค่าแอมโมเนียและไนไตรท์ที่วัดได้มีค่าในระดับใกล้เคียงกัน



รูปที่ 4.1 ค่าคุณภาพน้ำเบื้องต้นในชุดทดลองเลี้ยง
(ก) ค่าความเค็ม (ข) ค่าอุณหภูมิ (ค) ค่าแอมโมเนีย และ (ง) ค่าไนไตรท์

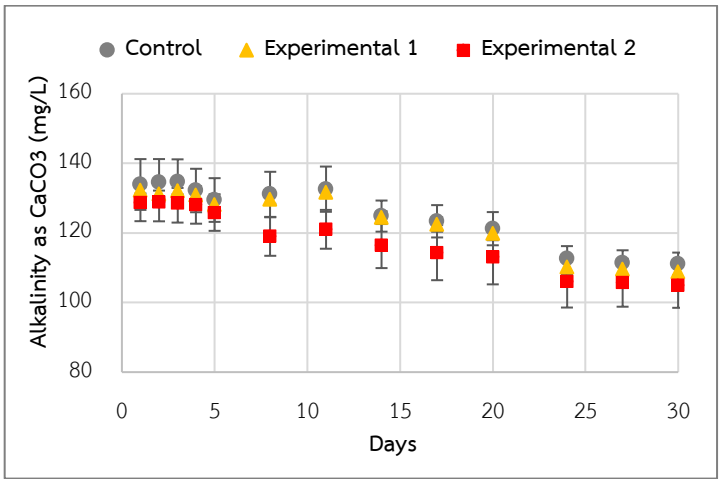
4.2 ค่า pH และอัลคาลินิตี้ในชุดทดลองเลี้ยง

ในการวัดค่า pH และวิเคราะห์ค่าอัลคาลินิตี้ ทำการตรวจวัดค่าทุกวันในช่วงแรก (วันที่ 1-5) หลังจากนั้นทำการตรวจวัดทุก ๆ 3 วัน โดยแสดงค่า pH และอัลคาลินิตี้ ในชุดทดลอง ดังรูป 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในชุดทดลองเลี้ยงระหว่างวันที่ 1 – 30 ของการทดลองเลี้ยง

แนวโน้มค่า pH ตลอดการทดลองเลี้ยงของทุกชุดทดลองมีค่าค่อนข้างคงที่ ขณะที่ค่าอัลคาลินิตี้มีค่าลดต่ำลง โดยค่า pH เริ่มต้นของชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และชุดการทดลอง 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.47 $\pm$ 0.03, 8.47 $\pm$ 0.01 และ 8.42 $\pm$ 0.03 ตามลำดับ สัมพันธ์กับค่าอัลคาลินิตี้ที่มีค่าเฉลี่ยของชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 เท่ากับ 133.9 $\pm$ 7.3, 132.2 $\pm$ 0.9 และ 128.7 $\pm$ 5.3 mg/L ตามลำดับ หลังจากนั้นระดับอัลคาลินิตี้มีค่าลดต่ำลง และลดลงอย่างมากในช่วงวันที่ 12 และ 22 ของการทดลองที่มีการเติมน้ำเข้าสู่ระบบ



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าอัลคาลินิตี้ในชุดทดลองเลี้ยงระหว่างวันที่ 1 – 30 ของการทดลองเลี้ยง

การลดลงของค่าอัลคาลินิตี้ ในช่วงที่ไม่ได้มีการเติมน้ำสัมพันธ์กับการดึงเอาไปใช้ของลูกกุ้ง โดยพบว่าลูกกุ้งจะดึงเอาแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ไปใช้ในการสร้างโครงร่างแข็งให้กับร่างกายในช่วงที่มีการลอกคราบ และเมื่อเปรียบเทียบการลดลงของค่าอัลคาลินิตี้ กับค่า pH พบว่า pH ตลอดการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง (8.07 - 8.53) ซึ่งเป็นค่าที่แนะนำสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ค่า pH มาตรฐานอยู่ระหว่าง 7.8 - 8.2) โดยถ้า pH มีค่าสูงหรือต่ำเกินไป จะส่งผลให้ลูกกุ้งเกิดภาวะเครียดอันเนื่องมาจากการปรับระดับความเข้มข้นภายในเซลล์ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ, 2547) ทำให้ภูมิคุ้มกันต่ำลง แต่โดยรวมจากการทดลอง พบว่าทุกชุดทดลองระดับ pH ค่อนข้างคงที่ ส่วนค่าอัลคาลินิตี้ตลอดการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง (105.0 – 134.7 mg/L as $CaCO_3$) ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ค่ามาตรฐานอัลคาลินิตี้ คือ 80 - 120mg/L as $CaCO_3$) จึงอาจกล่าวได้ว่า ค่าอัลคาลินิตี้ที่มีในน้ำมีปริมาณเพียงพอสำหรับควบคุม pH ให้มีค่าคงที่ เนื่องจากน้ำตั้งต้นที่ใช้ในการเตรียมน้ำเลี้ยงในทุกชุดทดลองมีค่าอัลคาลินิตี้น้อยกว่าความต้องการของสัตว์น้ำ กล่าวคือ มีค่าน้อยกว่า 80 mg/L as $CaCO_3$ ซึ่งควรจะมีค่าระหว่าง 80 – 120 mg/L as $CaCO_3$ ทำให้จำเป็นต้องมีการเสริมแร่ธาตุ โดยการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) เพิ่มเพื่อให้ได้ค่าอัลคาลินิตี้ในช่วงที่สัตว์น้ำเติบโตดี สำหรับการเติมน้ำใหม่เข้าไปในระบบทดลองเลี้ยงในวันที่ 12 และ 22 ของการเลี้ยงเป็นน้ำที่ไม่ได้มีการปรับแร่ธาตุด้วยการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ส่งผลให้ระดับอัลคาลินิตี้ในระบบทดลองเลี้ยงมีค่าลดต่ำลง แต่ยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทดลองเลี้ยง

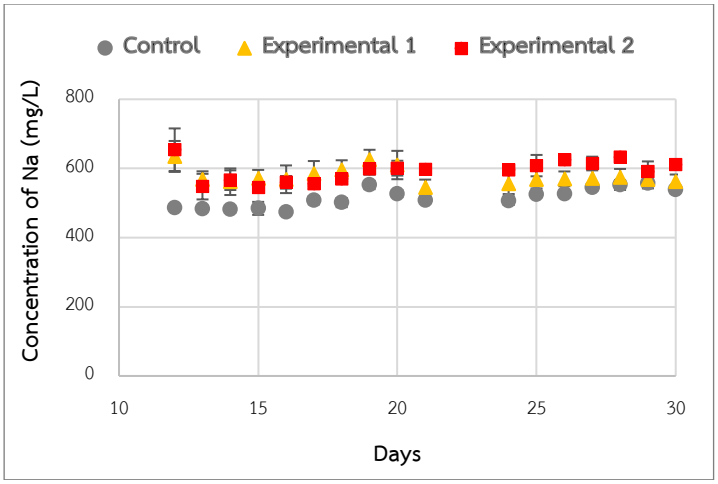
4.3 แร่ธาตุหลักจำเป็น

การตรวจวัดปริมาณแร่ธาตุหลัก ทำการเก็บน้ำเลี้ยงในชุดทดลองมาตรวจวัด โดยหลังจากเก็บน้ำเลี้ยงจะนำไปผ่านการกรอง และนำแช่เย็น เพื่อรอการนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ ด้วยเทคนิค ICP - OES เนื่องจากการปรับเทียบค่าด้วยการวิเคราะห์ผลการทดลองในช่วงวันที่ 1 - 11 กับกราฟมาตรฐานเกิดข้อผิดพลาดจึงทำให้ไม่สามารถนำค่าความเข้มข้นของแร่ธาตุหลักมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้ จึงเหลือเพียงข้อมูลของวันที่ 12 - 30 ของการทดลอง โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.3.1 ค่าความเข้มข้นของแร่ธาตุหลักในชุดทดลองเลี้ยง

แร่ธาตุหลัก โซเดียม

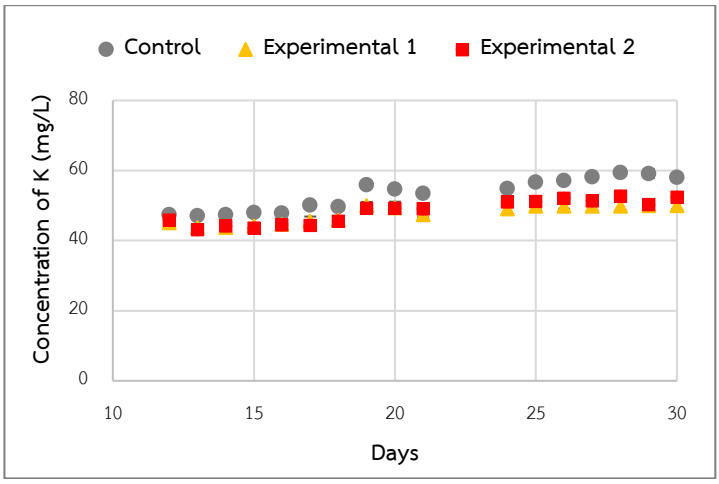
ความเข้มข้นของโซเดียม ในวันที่ 12 ของการทดลองเลี้ยง ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 486.7, 634.7 และ 654.2 mg/L ตามลำดับ โดยในช่วงวันที่ 12 - 13 ของการทดลองเลี้ยง ค่าความเข้มข้นของโซเดียมในชุดการทดลอง 1 และ 2 มีปริมาณลดลงและค่อยๆเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ก่อนที่จะคงที่ในช่วงวันที่ 24 - 30 ของการทดลองเลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 มีค่าเท่ากับ 538.6, 562.5 และ 611.2 mg/L ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยในชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเท่ากับ 515.3 $\pm$ 6.7, 578.6 $\pm$ 5.9 และ 592.6 $\pm$ 7.6 mg/L ตามลำดับ โดยแสดงค่า ดังรูป 4.4



รูปที่ 4.4การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ โซเดียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30

แร่ธาตุหลัก โพแทสเซียม

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในวันที่ 12 ของการทดลองเลี้ยง ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 มีค่าเท่ากับ 47.4, 45.1 และ 45.8 mg/L ตามลำดับ หลังจากนั้นทุกชุดทดลองค่อยๆมีปริมาณความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และเริ่มคงในช่วงวันที่ 24 - 30 ของการทดลองเลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของโพแทสเซียม ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 เท่ากับ 58.1, 50.0 และ 52.4 mg/L ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยในชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเท่ากับ 53.2 $\pm$ 1.1, 47.5 $\pm$ 0.6 และ 48.2 $\pm$ 0.8 mg/L ตามลำดับ โดยแสดงค่าดังรูป 4.5

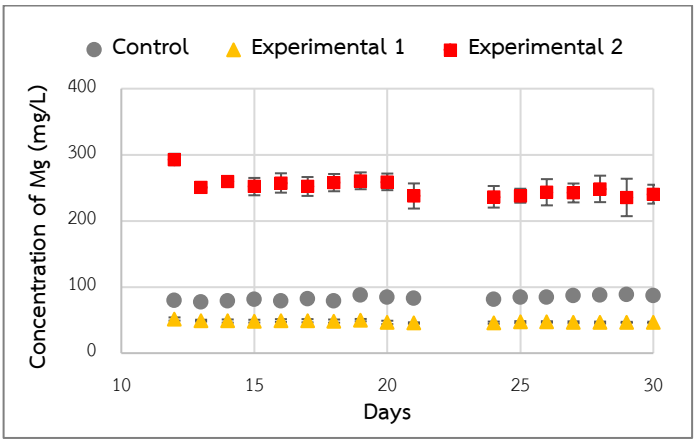


รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ โพแทสเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30

แร่ธาตุหลัก แมกนีเซียม

ความเข้มข้นของแมกนีเซียมในวันที่ 12 ของการทดลองเลี้ยง ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 79.8, 51.6 และ 292.9 mg/L ตามลำดับ หลังจากนั้นทุกชุดทดลองมีแนวโน้มค่าความเข้มข้นคงที่

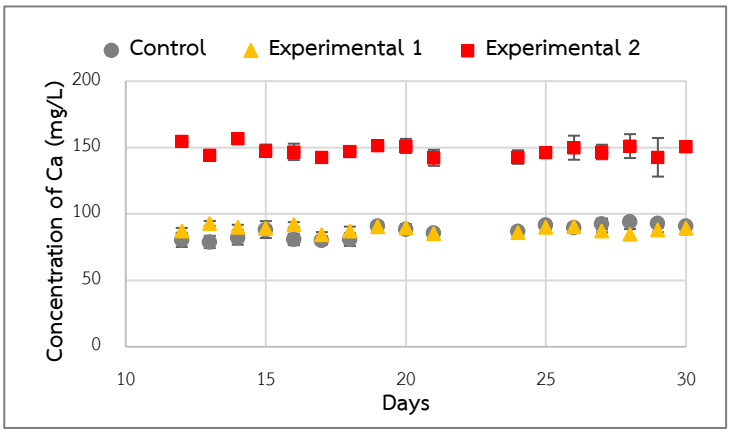
มีเพียงช่วงวันที่ 12 - 13 ของชุดการทดลอง 2 ที่มีค่าความเข้มข้นลดลง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 มีค่าเท่ากับ 86.7, 46.4 และ 240.4 mg/L ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยในชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเท่ากับ 83.0 ± 0.9, 47.8 ± 0.4 และ 250.8 ± 3.4 mg/L ตามลำดับ โดยแสดงค่า ดังรูป 4.6



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ แมกนีเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30

แร่ธาตุหลัก แคลเซียม

ความเข้มข้นของแคลเซียมในวันที่ 12 ของการทดลองเลี้ยง ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 มีค่าเท่ากับ 80.5, 87.1 และ 154.5 mg/L ตามลำดับ หลังจากนั้นทุกชุดทดลองมีแนวโน้มค่าความเข้มข้นค่อนข้างคงที่ มีเพียงช่วงวันที่ 12 - 13 ของชุดการทดลอง 2 ที่มีค่าความเข้มข้นลดลง เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยง พบว่า ความเข้มข้นของแคลเซียมในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ2 มีค่าเท่ากับ 90.7, 89.1 และ 150.9 mg/L ตามลำดับ โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยในชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเท่ากับ 86.8 ± 1.3, 88.5 ± 0.6 และ 147.9 ± 1.0 mg/L ตามลำดับ โดยแสดงค่าดังรูป 4.7



รูปที่ 4.7การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม (mg/L) ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30

ในการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมและโพแทสเซียมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังการทดลองเลี้ยง ซึ่งอาจจะเป็นผลจาก 1) ขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง กล่าวคือ การเก็บน้ำตัวอย่างมีการทิ้งไว้โดยไม่รีบผ่านการกรอง จากความสามารถของตะกอนในการดูดซับแร่ธาตุ อาจจะส่งผลให้การเก็บน้ำในวันที่ทิ้งน้ำตัวอย่างไว้โดยไม่ได้กรองมีค่าความเข้มข้นของแร่ธาตุที่แตกต่างไปจากตัวอย่างน้ำที่เก็บและกรองทันที และ 2) จากการเติมน้ำใหม่เข้าไปในชุดทดลองเลี้ยงเพื่อทดแทนน้ำที่เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ ในขณะที่ความเข้มข้นของแมกนีเซียมและแคลเซียมไม่เห็นแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างโซเดียมและโพแทสเซียม แต่พบว่าหลังจากวันที่ 22 ที่มีการเติมน้ำทดแทนลงไปในชุดทดลอง ความเข้มข้นของทั้ง 2 ธาตุค่อนข้างคงที่

จากการทดลองเลี้ยง พบการหายไปของแร่ธาตุที่ไม่นับรวมช่วงที่มีการเติมน้ำ เป็นผลจากการดึงไปใช้ของลูกกุ้ง โดยเฉพาะแร่ธาตุแมกนีเซียมและแคลเซียมที่ลูกกุ้งใช้สำหรับสร้างโครงร่างแข็งในช่วงที่มีการลอกคราบ (Hangsapreurke *et al*., 2009) ขณะที่แร่ธาตุโซเดียมและโพแทสเซียมยังไม่ค่อยเห็นแนวโน้มการลดลง อาจเป็นไปได้ว่าลูกกุ้งมีการดึงไปใช้ แต่ไม่มากเมื่อเทียบกับธาตุแมกนีเซียมและแคลเซียม ประกอบกับธาตุทั้งสอง มีความเข้มข้นในน้ำเลี้ยงสูงทำให้ไม่ค่อยเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน จึงจำเป็นต้องดูในรูปแบบสัดส่วนคู่แร่ธาตุจำเป็น

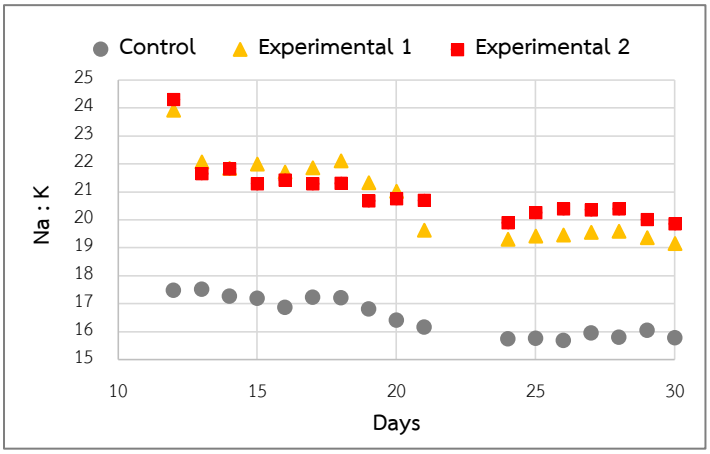
4.3.2 สัดส่วนของแร่ธาตุหลักจำเป็น

สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม

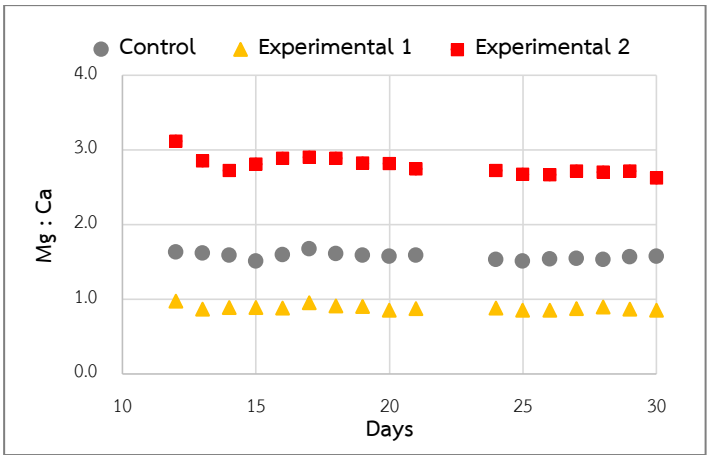
เมื่อนำค่าความเข้มข้นของโซเดียมและโพแทสเซียม โดยใช้ค่าความเข้มข้นในหน่วย $moleL^{-1}$ มาหาค่าสัดส่วน แสดงในรูปที่ 4.8 พบว่า ค่าสัดส่วนระหว่างธาตุโซเดียมและโพแทสเซียม มีแนวโน้มลดลงตามลำดับตั้งแต่วันที่ 12 - 21 ของการทดลอง และมีค่าค่อนข้างคงในระหว่างวันที่ 24 - 30 โดยสัดส่วนโซเดียมและโพแทสเซียมในวันที่ 12 ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 17.5, 23.9 และ 24.3 ตามลำดับ และพบว่าในช่วงระหว่างวันที่ 12 และ 13 สัดส่วนโซเดียมและโพแทสเซียม มีค่าลดลงมากในชุดการทดลอง 1 และ 2 แต่มีค่าคงที่ในชุดควบคุมซึ่งเป็นผลจากการเติมน้ำในวันที่ 12 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยง พบว่าสัดส่วนโซเดียมและโพแทสเซียม มีค่าเท่ากับ 15.8, 19.2 และ 19.9 ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตามลำดับ ทั้งนี้คู่สัดส่วนโซเดียมและโพแทสเซียมในชุดควบคุมมีค่าต่ำกว่าชุดการทดลอง 1 และ 2 เนื่องจากความเข้มข้นของเริ่มต้นของโซเดียมต่ำกว่าในชุดทดลอง ในขณะที่โพแทสเซียมสูงกว่า

สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียม

เมื่อนำค่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมและแคลเซียม โดยใช้ค่าความเข้มข้นในหน่วย $moleL^{-1}$ มาหาค่าสัดส่วน แสดงในรูปที่ 4.9 พบว่า ค่าสัดส่วนระหว่างธาตุแมกนีเซียมและแคลเซียม มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลองในทุกชุดทดลอง โดยสัดส่วนแมกนีเซียมและแคลเซียม ในวันที่ 12 ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าเท่ากับ 1.6, 1.0 และ 3.1 ตามลำดับ มีเพียงช่วงวันที่ 12 - 14 ของชุดการทดลอง 2 ที่สัดส่วนมีค่าลดลง ซึ่งเป็นผลจากการเติมน้ำในวันที่ 12 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยง พบว่าสัดส่วนแมกนีเซียมและแคลเซียม มีค่าเท่ากับ 1.6, 0.9 และ 2.6 ในชุดควบคุม ชุดการทดลอง 1 และ 2 ตามลำดับ



รูปที่ 4.8 สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30



รูปที่ 4.9 สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียม ในชุดทดลองตั้งแต่วันที่ 12 - 30

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าแนวโน้มการลดลงของสัดส่วนแร่ธาตุระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม ที่ค่อนข้างชัดเจนนี้ ซึ่งสะท้อนให้เห็นการหายไปของแร่ธาตุโซเดียมที่ลูกกุ้งมีการดึงไปใช้มากกว่าโพแทสเซียม และเมื่อเปรียบเทียบคู่สัดส่วนของทุกชุดทดลอง กับค่าสัดส่วนที่มีการแนะนำ พบว่าชุดการทดลอง 1 และ 2 มีค่าใกล้เคียงกับค่าแนะนำมากกว่าชุดควบคุม (โดยสัดส่วนที่แนะนำระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม คือ 28:1) อย่างไรก็ตามในการเสริมแร่ธาตุระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียมในทุกชุดทดลองยังไม่สามารถปรับให้มีสัดส่วนแร่ธาตุตามที่แนะนำได้ จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้อัตราการรอดของลูกกุ้งต่ำลง ทั้งนี้จึงควรมีการเตรียมระบบที่ทำให้ค่าสัดส่วนโซเดียมและโพแทสเซียมมีค่าใกล้เคียงกับที่ได้มีการแนะนำไว้ ในครั้งต่อ ๆ ไป เนื่องจากลูกกุ้งต้องใช้แร่ธาตุโซเดียม และโพแทสเซียมในการรักษาสมดุลน้ำภายในร่างกาย รวมถึงควบคุม pH ในเลือดให้มีค่าเหมาะสม

ในขณะที่คู่สัดส่วนแร่ธาตุระหว่างแมกนีเซียมและแคลเซียม ที่มีค่าลดลงในช่วงแรกของการทดลอง (ระหว่างวันที่ 12 ถึง 14) ซึ่งสะท้อนให้เห็นการนำแร่ธาตุแมกนีเซียมไปใช้มากกว่าแคลเซียมในช่วงแรก และ

หลังจากนั้นค่าสัดส่วนที่พบมีค่าค่อนข้างคงที่สะท้อนให้เห็นการหายไปของแร่ธาตุในปริมาณที่เท่าๆกัน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าคู่สัดส่วนแมกนีเซียมละแคลเซียมที่เหมาะสมต่อการอนุบาลลูกกุ้ง คือ สัดส่วนเดียวกับที่พบในน้ำทะเลธรรมชาติ กล่าวคือสัดส่วน 3:1 (ณัฐพล แก้วละเอียด และ บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2553) ซึ่งจะพบว่าชุดที่มีการเสริมแร่ธาตุ (ชุดการทดลอง 2) มีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับที่มีการแนะนำมากที่สุด ถัดจากนั้นคือชุดที่ใช้น้ำทะเลจากนาเกลือ (ชุดควบคุม) ส่วนชุดที่ใช้น้ำทะเลผงธรรมชาติที่ไม่ได้มีการเสริมแร่ธาตุ (ชุดการทดลอง 1) มีสัดส่วนต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากค่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมในชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าในชุดการทดลอง 2 ในขณะที่มีค่าความเข้มข้นของแคลเซียมเท่ากัน ซึ่งอาจจะเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการลอกคราบและการเติบโตของลูกกุ้งได้ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบทั้งความเข้มข้นและคู่สัดส่วนแมกนีเซียมและแคลเซียมในชุดการทดลองทั้ง 2 พบว่าการนำเกลือผงธรรมชาติมาใช้เพื่อเป็นน้ำเลี้ยงยังมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการเสริมแร่ธาตุหลัก

4.4 อัตราการรอดตายและ การเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม

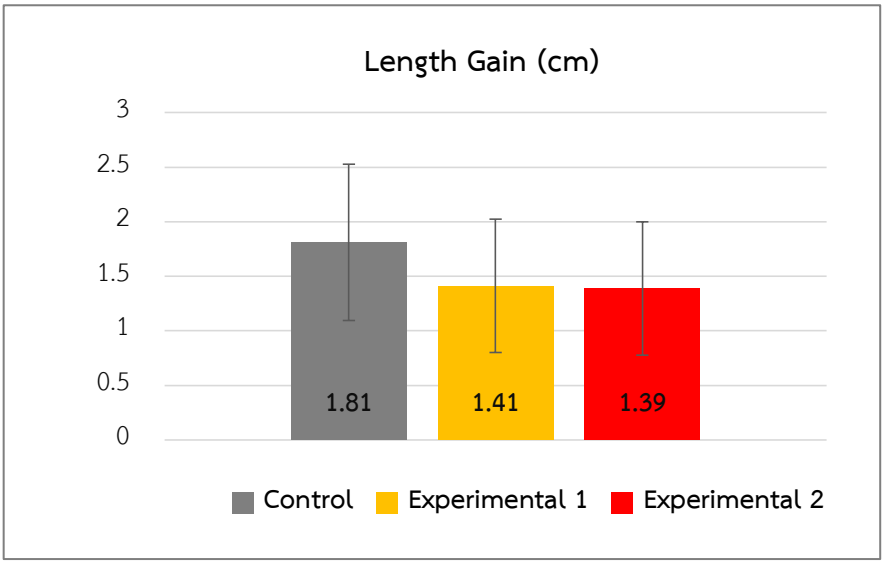
จากการทดลองเลี้ยงพบว่า อัตราการรอดตายของชุดการทดลอง 1 มีค่าสูงสุดคิดเป็นร้อยละ17.5 รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 2 และชุดควบคุม มีค่าร้อยละ 16.7 และ 8.9 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งอัตรารอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามค่อนข้างน้อย ทั้งนี้จากการสังเกตขณะทดลองเลี้ยงพบว่า ขนาดอาหารที่ให้ไม่เหมาะสมทำให้ลูกกุ้งจับกินไม่ได้ ลูกกุ้งมีการกินกันเอง ดังนั้นการรอดตายอาจไม่ได้มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในชุดการทดลองเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 4.1 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมและชุดการทดลอง

ชุดทดลอง	จำนวนลูกกุ้งในตู้เลี้ยง				อัตราการรอด (%)
	เริ่มต้น	สิ้นสุดการเลี้ยง			
		ตู้ 1	ตู้2	ตู้ 3	
ชุดควบคุม	120	13	12	7	8.9 $\pm$ 1.9
ชุดทดลอง 1	120	17	14	32	17.5 $\pm$ 5.6
ชุดทดลอง 2	120	22	12	26	16.7 $\pm$ 4.2

สำหรับการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามจากข้อมูลความยาวลำตัวที่เพิ่มขึ้นของลูกกุ้งก้ามกราม พบว่าชุดควบคุมลูกกุ้งมีความยาวที่เพิ่มขึ้นสูงสุด 1.81 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ชุดการทดลอง 1 และ 2 มีความยาวเพิ่มขึ้นเป็น 1.41 และ 1.39 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวที่เพิ่มขึ้นของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมมีค่ามากกว่าชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ความยาวที่เพิ่มขึ้นในชุดการทดลองทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ในการวางแผนการทดลองให้ชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแร่ธาตุหลักเพียงอย่างเดียว ขณะที่ชุดควบคุมไม่มีการเสริมแร่ธาตุแต่อย่างใด การที่ลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมมีการเจริญเติบโตดีที่สุดอาจเป็นผลมาจาก 1) ชนิดสารประกอบที่ใช้ในการเสริมแร่ธาตุที่มีเฉพาะธาตุหลักอย่างเดียว ในขณะที่ปริมาณแร่ธาตุอื่น ๆ ที่มีในน้ำเลี้ยง อาธิ แร่ธาตุรองที่พบในน้ำทะเล มีความจำเป็นต่อลูกกุ้ง อาทิเช่น ทองแดง สังกะสี แมงกานีส รวมถึงเหล็ก ซึ่งส่งผลให้ลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมมีโอกาสได้รับปริมาณแร่ธาตุต่างๆในน้ำทะเลที่เพียงพอต่อความต้องการที่จะไปใช้ในการเติบโต ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณแร่ธาตุหลักที่เกิดขึ้นในชุดการทดลอง 1 และ 2 ไม่ได้ทำให้การเติบโตของลูกกุ้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ดีการเสริมแร่ธาตุในน้ำเลี้ยงที่เตรียมจากเกลือทะเลผงธรรมชาติยังมีความจำเป็นเพื่อเพิ่มสัดส่วนแร่ธาตุและควบคุมค่าอัลคาลินิตี้ในน้ำเลี้ยง



รูปที่ 4.10 การเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมและชุดการทดลอง

บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

การทดลองการเสริมแร่ธาตุหลักจำเป็นในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม ด้วยชุดการทดลอง 3 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุม (น้ำเลี้ยงความเค็มต่ำที่เตรียมจากน้ำนาเกลือ) ชุดการทดลอง 1 (น้ำเลี้ยงที่เตรียมจากเกลือทะเลผง) และ ชุดการทดลอง 2 หรือ น้ำที่เตรียมจากเกลือทะเลผงและทำการเสริมแร่ธาตุ เพื่อทดลองเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาร์วา (PL7) จำนวน 30 วันได้ข้อสรุปดังต่อไปนี้

ปัจจัยทางคุณภาพน้ำในการเลี้ยง ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม แอมโมเนีย และไนไตรท์ในชุดทดลองเลี้ยง มีค่าที่ความเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงตลอดระยะเวลาการทดลอง สำหรับค่าอัลคาลินิตี้ที่พบในการทดลองครั้งนี้มีค่าระหว่าง 105.0 – 134.7 mg/L as $CaCO_3$ ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ส่งผลให้ระดับ pH ของน้ำเลี้ยงตลอดการเลี้ยงของทุกชุดทดลองมีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก หรือค่อนข้างคงที่ สำหรับแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นของแร่ธาตุหลักทั้ง 4 ตัว ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ตั้งแต่วันที่ 12 – 30 ของการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงที่ค่อนข้างคงที่ในทุกชุดทดลอง โดยค่าความเข้มข้นของโซเดียมและโพแทสเซียมระหว่างวันที่ 12 - 21 ของการทดลองเลี้ยงมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และคงที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง ต่างกับค่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมและแคลเซียมที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากตลอดการทดลอง แต่มีบางช่วงที่ค่าความเข้มข้นของแต่ละธาตุมีปริมาณลดลง การดึงแร่ธาตุหลักไปใช้ของลูกกุ้ง โดยเฉพาะแร่ธาตุแมกนีเซียมและแคลเซียมจะนำไปใช้ไปในช่วงที่มีการลอกคราบในขณะที่แร่ธาตุโซเดียมและโพแทสเซียมจะดึงไปใช้ตลอดเวลาในปริมาณไม่มาก ประกอบกับธาตุทั้งสอง มีความเข้มข้นในน้ำเลี้ยงสูงทำให้ไม่ค่อยเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน

และจากการเทียบเป็นคู่สัดส่วนระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียม กับ แมกนีเซียมและแคลเซียม พบว่าคู่สัดส่วนระหว่างโซเดียมและโพแทสเซียมมีแนวโน้มลดลงตามลำดับการเลี้ยง ในขณะที่ สัดส่วนแมกนีเซียมกับแคลเซียม มีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ตลอดการเลี้ยงแต่มีค่าต่ำสุดในชุดทดลอง 1 เมื่อเปรียบเทียบกับการเติบโตของลูกกุ้งก้ามกราม จากข้อมูลความยาวลำตัวที่เพิ่มขึ้นของลูกกุ้งก้ามกรามพบว่าชุดควบคุมลูกกุ้งมีความยาวที่เพิ่มขึ้นสูงสุด ทั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเสริมเฉพาะแร่ธาตุหลักยังมีความจำเป็นต่อการนำเกลือทะเลผงมาใช้ในน้ำเลี้ยงแต่อาจจะไม่เพียง และจำเป็นจะต้องมีการเสริมแร่ธาตุรองที่พบในน้ำทะเลที่ใช้เจือจางในชุดควบคุม

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาพบว่าอัตราการรอดตายของลูกกุ้งในทุกชุดทดลองมีค่าต่ำมาก อันเนื่องมาจากหลาย ๆ ปัจจัย กล่าวคือ

1. ปริมาณลูกกุ้งที่ใช้ในการทดลอง ไม่เหมาะสมกับขนาดตู้ที่ใช้เลี้ยง โดยลูกกุ้งที่นำมาใช้ในการทดลองมีขนาดเล็กมากและผู้ทำวิจัยได้เลือกใช้ความหนาแน่น 360 ตัวต่อตารางเมตร ที่มีการอ้างอิงไว้

มาดัดแปลงใช้ในระบบการเลี้ยงครั้งนี้ แต่ไม่ได้คำนึงถึงปริมาตรน้ำที่ใช้เลี้ยง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ลูกกุ้งตายเป็นจำนวนมากในช่วงแรกของการทดลอง ทั้งนี้ สามารถแก้ไขในการทดลองครั้งถัดไปได้โดยการประเมินความเหมาะสมทั้งขนาดพื้นที่ และปริมาตรนำที่ใช้เลี้ยงให้มีความเหมาะสมกับขนาดลูกกุ้งที่นำมาใช้เลี้ยง อาจจะเป็นการเพิ่มจำนวนลูกกุ้ง โดยใช้ปริมาตรน้ำเลี้ยงเดิม หรือ เปลี่ยนขนาดตู้ให้เล็กลง และเลี้ยงกุ้งจำนวนเท่าเดิม

2. ชนิดของอาหารและปริมาณที่ใช้ในการเลี้ยงไม่มีความเหมาะสม อาหารที่ใช้อนุบาลลูกกุ้งในครั้งนี้ ช่วงแรกเป็นอาหารเกล็ดสำเร็จรูปชนิดลอยน้ำ ทำให้ลูกกุ้งต้องใช้พลังงานจำนวนมากในการกินอาหาร นอกจากนี้การให้อาหารในปริมาณมากไป อาหารส่วนเกินจะกลายเป็นของเสียภายในตู้ แต่ถ้าให้อาหารน้อยไป ลูกกุ้งบางส่วนจะกินกันเอง แนวทางการแก้ไขปัญหาในส่วนนี้ คือ การเลือกใช้อาหารที่เหมาะสมต่อลูกกุ้ง ซึ่งต้องคำนึงถึงระยะของลูกกุ้งในช่วงเวลานั้น ในส่วนผู้ทำการทดลองครั้งนี้ได้แก้ปัญหาโดยการทำให้อาหารเกล็ดที่ลอยน้ำจมตัวลงโดยการผสมอาหารและน้ำเลี้ยงภายนอกตู้ทดลองแล้วค่อยๆเทลงไปในตู้ทดลอง ซึ่งวิธีนี้จะทำให้อาหารกระจายตัวทั่วทั้งตู้ทดลอง นอกจากนี้ได้ทำการนำอาหารเม็ดที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และเป็นชนิดจมน้ำ มาให้ควบคู่กับอาหารเกล็ด เนื่องจากลูกกุ้งมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น ส่วนปริมาณการให้ในแต่ละครั้งควรสังเกตการกินของลูกกุ้งอย่างสม่ำเสมอ โดยดูจากอาหารที่เหลือหลังการให้ 2 ชั่วโมง ถ้ายังมีเหลืออยู่ ก็ไม่ควรให้เพิ่ม แต่ถ้าสังเกตเห็นว่าลูกกุ้งกินไปหมดแล้ว ก็ควรปรับเพิ่มอาหารที่ให้ในครั้งถัดไป แต่ควรเพิ่มและลดที่ละน้อย เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสม

3. พื้นที่หลบซ่อนตัวของลูกกุ้งภายในตู้ทดลองเลี้ยงมีน้อยเกินไป จากการสังเกตระหว่างทำการทดลองจะพบการกินกันเองของลูกกุ้ง ซึ่งนอกจากจะขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอแล้ว ยังขึ้นอยู่กับช่วงที่ลูกกุ้งทำการลอกคราบ ช่วงนี้ลูกกุ้งจะอ่อนแอ เสี่ยงที่จะถูกตัวที่แข็งแรงกว่ากินเป็นอาหารได้ แนวทางแก้ไขในส่วนนี้ คือ การเพิ่มที่หลบซ่อนให้ลูกกุ้งมากขึ้น ซึ่งนับว่ามีความสำคัญมากในการอนุบาลกุ้งระยะนี้ เนื่องจากลูกกุ้งระยะนี้จะมีความถี่ในการลอกคราบที่สูง

4. สำหรับการเสริมแร่ธาตุในการทดลองครั้งนี้ คู่สัดส่วนแร่ธาตุโซเดียมและโพแทสเซียม ที่เตรียมในการทดลองครั้งนี้มีค่าไม่ใกล้เคียงกับสัดส่วนที่ได้มีการแนะนำไว้ อาจเป็นสาเหตุการตายของลูกกุ้งในการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากแร่ธาตุทั้ง 2 ตัว มีความสำคัญต่อกระบวนการรักษาสมดุลน้ำภายในเซลล์ของลูกกุ้ง ถ้ามีปริมาณที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลให้ลูกกุ้งเกิดภาวะเครียดอันเนื่องมาจากภาวะสมดุลที่บกพร่องนี้ จึงแนะนำสำหรับการวิจัยในครั้งถัดไป ให้เลือกใช้สัดส่วนแร่ธาตุในแต่ละคู่เป็นไปตามที่ได้มีการแนะนำไว้

นอกจากนี้การเจริญเติบโตของลูกกุ้งเมื่อเทียบระหว่างชุดควบคุม และชุดการทดลองพบว่าอาจจะมีการเติบโตแตกต่างกันอันเนื่องมาจากแร่ธาตุรองที่ละลายอยู่ในน้ำเลี้ยง เนื่องจากปริมาณแร่ธาตุหลักในน้ำเลี้ยงในการทดลองครั้งนี้มีปริมาณสูงในทุกชุดทดลอง ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าน้ำเลี้ยงที่เตรียมจากนาเกลือในชุดควบคุม

มีแร่ธาตุรองที่เพียงพอต่อลูกกุ้ง ขณะที่น้ำเลี้ยงที่เตรียมจากเกลือทะเลผง แร่ธาตุรองอาจหายไปในกระบวนการผลิต จึงเป็นเพียงข้อสันนิษฐาน เนื่องจากผู้ทำวิจัยไม่ได้มีการตรวจวัดปริมาณแร่ธาตุรองในครั้งนี้ แนวทางแก้ไข คือการตรวจวัดทั้งปริมาณแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง เพื่อให้ทราบสาเหตุที่แท้จริงว่าในน้ำเลี้ยงที่ใช้เลี้ยงมีองค์ประกอบของแร่ธาตุใดละลายอยู่บ้าง ซึ่งแต่ละแร่ธาตุก็จะส่งผลต่อลูกกุ้งที่แตกต่างกันออกไป

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

กระสินธุ์ หังสพฤกษ์. 2553. การเสริมแร่ธาตุให้ลูกกุ้งก้ามกรามในการอนุบาลในน้ำเค็มที่มีระบบหมุนเวียนแบบปิด. รายงานผลงานวิจัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

จรัญ จันทลักษณา. 2527. สถิติวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ, วราห์ เทพาหุดี, นิติ ชูเชิด, พรเลิศ จันทร์รัชชกูล และ นิธิศ ภัทรกุลชัย. 2547. การศึกษาหาระดับความเหมาะสมของอิออนสำคัญที่มีต่ออัตรารอดและการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ. ใน สัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัยเรื่องการวิจัยเพื่อแก้ปัญหาอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้งของประเทศไทย, หน้า 268-279. ณ กองโครงงานและประสานงานวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร.

ณัฐพล แก้วละเอียด และ บุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2553. การเสริมแร่ธาตุตามอัตราส่วนในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด อัตราการแลกเนื้อ ความถี่ของการลอกคราบ และความแปรปรวนของขนาดกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*). ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่48, หน้า 83 - 90. 3 - 6 กุมภาพันธ์ 2553 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล และ นิสรา กิจเจริญ. 2560. กุ้งก้ามกราม ประมวลองค์ความรู้. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ, อรสา สุริยาพันธุ์, กิตติยา อุปถัมป์ และ สว่างพงศ์ สมมาตร. 2551. กระบวนการสะสมแร่ธาตุของกุ้งขาว (*Litopenaeus vanamei*) และประยุกต์การเสริมแร่ธาตุในระบบอนุบาลและการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์.รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยบูรพา.

ผู้อำนวยการ สำนักงานโครงการฟาร์มทะเลตัวอย่างฯ. โครงการฟาร์มทะเลตัวอย่างตามพระราชดำริ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://agriculture.pbru.ac.th/LocalAgroTour/?page_id=233 [12 พฤษภาคม 2562]

แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2554. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพมหานคร: บริษัทชวนพิมพ์ 50 จำกัด.

ศิริภรณ์ โคตะมี, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว และ สมสมร แก้วบริสุทธิ์. 2556. องค์ประกอบแร่ธาตุหลักในน้ำทะเลเปรียบเทียบกับน้ำเกลือสินเธาว์เพื่อการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกราม. แก่นเกษตร 41: 419 - 424.

สุรังษี ทัพพะรังสี, สมหวัง พิมลบุตร และ วารุณีย์ คันทรง. 2556. ความหนาแน่นที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามระบบน้ำหมุนเวียนในบ่อดิน. วารสารวิชาการ มทร. สุวรรณภูมิ 1: 51-60.

ภาษาอังกฤษ

Boyd, C. and Zimmerman S. (2000) . Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium rosenbergii,* Chapter 14: Grow out system – water quality and soil management.

Brown, J.H. 1991. Freshwater prawn, pp. 31-43. *In* C.E. Nash, ed. World Animal Science Product of Aquatic Animals. Elsevier New York.

Chand, B.K., Trivedi, R.K., Dubey, S.K., Rout, S.K., Beg, M.M. and Das, U.K. 2015. Effect of salinity on survival and growth of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquaculture Reports 2rd, 26 - 33.

Deshimaru, O., Kuroki, K., Sakamoto, S. and Yone, Y. 1978. Absorption of labelled calcium-45Ca by prawn from seawater. Bull. Jpn. Sot.Sci.Fish 44(9): 975 - 977.

Hangsapreurke K. , Thamrongnawasawat T. , Powtongsook S. , Tabthipwon P. , and Pratoomchat B. 2008. Embryonic development, hatching, mineral consumption, and survival of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) reared in artificial seawater in closed recirculating water system at different levels of salinity. Maejo international Journal of Science and Technology 2(3): 471 - 482.

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis 2nd ed. The Alger Press Ltd.

Grasshoff, K., Kremling, K. and Ehrhardt, M. 1999. Methods of Seawater Analysis 3rd ed. The Federal Replublic of Germany.

Ling, S.W. 1964. A general account on biology of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* and methods for its rearing and culturing. The Indo-Pacific Fisheries Council 11th session, paper No. 40

Michael, B.N. 2002. Farming freshwater prawns: A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries technical paper 428. Marlow, United Kingdom.

New, M.B. and Singholka, S. 2000. Freshwater prawn Culture the farming of *Macrobrachium rosenbergii.* Oxford: Blackwell Science Ltd.

New, M.B. 2002. Farming freshwater prawns: A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), pp. 428 FAO Fisheries Technical Paper. FAO Rome.

Roy, L.A. *et al*. (2010). Shrimp culture in inland low salinity waters. Reviews in Aquaculture, 2. p. 191 – 208

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตาราง ก-1 ความเค็มในชุดการทดลอง

Days	Salinity (psu)				Std. Error	Salinity (psu)				Std. Error	Salinity (psu)				Std. Error
	Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	2.0	2.0	2.0	**2.0**	0.0	2.4	2.1	2.4	**2.3**	0.1	2.0	2.7	2.2	**2.3**	0.2
5	2.0	2.0	2.0	**2.0**	0.0	2.4	2.2	2.4	**2.3**	0.1	2.8	**3.9**	3.1	**3.3**	0.3
10	2.0	2.0	2.0	**2.0**	0.0	2.4	2.1	2.4	**2.3**	0.1	2.8	3.9	3.0	**3.2**	0.3
15	2.0	2.1	2.0	**2.0**	0.0	2.1	1.9	2.2	**2.1**	0.1	2.7	2.6	2.8	**2.7**	0.1
20	2.0	2.1	2.0	**2.0**	0.0	2.2	2.3	2.0	**2.2**	0.1	2.7	2.7	2.9	**2.8**	0.1
25	2.0	2.0	2.0	**2.0**	0.0	1.9	2.1	2.0	**2.0**	0.1	2.8	2.8	2.8	**2.8**	0.0
30	2.0	2.0	2.2	**2.1**	0.1	1.9	2.0	2.1	**2.0**	0.1	2.7	2.7	2.8	**2.7**	0.0

ตาราง ก-2 อุณหภูมิในชุดการทดลอง

Days	Temp (°C)				Std. Error	Temp (°C)				Std. Error	Temp (°C)				Std. Error
	Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	27.8	27.2	27.1	**27.4**	0.2	27.9	27.8	27.1	**27.6**	0.3	27.2	27.6	27.3	**27.4**	0.1
5	27.7	26.9	26.9	**27.2**	0.3	27.8	27.7	27.0	**27.5**	0.3	27.1	27.5	27.3	**27.3**	0.1
10	28.4	27.6	27.7	**27.9**	0.3	28.4	28.4	27.8	**28.2**	0.2	27.9	28.3	28.2	**28.1**	0.1
15	27.5	27.0	27.1	**27.2**	0.2	27.9	27.7	27.1	**27.6**	0.2	27.2	27.9	27.5	**27.5**	0.2
20	28.2	27.6	27.8	**27.9**	0.2	28.5	27.9	28.5	**28.3**	0.2	28.0	28.7	28.4	**28.4**	0.2
25	28.2	27.7	27.7	**27.9**	0.2	28.4	27.9	28.4	**28.2**	0.2	28.0	28.6	28.3	**28.3**	0.2
30	28.6	28.0	28.1	**28.2**	0.2	29.0	28.9	28.3	**28.7**	0.2	28.3	29.1	28.6	**28.7**	0.2

ตาราง ก-3 แอมโมเนียในชุดการทดลอง

Days	Ammonia (mg/L)				Std. Error	Ammonia (mg/L)				Std. Error	Ammonia (mg/L)				Std. Error
	Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0
5	0.0	0.1	0.2	**0.1**	0.1	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	1.0	2.0	1.0	**1.3**	0.3
10	0.1	0.1	0.1	**0.1**	0.0	0.2	0.1	0.1	**0.1**	0.0	0.1	0.1	0.1	**0.1**	0.0
15	0.2	0.2	0.0	**0.1**	0.1	0.2	0.0	0.1	**0.1**	0.0	0.2	0.2	0.1	**0.1**	0.0
20	0.2	0.0	0.0	**0.1**	0.1	0.0	0.1	0.0	**0.0**	0.0	0.1	0.1	0.0	**0.1**	0.0
25	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0
30	0.0	0.1	0.1	**0.1**	0.0	0.0	0.1	0.0	**0.0**	0.0	0.1	0.1	0.0	**0.1**	0.0

ตาราง ก-4 ไนไตรท์ในชุดการทดลอง

Days	Nitrite (mg/L)				Std.	Nitrite (mg/L)				Std.	Nitrite (mg/L)				Std.
	Control set				Error	1st experiment set				Error	2nd experiment set				Error
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0
5	0.0	0.5	0.5	**0.3**	0.2	0.5	0.5	0.5	**0.5**	0.0	0.5	0.5	0.5	**0.5**	0.0
10	0.1	0.1	0.0	**0.1**	0.0	0.1	0.0	0.0	**0.0**	0.0	0.1	0.1	0.0	**0.1**	0.0
15	0.1	0.1	0.1	**0.1**	0.0	0.3	0.1	0.1	**0.1**	0.1	0.1	0.1	0.1	**0.1**	0.0
20	0.2	0.3	0.1	**0.2**	0.1	0.3	0.1	0.1	**0.2**	0.1	0.1	0.1	0.1	**0.1**	0.0
25	0.0	0.1	-	**0.0**	0.0	-	0.0	0.1	**0.0**	0.0	0.0	0.0	0.1	**0.0**	0.0
30	0.0	0.1	0.0	**0.0**	0.0	0.1	0.0	0.1	**0.1**	0.0	0.0	0.0	0.0	**0.0**	0.0

ภาคผนวก ข

ตาราง ข-1 pH ในชุดการทดลอง

Days	pH				Std. Error	pH				Std. Error	pH				Std. Error
	Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	8.53	8.41	8.46	**8.47**	0.03	8.47	8.49	8.44	**8.47**	0.01	8.48	8.39	8.40	**8.42**	0.03
2	8.54	8.41	8.43	**8.46**	0.04	8.46	8.45	8.46	**8.46**	0.00	8.44	8.39	8.48	**8.44**	0.03
3	8.51	8.40	8.37	**8.43**	0.04	8.42	8.36	8.43	**8.40**	0.02	8.42	8.34	8.46	**8.41**	0.04
4	8.53	8.43	8.47	**8.48**	0.03	8.47	8.47	8.49	**8.48**	0.01	8.46	8.45	8.50	**8.47**	0.02
5	8.41	8.32	8.34	**8.36**	0.03	8.34	8.33	8.36	**8.34**	0.01	8.18	8.20	8.24	**8.21**	0.02
8	8.43	8.38	8.34	**8.38**	0.03	8.37	8.37	8.38	**8.37**	0.00	8.28	8.29	8.32	**8.30**	0.01
11	8.47	8.41	8.39	**8.42**	0.02	8.41	8.41	8.43	**8.42**	0.01	8.33	8.32	8.36	**8.34**	0.01
14	8.40	8.23	8.22	**8.28**	0.06	8.28	8.30	8.29	**8.29**	0.01	8.07	8.24	8.22	**8.18**	0.05
17	8.39	8.29	8.24	**8.31**	0.04	8.30	8.32	8.33	**8.32**	0.01	8.20	8.26	8.22	**8.23**	0.02
20	8.44	8.31	8.22	**8.32**	0.06	8.36	8.35	8.38	**8.36**	0.01	8.27	8.27	8.26	**8.27**	0.00
24	8.40	8.28	8.29	**8.32**	0.04	8.31	8.29	8.32	**8.31**	0.01	8.27	8.26	8.23	**8.25**	0.01
27	8.40	8.33	8.34	**8.36**	0.02	8.34	8.36	8.37	**8.36**	0.01	8.32	8.26	8.27	**8.28**	0.02
30	8.38	8.32	8.31	**8.34**	0.02	8.34	8.33	8.31	**8.33**	0.01	8.31	8.26	8.24	**8.27**	0.02

ตาราง ข-2 ค่าอัลคาลินิตี้ในชุดการทดลอง

Days	Alkalinity (mg/L)				Std. Error	Alkalinity (mg/L)				Std. Error	Alkalinity (mg/L)				Std. Error
	Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
	1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
1	148.5	127.2	126.0	**133.9**	7.3	130.4	133.0	133.3	**132.2**	0.9	134.5	118.1	133.4	**128.7**	5.3
2	147.8	126.5	129.3	**134.5**	6.7	131.9	132.4	129.0	**131.1**	1.1	135.5	117.9	133.3	**128.9**	5.6
3	147.6	128.5	127.9	**134.7**	6.5	130.6	131.7	133.7	**132.0**	0.9	134.1	117.4	134.3	**128.6**	5.6
4	144.7	125.9	126.0	**132.2**	6.2	128.7	131.9	132.0	**130.9**	1.1	134.3	117.3	132.5	**128.0**	5.4
5	142.0	124.2	122.2	**129.5**	6.3	125.7	128.5	130.0	**128.1**	1.2	132.0	115.4	130.2	**125.9**	5.3
8	144.0	125.1	124.1	**131.1**	6.5	127.3	130.3	131.2	**129.6**	1.2	125.0	107.9	124.0	**119.0**	5.5
11	145.5	126.9	125.3	**132.6**	6.5	129.0	133.2	132.7	**131.6**	1.3	127.6	110.0	125.5	**121.0**	5.6
14	133.7	121.5	119.3	**124.8**	4.5	120.8	125.5	126.9	**124.4**	1.8	123.0	103.3	123.1	**116.5**	6.6
17	132.5	119.9	117.6	**123.3**	4.6	118.3	123.9	125.0	**122.4**	2.1	123.4	98.6	121.0	**114.3**	7.9
20	130.6	118.2	114.9	**121.2**	4.8	116.0	121.2	122.4	**119.9**	2.0	122.2	97.5	119.4	**113.0**	7.8
24	119.8	109.6	108.3	**112.6**	3.7	106.4	110.2	114.0	**110.2**	2.2	115.6	91.4	111.0	**106.0**	7.4
27	118.7	108.3	107.0	**111.3**	3.7	105.6	110.1	112.7	**109.5**	2.1	114.8	92.2	110.1	**105.7**	6.9
30	117.5	108.7	107.1	**111.1**	3.2	104.7	109.5	112.3	**108.8**	2.2	114.2	92.4	108.4	**105.0**	6.5

ภาคผนวก ค

ตาราง ค-1 ความเข้มข้นแร่ธาตุ โซเดียม ในชุดการทดลอง

Day	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Na : K	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Na : K	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	: K
	Control set							1st experiment set							2nd experiment set						
	1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.			
12	476.7	498.9	484.6	**486.7**	11.8	0.02117	**17.47**	664.9	546.7	692.7	**634.7**	44.8	0.02761	**23.92**	559.6	769.6	633.5	**654.2**	61.5	0.02846	**24.30**
13	473.3	485.4	492.9	**483.9**	5.7	0.02105	**17.52**	581.3	522.2	600.8	**568.1**	23.6	0.02471	**22.08**	493.6	618.4	530.4	**547.5**	37.0	0.02381	**21.64**
14	464.2	491.3	488.9	**481.5**	8.6	0.02094	**17.27**	587.0	486.1	611.6	**561.6**	38.4	0.02443	**21.84**	511.3	606.5	580.6	**566.1**	28.4	0.02462	**21.82**
15	447.1	505.2	501.4	**484.6**	18.8	0.02108	**17.19**	584.1	523.8	605.8	**571.2**	24.5	0.02485	**21.99**	537.6	547.2	551.9	**545.6**	4.2	0.02373	**21.29**
16	472.4	479.8	470.4	**474.2**	2.9	0.02063	**16.86**	580.3	494.4	631.6	**568.8**	40.0	0.02474	**21.70**	530.9	555.1	593.7	**559.9**	18.3	0.02435	**21.43**
17	487.3	529.4	507.4	**508.1**	12.1	0.02210	**17.23**	611.7	513.9	630.3	**585.3**	36.1	0.02546	**21.86**	537.7	544.2	584.4	**555.4**	14.6	0.02416	**21.29**
18	475.3	519.1	509.6	**501.3**	13.3	0.02181	**17.20**	607.6	543.7	637.1	**596.2**	27.6	0.02593	**22.11**	544.1	575.4	590.2	**569.9**	13.6	0.02479	**21.30**
19	556.2	570.5	529.6	**552.1**	12.0	0.02401	**16.81**	629.6	573.6	672.6	**625.3**	28.7	0.02720	**21.32**	568.4	601.2	627.2	**598.9**	17.0	0.02605	**20.68**
20	546.6	519.3	515.3	**527.1**	9.8	0.02293	**16.41**	649.5	527.9	652.2	**609.9**	41.0	0.02653	**21.02**	561.6	605.5	635.5	**600.9**	21.5	0.02614	**20.76**
21	522.1	493.6	510.2	**508.6**	8.3	0.02212	**16.17**	516.8	530.4	589.4	**545.5**	22.3	0.02373	**19.62**	616.4	586.7	588.8	**597.3**	9.6	0.02598	**20.69**
24	525.7	511.6	483.6	**507.0**	12.4	0.02205	**15.74**	497.4	575.3	594.8	**555.8**	29.8	0.02418	**19.31**	582.5	617.0	588.2	**595.9**	10.7	0.02592	**19.89**
25	537.2	518.8	519.4	**525.1**	6.0	0.02284	**15.76**	520.8	573.7	608.8	**567.8**	25.6	0.02470	**19.42**	550.8	656.7	617.1	**608.2**	30.9	0.02646	**20.25**
27	549.0	540.4	544.9	**544.8**	2.5	0.02370	**15.94**	534.6	549.6	630.9	**571.7**	29.9	0.02487	**19.56**	602.4	653.0	587.4	**614.3**	19.8	0.02672	**20.35**
28	556.4	525.6	575.1	**552.3**	14.4	0.02403	**15.80**	525.5	592.5	604.2	**574.1**	24.5	0.02497	**19.59**	629.1	626.7	641.2	**632.3**	4.5	0.02750	**20.39**
29	557.2	531.2	584.7	**557.7**	15.5	0.02426	**16.04**	534.4	578.4	590.9	**567.9**	17.2	0.02470	**19.37**	618.5	533.0	622.2	**591.2**	29.1	0.02572	**20.01**
30	523.1	532.5	560.2	**538.6**	11.1	0.02343	**15.78**	523.8	573.5	590.3	**562.5**	19.9	0.02447	**19.16**	596.6	630.6	606.3	**611.2**	10.1	0.02658	**19.85**

หมายเหตุ ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 22 และ 23 ของการทดลอง

ตาราง ค-2 ความเข้มข้นแร่ธาตุ โพแทสเซียม ในชุดการทดลอง

Day	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Na : K	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Na : K	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Na : K
	Control set							1st experiment set							2nd experiment set						
	1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.			
12	46.47	48.00	47.71	47.39	0.47	0.0012	**17.47**	46.03	42.28	47.06	45.12	1.45	0.0012	**23.92**	43.00	49.10	45.26	45.79	1.78	0.0012	**24.30**
13	46.37	46.71	47.86	46.98	0.45	0.0012	**17.52**	43.63	42.73	44.91	43.76	0.63	0.0011	**22.08**	41.30	45.10	42.65	43.02	1.11	0.0011	**21.64**
14	46.31	47.65	48.30	47.42	0.59	0.0012	**17.27**	44.66	41.08	45.46	43.73	1.35	0.0011	**21.84**	42.77	45.43	44.15	44.11	0.77	0.0011	**21.82**
15	45.91	48.92	49.01	47.95	1.02	0.0012	**17.19**	44.56	42.57	45.41	44.18	0.84	0.0011	**21.99**	43.40	43.39	43.98	43.59	0.19	0.0011	**21.29**
16	47.11	48.57	47.80	47.82	0.42	0.0012	**16.86**	44.82	42.18	46.70	44.57	1.31	0.0011	**21.70**	43.79	44.29	45.24	44.44	0.43	0.0011	**21.43**
17	49.32	51.13	49.98	50.14	0.53	0.0013	**17.23**	46.23	42.93	47.42	45.53	1.34	0.0012	**21.86**	44.14	43.91	45.05	44.37	0.35	0.0011	**21.29**
18	48.16	50.46	50.09	49.57	0.71	0.0013	**17.20**	46.15	44.18	47.21	45.85	0.89	0.0012	**22.11**	45.00	45.47	46.02	45.50	0.30	0.0012	**21.30**
19	56.01	56.92	54.62	55.85	0.67	0.0014	**16.81**	50.02	47.79	51.82	49.88	1.16	0.0013	**21.32**	48.70	49.11	49.93	49.25	0.36	0.0013	**20.68**
20	55.03	54.14	54.67	54.62	0.26	0.0014	**16.41**	51.31	45.83	50.90	49.35	1.76	0.0013	**21.02**	47.91	49.21	50.55	49.22	0.76	0.0013	**20.76**
21	53.48	52.53	54.51	53.51	0.57	0.0014	**16.17**	46.63	46.70	48.52	47.29	0.62	0.0012	**19.62**	50.12	48.32	48.84	49.09	0.53	0.0013	**20.69**
24	55.52	55.33	53.48	54.78	0.65	0.0014	**15.74**	46.49	49.30	51.06	48.95	1.33	0.0013	**19.31**	51.20	51.01	50.61	50.94	0.17	0.0013	**19.89**
25	56.86	56.70	56.49	56.69	0.11	0.0014	**15.76**	48.07	49.89	51.24	49.73	0.92	0.0013	**19.42**	48.25	53.21	51.79	51.08	1.48	0.0013	**20.25**
26	57.47	57.27	56.48	57.07	0.30	0.0015	**15.68**	49.34	48.88	51.23	49.82	0.72	0.0013	**19.46**	52.28	52.00	52.12	52.13	0.08	0.0013	**20.39**
27	58.49	58.05	57.80	58.11	0.20	0.0015	**15.94**	48.42	49.07	51.66	49.72	0.99	0.0013	**19.56**	51.47	52.81	49.73	51.34	0.89	0.0013	**20.35**
28	58.79	58.07	61.44	59.44	1.02	0.0015	**15.80**	47.66	50.21	51.67	49.85	1.17	0.0013	**19.59**	53.41	52.18	52.66	52.75	0.36	0.0013	**20.39**
29	58.25	57.46	61.68	59.13	1.30	0.0015	**16.04**	48.92	50.09	50.58	49.86	0.49	0.0013	**19.37**	52.25	46.97	51.53	50.25	1.65	0.0013	**20.01**
30	56.60	57.29	60.26	58.05	1.12	0.0015	**15.78**	48.06	50.79	50.96	49.94	0.94	0.0013	**19.16**	52.17	53.68	51.21	52.35	0.72	0.0013	**19.85**

หมายเหตุ ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 22 และ 23 ของการทดลอง

ตาราง ค-3 ความเข้มข้นแร่ธาตุ แมกนีเซียมในชุดการทดลอง

Day	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca
	Control set							1st experiment set							2nd experiment set						
	1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.			
12	73.1	84.2	82.2	79.8	3.4	0.3285	**1.63**	53.4	46.8	54.7	51.6	2.4	0.2124	**0.98**	281.6	309.9	287.3	292.9	8.6	1.2054	**3.12**
13	73.4	75.6	83.5	77.5	3.0	0.3190	**1.62**	50.1	46.5	50.9	49.2	1.4	0.2023	**0.87**	250.4	251.7	248.9	250.3	0.8	1.0301	**2.86**
14	71.7	82.2	83.4	79.1	3.7	0.3255	**1.59**	51.0	43.6	51.0	48.5	2.4	0.1996	**0.89**	260.6	247.9	269.7	259.4	6.3	1.0674	**2.73**
15	72.8	87.1	83.2	81.0	4.3	0.3335	**1.51**	50.1	44.1	50.9	48.3	2.1	0.1989	**0.89**	270.8	226.7	258.1	251.9	13.1	1.0365	**2.81**
16	74.3	81.5	79.3	78.4	2.1	0.3226	**1.60**	49.6	45.5	52.7	49.3	2.1	0.2029	**0.88**	268.2	228.4	275.5	257.4	14.6	1.0592	**2.89**
17	74.9	86.4	83.9	81.7	3.5	0.3363	**1.68**	49.5	44.5	53.0	49.0	2.5	0.2017	**0.96**	266.9	223.6	265.8	252.1	14.3	1.0375	**2.91**
18	72.8	82.5	82.2	79.2	3.2	0.3257	**1.61**	50.2	43.6	51.5	48.4	2.4	0.1993	**0.91**	268.6	231.9	273.2	257.9	13.1	1.0613	**2.89**
19	87.5	92.2	84.0	87.9	2.4	0.3618	**1.59**	51.2	46.3	52.2	49.9	1.8	0.2052	**0.91**	268.5	235.7	277.7	260.7	12.7	1.0726	**2.83**
20	85.8	84.2	84.1	84.7	0.6	0.3486	**1.58**	51.5	43.9	43.9	46.5	2.5	0.1912	**0.85**	263.5	235.4	278.2	259.0	12.6	1.0660	**2.82**
21	83.6	80.5	83.4	82.5	1.0	0.3395	**1.59**	44.4	44.4	47.6	45.5	1.1	0.1872	**0.88**	265.0	201.2	246.9	237.7	19.0	0.9781	**2.75**
24	83.2	81.7	78.1	81.0	1.5	0.3334	**1.53**	42.8	46.6	48.7	46.0	1.7	0.1895	**0.88**	257.5	204.3	247.6	236.5	16.3	0.9731	**2.73**
25	85.1	83.6	84.6	84.4	0.4	0.3474	**1.51**	44.5	46.8	49.5	46.9	1.4	0.1931	**0.86**	240.4	218.7	255.2	238.1	10.6	0.9798	**2.68**
26	84.0	85.5	82.8	84.1	0.8	0.3461	**1.54**	46.4	45.8	49.3	47.2	1.1	0.1940	**0.86**	264.5	203.6	261.9	243.3	19.9	1.0014	**2.67**
27	87.8	87.0	85.7	86.9	0.6	0.3575	**1.55**	44.9	45.5	49.5	46.6	1.4	0.1919	**0.88**	263.9	215.2	247.6	242.3	14.3	0.9969	**2.72**
28	86.0	85.2	91.8	87.7	2.1	0.3607	**1.53**	43.3	47.1	48.2	46.2	1.5	0.1902	**0.90**	271.0	208.4	265.7	248.4	20.0	1.0222	**2.71**
29	87.8	85.7	92.5	88.7	2.0	0.3648	**1.57**	45.6	46.0	48.1	46.6	0.8	0.1916	**0.87**	266.6	178.9	260.8	235.5	28.3	0.9690	**2.72**
30	83.6	85.8	90.8	86.7	2.1	0.3569	**1.57**	44.2	47.8	47.2	46.4	1.1	0.1909	**0.86**	261.3	213.1	246.9	240.4	14.3	0.9895	**2.62**

หมายเหตุ ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 22 และ 23 ของการทดลอง

ตาราง ค-4 ความเข้มข้นแร่ธาตุ แคลเซียมในชุดการทดลอง

Day	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca	Conc. (mg/L)				Std. Error	Conc. (mol/L)	Mg : Ca
	Control set							1st experiment set							2nd experiment set						
	1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.				1	2	3	Avg.			
12	70.0	87.4	84.2	**80.53**	5.35	0.2013	**1.63**	87.8	82.7	90.9	**87.10**	2.39	0.2177	**0.98**	150.0	162.4	151.2	**154.53**	3.95	0.3862	**3.12**
13	74.2	74.4	88.1	**78.92**	4.61	0.1973	**1.62**	95.5	89.4	93.7	**92.87**	1.82	0.2321	**0.87**	139.0	149.3	144.4	**144.22**	2.95	0.3605	**2.86**
14	72.2	84.5	88.9	**81.87**	4.99	0.2046	**1.59**	93.5	86.7	89.5	**89.88**	1.97	0.2246	**0.89**	153.7	163.9	152.0	**156.57**	3.72	0.3913	**2.73**
15	76.2	97.6	91.0	**88.26**	6.33	0.2206	**1.51**	92.0	85.9	89.8	**89.22**	1.78	0.2230	**0.89**	151.1	138.3	153.4	**147.58**	4.68	0.3689	**2.81**
16	72.6	87.1	82.6	**80.78**	4.28	0.2019	**1.60**	88.5	95.3	91.9	**91.90**	1.95	0.2297	**0.88**	154.2	134.5	151.6	**146.75**	6.16	0.3668	**2.89**
17	73.7	83.0	83.7	**80.13**	3.23	0.2003	**1.68**	84.7	81.0	87.6	**84.45**	1.89	0.2111	**0.96**	148.3	136.9	143.1	**142.77**	3.29	0.3568	**2.91**
18	71.1	85.1	86.1	**80.76**	4.82	0.2018	**1.61**	89.9	80.6	91.0	**87.18**	3.29	0.2179	**0.91**	150.4	140.0	150.5	**146.96**	3.49	0.3673	**2.89**
19	93.8	93.5	85.4	**90.89**	2.75	0.2272	**1.59**	91.4	87.1	93.3	**90.59**	1.83	0.2264	**0.91**	156.6	144.2	154.2	**151.66**	3.80	0.3791	**2.83**
20	88.3	84.9	91.8	**88.34**	1.99	0.2208	**1.58**	93.2	84.6	91.4	**89.72**	2.63	0.2242	**0.85**	145.9	145.9	161.8	**151.22**	5.31	0.3780	**2.82**
21	85.3	84.6	86.7	**85.57**	0.62	0.2139	**1.59**	87.1	82.0	87.1	**85.40**	1.70	0.2134	**0.88**	150.6	130.6	145.7	**142.28**	6.02	0.3556	**2.75**
24	88.9	82.8	89.3	**87.02**	2.10	0.2175	**1.53**	81.6	84.8	92.0	**86.11**	3.07	0.2152	**0.88**	150.0	133.0	145.6	**142.85**	5.08	0.3570	**2.73**
25	92.4	87.8	95.3	**91.83**	2.20	0.2295	**1.51**	87.3	90.6	92.3	**90.05**	1.45	0.2251	**0.86**	143.4	148.6	147.2	**146.40**	1.55	0.3659	**2.68**
26	87.0	90.4	92.1	**89.80**	1.50	0.2244	**1.54**	90.2	90.1	91.2	**90.49**	0.35	0.2262	**0.86**	163.0	132.5	154.1	**149.89**	9.05	0.3746	**2.67**
27	100.5	89.4	87.5	**92.46**	4.06	0.2311	**1.55**	85.3	87.3	89.7	**87.46**	1.27	0.2186	**0.88**	156.1	137.1	146.7	**146.64**	5.49	0.3665	**2.72**
28	92.7	94.4	95.2	**94.09**	0.72	0.2352	**1.53**	78.1	90.5	86.4	**84.99**	3.63	0.2124	**0.90**	163.5	133.6	156.2	**151.10**	9.00	0.3776	**2.71**
29	92.1	91.8	94.6	**92.82**	0.89	0.2320	**1.57**	87.1	85.6	91.4	**88.02**	1.74	0.2200	**0.87**	163.6	114.8	149.7	**142.66**	14.52	0.3566	**2.72**
30	89.2	91.3	91.5	**90.68**	0.72	0.2266	**1.57**	82.8	97.9	86.7	**89.11**	4.52	0.2227	**0.86**	155.4	150.0	147.2	**150.85**	2.40	0.3770	**2.62**

หมายเหตุ ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 22 และ 23 ของการทดลอง

ภาคผนวก ง

ตาราง ง อัตราการรอดตาย และ อัตราการเจริญเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามในชุดการทดลอง

		Number of shrimp				Std.Error	Number of shrimp				Std.Error	Number of shrimp				Std.Error
		Control set					1st experiment set					2nd experiment set				
		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.		1	2	3	Avg.	
Initial		120	120	120	120	0	120	120	120	120	0	120	120	120	120	0
Size	0.5	120	120	120	120	0	120	120	120	120	0	120	120	120	120	0
End		13	12	7	10.7	1.9	17	14	32	21.0	5.6	22	12	26	20.0	4.2
Size	<1	1	0	0	0.3	0.3	1	0	0	0.3	0.3	0	1	0	0.3	0.3
	1	0	2	1	1.0	0.6	1	1	1	1.0	0.0	2	1	4	2.3	0.9
	1.5	0	1	0	0.3	0.3	3	7	19	9.7	4.8	3	3	13	6.3	3.3
	2	0	5	4	3.0	1.5	4	2	4	3.3	0.7	11	1	4	5.3	3.0
	2.5	3	3	0	2.0	1.0	3	2	6	3.7	1.2	5	2	4	3.7	0.9
	3	9	1	2	4.0	2.5	5	2	1	2.7	1.2	1	4	1	2.0	1.0
Rate of Survival (%)					8.9		Rate of Survival (%)			17.5		Rate of Survival (%)			16.7	