



อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

ก. การเตรียมไรแดงเพื่อใช้ในการทดลอง

ไรแดง (*Moina macrocopa*) ชื่อจากร้านขายปลาสวยงามบริเวณสะพานเหล็ก โดยคัดตัวแม่ขนาดกลาง (อายุ 3-5 วัน) ที่สมบูรณ์และกำลังจะให้ลูกมาใช้

ข. การเตรียมน้ำเสียเพื่อใช้ในการทดลอง

น้ำเสียที่ใช้เลี้ยงไรแดง คือน้ำโสโครกจากแหล่งชุมชน (Domestic Waste Water) ที่ยังไม่ได้ผ่านการกำจัด ซึ่งเก็บจากรางดักตะกอนหนัก (Grit chamber) ในโรงกำจัดน้ำโสโครกห้วยขวาง (รูปที่ 4) และต่อไปจะแทนด้วยคำว่า "น้ำเสีย" หรือ "น้ำเสียชุมชน" โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เก็บในช่วงที่มี BOD สูง

การทดลองนี้จะเก็บน้ำในช่วงเช้าเวลา 7.00-8.30 นาฬิกา ของวันธรรมดา เพื่อให้มีน้ำเสียที่เก็บมีคุณภาพใกล้เคียงกันตลอดการทดลอง (ยกเว้นกรณีจำเป็นจึงเก็บวันหยุดราชการ)

2. การปรับสภาพน้ำเสียก่อนใช้ทดลอง

ตักน้ำเสียจากรางดักตะกอนหนักรวมลงในภาชนะ กวนน้ำเล็กน้อยแล้วปล่อยให้ตกตะกอน 7-10 นาที จากนั้นตักส่วนผิวหน้าซึ่งเป็นพวกตะกอนเบาและคราบไขมันออกไปให้มากที่สุด ค่อย ๆ เทเอาน้ำส่วนบนมาใช้โดยทิ้งพวกตะกอนหนักที่ตกได้ภายใน 7-10 นาที ออกไปวิธีนี้จะช่วยควบคุมค่า BOD ให้อยู่ในช่วงที่ต้องการอย่างง่าย ๆ ส่วนการกำจัดคราบที่ผิวเพื่อให้ผิวน้ำรับออกซิเจนจากอากาศได้ดีขึ้น

### 3. การเก็บรักษา

ถ้ายังไม่ใช้น้ำที่เก็บมาในทันที จะรักษาโดยเก็บในตู้เย็น (2-5 °C) ไม่เกิน 7 วัน โดยจะมีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียก่อนนำไปใช้ ยกเว้นการทดลองเรื่อง "BOD ที่เริ่มมีผลต่อการเจริญเติบโตของไรแดง" ที่จำเป็นต้องใช้น้ำเสียเดิม จึงเก็บรักษาในตู้เย็นตลอดการทดลอง

#### ค. เทคนิคบางประการที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. การลุ่มน้ำไรแดง

###### 1.1 การลุ่มน้ำเมื่อเลี้ยงไรแดงในขวดแก้วที่ใส่น้ำเสีย 200 มิลลิลิตร

ใช้ช้อนก้นกลมขนาดจุเต็มช้อน 30 มิลลิลิตร ค่อย ๆ กวนจนไรแดงกระจายทั่วภาชนะ จึงตักขึ้นมาเติมช้อนเทลงในจานแก้ว (petri-dish) แล้วใช้หลอดหยด (dropper) ค่อย ๆ ตูดน้ำแล้วคืนไรแดงที่นับแล้วลงในภาชนะเดิม ลุ่มน้ำ 3 ครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย

###### 1.2 การลุ่มน้ำเมื่อเลี้ยงไรแดงในบีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร (ที่ใส่น้ำเสีย 1.8 ลิตร)

วิธีการทำนองเดียวกับข้อ 1.1 แต่เปลี่ยนขนาดช้อนก้นกลมที่ใช้ลุ่มมาเป็นขนาดจุเต็มช้อน 100 มิลลิลิตร (รูปที่ 5)

###### 1.3 การลุ่มน้ำเมื่อเลี้ยงไรแดงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร

หลักการทำนองเดียวกับข้อ 1.1 แต่ลุ่มน้ำต่อเนื่องกัน 2 ชั้น ชั้นที่ 1 ใช้กระบวยพลาสติกขนาดจุ 2 ลิตร ค่อย ๆ กวนน้ำในอ่างจนไรแดงกระจายทั่ว แล้วตักน้ำขึ้นมาอย่าให้เต็มกระบวย ลุ่มต่อด้วยชั้นที่ 2 โดยใช้ช้อนก้นกลมขนาดจุ 100 มิลลิลิตร ลุ่มจากกระบวยอีกต่อหนึ่ง (รูปที่ 6 และ 7)

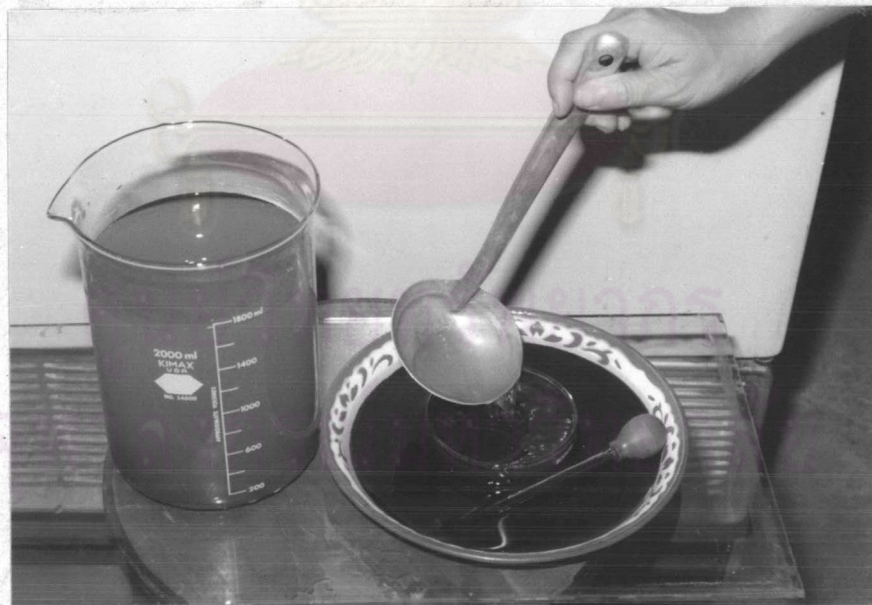
## 2. การสกัดผลผลิตไรแดงออกจากหน่วยเพาะเลี้ยง

### 2.1 การสกัดผลผลิตไรแดงออก เมื่อเลี้ยงในบีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร

ใช้วิธีเดียวกับข้อ 1.2 แต่ตักน้ำขึ้นมาเทผ่านกระชอน (ผ้ากรองขนาด 100 ไมครอน) (รูปที่ 8) จนได้ปริมาณน้ำเท่ากับปริมาณไรแดงที่ต้องการสกัดออก (เช่นถ้าต้องการสกัดไรแดงออกครึ่งหนึ่ง ก็ตักน้ำออกครึ่งหนึ่งของปริมาณน้ำทั้งหมด) นำผลผลิตไรแดงและตะกอนที่ติดบนกระชอนออกไป ส่วนน้ำที่ผ่านกระชอนให้ค่อย ๆ เทคืนลงในภาชนะเดิม

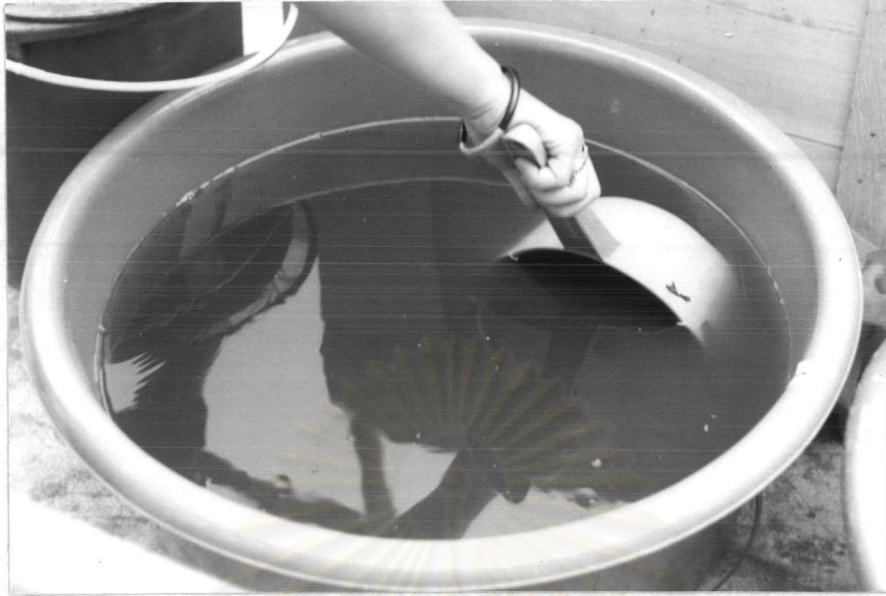
### 2.2 การสกัดผลผลิตไรแดง เมื่อเลี้ยงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร

ใช้หลักการเหมือนข้อ 2.1 ทุกประการ แต่เปลี่ยนจากช้อนกันกลมมาเป็นกระบวยพลาสติกขนาดจุ 2 ลิตร (รูปที่ 9)



รูปที่ 5 การลุ่มน้ำไรแดงในบีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร





รูปที่ 6 การลุ่มน้ไบรแดงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร (ขั้นที่ 1)



รูปที่ 7 การลุ่มน้ไบรแดงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร (ขั้นที่ 2)



รูปที่ 8 การตักผลผลิตไรแดงออกเมื่อเลี้ยงในปิกรเกอร์ขนาด 2 ลิตร



รูปที่ 9 การตักผลผลิตไรแดงออกเมื่อเลี้ยงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร

### 3. การถ่ายเทน้ำเสียในระหว่างการเพาะเลี้ยง

#### 3.1 การถ่ายเทน้ำเสียเมื่อเลี้ยงไรแดงในบีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร

วิธีการเหมือนข้อ 2.1 โดยตักน้ำที่ผ่านกระชอนตามปริมาตรที่ต้องการถ่ายออก แต่คืนไรแดงและตะกอนที่ติดบนกระชอนลงในภาชนะเดิม แล้วทิ้งน้ำเสียที่ผ่านกระชอนไป หรือนำน้ำเสียที่ผ่านกระชอนนี้ไปวิเคราะห์หาคุณภาพน้ำเสียหลังการเพาะเลี้ยง จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำเสียที่เก็บมาใหม่ลงในภาชนะในปริมาตรเดียวกับที่ถ่ายออก

#### 3.2 การถ่ายเทน้ำเสียเมื่อเลี้ยงไรแดงในอ่างพลาสติกที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร

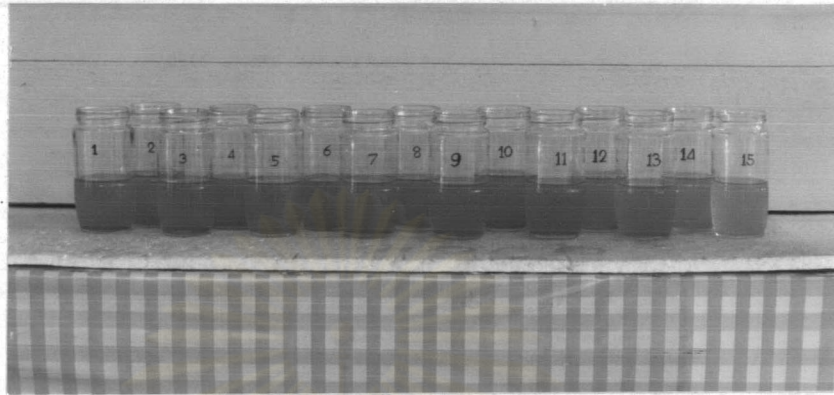
ใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.1 แต่ใช้กระบวยพลาสติกขนาดจุ 2 ลิตรแทน

### ง. การทดลองเพื่อศึกษาชีววิทยาบางประการของไรแดงเมื่อเลี้ยงในน้ำเสียชุมชน

#### 1. การหาช่วงชีวิต เวลาที่ให้ลูก และจำนวนลูกของไรแดงที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบ Parthenogenesis

เตรียมแม่ไรแดงที่กำลังจะให้ลูกในขวดที่มีน้ำประปาขวดละ 1 ตัว ประมาณ 20 ขวด รอจนมันปล่อยลูกถึงลุ่มลูกที่เพิ่งเกิดมาใช้ (ลุ่มลูก 1 ตัว จากตัวแม่ 1 ตัว) เพียง 15 ตัว นำลูกที่ได้มาเลี้ยงในขวดแก้วที่ใส่น้ำเสียไว้ 100 มิลลิลิตร ขวดละ 1 ตัว จำนวน 15 ขวด (รูปที่ 10) เลี้ยงจนมันโตและให้ลูก หลังจากให้ลูกแต่ละครั้งจึงแยกแม่ตัวเดิมออกไปเลี้ยงในขวดที่มีน้ำเสียใหม่ในปริมาตรเท่าเดิม (100 มล.) จดเวลาและจำนวนลูกที่ได้แต่ละครั้งจนกระทั่งตัวแม่ตายไป (การทดลองในข้อ ง นี้จะวิเคราะห์เฉพาะคุณภาพน้ำเสียก่อนเลี้ยงเท่านั้น)

ในการแยกตัวแม่ออกและนับจำนวนลูกที่เพิ่งเกิดนั้น ต้องคอยเฝ้าติดตามเป็นระยะ โดยเฉพาะเวลาที่กำลังจะปล่อยลูกจะติดตามดุก ๆ 20-30 นาที . เมื่อพบว่าตัวแม่ปล่อยลูกแล้ว จะแยกตัวแม่ออกโดยเทน้ำเสียลงในจานแก้ว ใช้ขวดชนิดน้ำกลั่นค่อย ๆ ชะล้างให้ไรแดงที่อาจติดค้างอยู่ในขวดออกมาให้หมด ใช้หลอดหยดดูดเฉพาะตัวแม่ออกไปเลี้ยงในขวดใหม่ ส่วนลูกที่ได้ใช้หลอดหยดดูดนับทีละตัว การเลี้ยงไรแดงรุ่นแรกนี้จะแทนด้วยสัญลักษณ์  $F_0$



รูปที่ 10 การทดลองเพื่อหาช่วงชีวิต เวลาที่ให้ลูกและจำนวนลูกของไรแดงที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบ Parthenogenesis

2. การหาช่วงชีวิต เวลาที่ให้ลูก และจำนวนลูกของไรแดง ที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบ Parthenogenesis ของไรแดง 5 รุ่น ต่อเนื่องกัน

การทดลองต่อจากข้อ 1 และทำในทำนองเดียวกัน เริ่มโดยแยกลูกที่ได้จากครอกแรกของ  $F_0$  (ลูก  $F_0$  ให้เป็น  $F_1$ ) การแยกนั้นทำโดยลุ่ม  $F_1$  1 ตัวที่เกิดจาก  $F_0$  1 ตัว (ดังนั้นจะได้  $F_1$  15 ตัว) นำ  $F_1$  มาเลี้ยงในขวด ๆ ละ 1 ตัว เช่นเดียวกับ  $F_0$  โดยจัดให้ลำดับตัวตรงกัน เช่น  $F_1$  ตัวที่หนึ่งจะเป็นลูกของ  $F_0$  ตัวที่หนึ่ง และเมื่อ  $F_1$  ให้ลูกครอกแรก (ลูก  $F_1$  ให้เป็น  $F_2$ ) ก็จะมีลุ่ม  $F_2$  มาทดลองในทำนองเดียวกัน และทำจนถึง  $F_4$

จ. การทดลองเพื่อหา BOD ของน้ำเสียชุมชนที่เริ่มมีผลต่อการเจริญเติบโตของไรแดง

1. การเตรียมน้ำเสียเพื่อให้มี BOD ต่าง ๆ กัน 6 ค่า

เก็บน้ำเสียจากรางตากตะกอนหนักปล่อยให้ตกตะกอนนาน 1.5-2.0 ชั่วโมง ตักคราบที่ผิวทิ้งไป แยกน้ำเสียส่วนใสและน้ำเสียส่วนตะกอนออกจากกัน แล้วนำทั้งสองส่วนนี้

มาผสมกันตามอัตราส่วนให้ได้น้ำเสียที่มี BOD<sub>5</sub> ต่าง ๆ กัน 6 ค่า คือประมาณ 165.0 mg/1 (น้ำเสียส่วนใส), 320.5 mg/1 (ส่วนใส : ส่วนตะกอน = 4 : 1), 440.6 mg/1 (ส่วนใส : ส่วนตะกอน = 3:2), 603.0 mg/1 (ส่วนใส : ส่วนตะกอน = 2:3), 822.8 mg/1 (ส่วนใส : ส่วนตะกอน = 1:4) และ 932.7 mg/1 (น้ำเสียส่วนตะกอน) ปริมาณน้ำเสียที่มี BOD ต่าง ๆ กันนี้ต้องเตรียมให้พอใช้ตลอดการทดลอง โดยเก็บรักษาในตู้เย็น (2-5°ซ)

## 2. การทดลองเพื่อหา BOD ของน้ำเสีย ที่เริ่มมีผลต่อการเจริญเติบโตของไรแดง

### 2.1 การทดลองเลี้ยงไรแดงในน้ำเสียที่มี BOD ต่าง ๆ กัน 6 ค่า โดยไม่มีการเปลี่ยนน้ำเสียให้ตลอดการทดลอง

เลี้ยงไรแดง 5 ตัว ต่อน้ำเสีย 200 มิลลิลิตรต่อ 1 ขวด โดยใช้น้ำเสียที่มี BOD ต่าง ๆ กัน 6 ค่าจากที่เตรียมไว้ ทดลอง 5 ขวดต่อน้ำเสียที่มี BOD ค่าหนึ่งปล่อยให้ไรแดงขยายพันธุ์จนถึงวันที่ 4 จึงเริ่มนับจำนวนทุกวันจนกระทั่งมันเริ่มลดจำนวนลงถึงหยุดการทดลองแล้วนำน้ำเสียหลังเลี้ยงและน้ำเสียจากหน่วยควบคุมออกไปวิเคราะห์คุณภาพ (หน่วยควบคุมนั้นทดลองเหมือนหน่วยเพาะเลี้ยงแต่ไม่มีการเลี้ยงไรแดง)

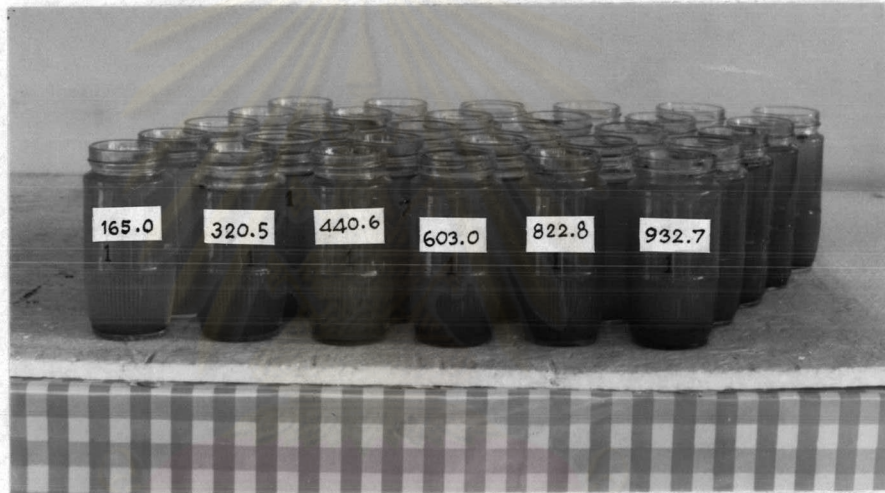
การนับไรแดงนั้นถ้ามีความหนาแน่นไม่เกิน 300 ตัว/200 มิลลิลิตรจะนับจำนวนทั้งหมด แต่ถ้าหนาแน่นเกินกว่านี้จะลุ่มนับตามข้อ ค.1.1 ส่วนการนำน้ำเสียหลังเลี้ยงไปวิเคราะห์ จะรวมน้ำเสียจาก 5 ขวด ที่เริ่มต้นด้วย BOD ค่าเดียวกัน โดยใช้หลอดหยดคัดไรแดงที่ยังเป็นอยู่ออกไปให้มากที่สุดและสูญเสียตะกอนน้อยที่สุด (ไม่แยกไรแดงออกโดยการเทน้ำเสียผ่านกระดาษกรอง) แล้วจึงรวมน้ำเสียหลังเลี้ยงทั้ง 5 ขวดเข้าด้วยกัน

### 2.2 การทดลองเลี้ยงไรแดงในน้ำเสียที่มี BOD ต่าง ๆ กัน 6 ค่า โดยมีการเปลี่ยนน้ำเสียที่มี BOD ค่าเดิมให้ทุกวันเว้นวัน

ทดลองเหมือนข้อ 2.1 แต่มีการเปลี่ยนน้ำเสียที่มี BOD ค่าเดิมให้ทั้งหมด 200 มิลลิลิตรทุกวันเว้นวัน (รูปที่ 11) เริ่มนับจำนวนตั้งแต่เริ่มเปลี่ยนน้ำเสียให้



ครั้งแรก (วันที่ 2) จนไรแดงเริ่มลดจำนวนลงจึงหยุดการทดลอง ในกรณีที่ไม่เห็นการเพิ่มหรือลดจำนวนอย่างเด่นชัดเมื่อเลี้ยงไปได้ระยะหนึ่งในน้ำเสียที่มี BOD ค่าใดก็ตาม จะเริ่มเปลี่ยนน้ำเสียให้ทุกวัน เพื่อให้เห็นผลของ BOD เด่นชัดขึ้น และการทดลองนี้ไม่มีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียหลังเลี้ยง



รูปที่ 11 การทดลองเพื่อหา BOD ของน้ำเสียชุมชน ที่เริ่มมีผลต่อการเจริญเติบโตของไรแดง

ฉ. การทดลองเพื่อศึกษาอัตราการขยายพันธุ์ของไรแดงในน้ำเสียชุมชน

1. การทดลองเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสม เพื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยไม่มีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียหลังเลี้ยง (วิเคราะห์เฉพาะน้ำเสียก่อนเลี้ยงเท่านั้น)

1.1 การหาจำนวนไรแดงเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อน้ำเสีย 1.8 ลิตร

เลี้ยงไรแดงโดยเริ่มต้นด้วยจำนวนตัวต่าง ๆ กันคือ 10, 25, 50, 100 และ 150 ตัวต่อน้ำเสีย 1.8 ลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร ทำชุดละ 5 บีกเกอร์ ปล่อยให้ไรแดงขยายพันธุ์จนถึงวันที่ 4 จึงเริ่มลุ่มนับทุกวัน จนเริ่มลดจำนวนลงจึงหยุดการทดลอง นำจำนวนตัวเริ่มต้นที่ให้ผลดีที่สุดไปใช้ในการทดลองต่อไป

## 1.2 การหาปริมาณไรแดงที่เหมาะสมที่จะถูกตัดออก (เป็นผลผลิต) แต่ละครึ่ง

เลี้ยงไรแดง 50 ตัวต่อหน้าเลี้ยง 1.8 ลิตร (ผลจากข้อ 1.1) การเลี้ยงเป็นแบบให้หน้าเลี้ยงเริ่มต้นครึ่งเดียวไม่มีการเติมให้อีก ปล่อยให้ไรแดงขยายพันธุ์ไปถึงวันที่ 4 จึงเริ่มลุ่มนับทุกวัน ส่วนการตัดไรแดงออกนั้นจะตัดออกในปริมาณต่าง ๆ กัน 4 วิธีคือ  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{4}$  และ  $\frac{3}{5}$  ของปริมาณไรแดงทั้งหมดในบีกเกอร์ (ทดลองวิธีละ 5 บีกเกอร์) โดยใช้เวลาหนาแน่นประมาณ 100 ตัว/100 มิลลิลิตรเป็นหลัก คือเริ่มตัดออกเมื่อมีความหนาแน่น 100 ตัว/100 มิลลิลิตร (1,800 ตัว/1.8 ลิตร) ขึ้นไป และหยุดตัดออกเมื่อต่ำกว่าความหนาแน่นนี้ แต่ยังคงลุ่มนับต่อไปจนไม่เห็นการเพิ่มจำนวนขึ้นอีกจึงหยุดการทดลอง

## 1.3 การหาปริมาณหน้าเลี้ยงที่เหมาะสมในการถ่ายเทให้กับหน่วยเพาะเลี้ยงทุก 4 วัน

ทดลองในทำนองเดียวกับข้อ 1.2 แต่เปลี่ยนจากการตัดผลผลิตไรแดงออกมาเป็นการถ่ายเทหน้าเลี้ยงออกในปริมาตรที่ต่างกัน 4 วิธีคือ  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{4}$  และ  $\frac{3}{5}$  ของปริมาตรทั้งหมด (1.8 ลิตร) แล้วเติมด้วยน้ำเลี้ยงที่เก็บมาใหม่ลงไปในปริมาตรเดียวกับที่ถ่ายออกทุก 4 วัน โดยไม่มีการตัดผลผลิตไรแดงออกเลย การลุ่มนับและการถ่ายเทหน้าเลี้ยงครั้งแรกเริ่มตั้งแต่วันที่ 5 ลุ่มนับไปทุกวันจนกระทั่งหลังการถ่ายน้ำครั้งที่ 9 และไรแดงเริ่มลดจำนวนลงจึงหยุดการทดลอง

## 1.4 การทดลองเลี้ยงไรแดงโดยมีการตัดผลผลิตไรแดงออกเป็นระยะ และมีการถ่ายเทหน้าเลี้ยงให้ทุก 4 วัน

การทดลองนี้จะนำวิธีที่ให้ผลดีจากข้อ 1.1-1.3 มารวมกัน ทดลอง 5 บีกเกอร์ และใช้เทคนิคการทดลองดังนี้

1.4.1 ถ่ายเทหน้าเลี้ยงให้ครั้งละ  $\frac{1}{2}$  ของ 1.8 ลิตร ทุก 4 วัน เริ่มถ่ายเทครั้งแรกวันที่ 5 จนครบ 9 ครั้ง

1.4.2 ตักผลผลิตไรแดงออกเป็นระยะ โดยช่วงแรกจะตักออกครึ่งละ  $\frac{1}{2}$  ของปริมาณไรแดงทั้งหมดในบีกเกอร์เมื่อมีความหนาแน่น 200 ตัว/100 มิลลิลิตร (3,600 ตัว/1.8 ลิตร) ขึ้นไป ต่อมาในช่วงหลังเมื่อไรแดงมีผลผลิตต่ำลงจะเปลี่ยนเป็นการตักไรแดงออกครึ่งละ  $\frac{1}{3}$  ของปริมาณไรแดงทั้งหมดเมื่อมีความหนาแน่น 100 ตัว/100 มิลลิลิตร (1,800 ตัว/1.8 ลิตร) ขึ้นไป จนจบการทดลอง การตักไรแดงออกนั้นนอกจากจะใช้ความหนาแน่นเป็นหลักแล้ว ยังต้องอาศัยการพิจารณาความสมบูรณ์และการเพิ่มหรือลดจำนวนของมันควบคู่ไปด้วย

2. การทดลองเลี้ยงไรแดงโดยมีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียทั้งก่อนและหลังการเพาะเลี้ยง

การทดลองนี้จะเลือกเฉพาะวิธีที่ให้ผลดีในข้อ 1.1-1.4 มาทดลองซ้ำแบบเดิมโดยมีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียหลังเลี้ยงเป็นระยะควบคู่ไปด้วย ดังนี้

2.1 การเลี้ยงไรแดงเมื่อเริ่มด้วยจำนวน 50 ตัว ต่อน้ำเสีย 1.8 ลิตร

การทดลองเหมือนข้อ 1.1 โดยเลือกเฉพาะที่เริ่มด้วยไรแดง 50 ตัว/1.8 ลิตร แต่มีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียหลังเลี้ยงเป็นระยะครอบคลุมช่วงที่ไรแดงมีปริมาณสูงสุด น้ำเสียหลังเลี้ยงที่วิเคราะห์จะรวมจาก 5 บีกเกอร์ในปริมาตรที่เท่า ๆ กัน เป็นตัวแทนของน้ำเสียหลังเลี้ยง และมีน้ำเสียจากหน่วยควบคุมซึ่งทดลองเหมือนกันทุกประการแต่ไม่มีการเลี้ยงไรแดง นำมาวิเคราะห์คุณภาพพร้อมกับหน่วยเพาะเลี้ยงด้วย

2.2 การเลี้ยงไรแดงเมื่อมีการตักผลผลิตออกครึ่งละ  $\frac{1}{3}$  ของปริมาณไรแดงทั้งหมด

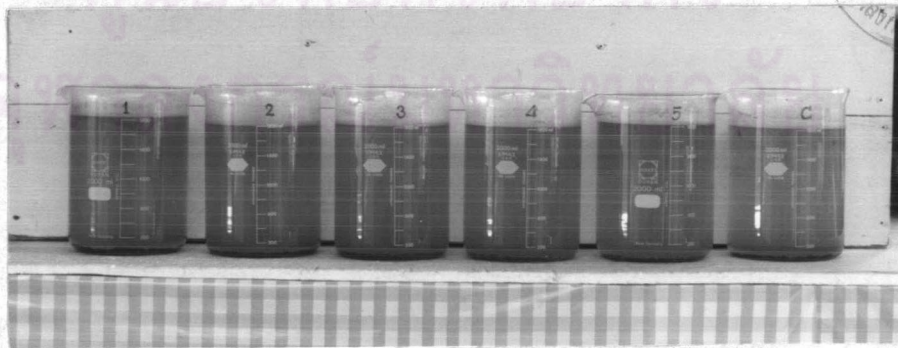
ทดลองเหมือนข้อ 1.2 โดยเลือกเฉพาะการตักไรแดงออกครึ่งละ  $\frac{1}{3}$  และมีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียหลังเลี้ยงและน้ำเสียควบคุมเป็นระยะในทำนองเดียวกับข้อ 2.1 ด้วย นอกจากนั้นยังเพิ่มการทดลองแบบข้อ 2.1 ทุกประการ เพื่อเป็นการทดลองเปรียบเทียบคู่ไปกับการทดลองนี้ด้วย (จัดให้การทดลองแบบข้อ 2.1 เป็นหน่วยควบคุมที่มีการขลิ้งไรแดง)

### 2.3 การเลี้ยงไรแดงเมื่อมีการถ่ายเทน้ำเสียครั้งละ $\frac{1}{2}$ ของ 1.8 ลิตรทุก 4 วัน

ทดลองเหมือนข้อ 1.3 โดยเลือกเฉพาะการถ่ายเทน้ำเสียครั้งละ  $\frac{1}{2}$  แต่มีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียก่อนเลี้ยงที่เติมให้กับหน่วยเพาะเลี้ยง และน้ำเสียหลังเลี้ยงที่ถ่ายออกทุกครั้ง (ทุก 4 วัน) โดยรวมน้ำเสียในปริมาณที่เท่า ๆ กันจากทั้ง 5 ปีกเกอร์ มาเป็นตัวแทนของน้ำเสียหลังเลี้ยง และมีหน่วยควบคุมที่ไม่เลี้ยงไรแดง 1 ปีกเกอร์ การทดลองนี้จะเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงให้นานขึ้นโดยถ่ายเทน้ำเพิ่มเป็น 14 ครั้งในช่วงการเลี้ยงประมาณสองเดือน

### 2.4 การทดลองเลี้ยงไรแดงโดยมีการชักผลผลิตไรแดงออกเป็นระยะ และมีการถ่ายเทน้ำเสียให้ทุก 4 วัน

ทดลองเหมือนข้อ 1.4 ทุกประการ โดยมีการปรับปรุงเทคนิคบ้างตามความเหมาะสม โดยในช่วงสิบวันแรกที่ไรแดงมีอัตราการขยายพันธุ์สูงจะชักผลผลิตออกครั้งละ  $\frac{1}{2}$  (เมื่อมีความหนาแน่น 3,600 ตัว/1.8 ลิตรขึ้นไป) หลังจากนั้นจะชักผลผลิตออกครั้งละ  $\frac{1}{3}$  (เมื่อมีความหนาแน่น 1,800 ตัว/1.8 ลิตรขึ้นไป) โดยมีการถ่ายเทน้ำเสียให้ครั้งละ  $\frac{1}{2}$  ทุก 4 วัน และเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงตลอดจนการนำน้ำเสียทั้งก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงและหน่วยควบคุมไปวิเคราะห์ในทำนองเดียวกับข้อ 2.3 ทุกประการ (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 การทดลองเลี้ยงไรแดงด้วยน้ำเสียชุมชนในปีกเกอร์ขนาด 2 ลิตร โดยมีการชักผลผลิตไรแดงออกเป็นระยะ และถ่ายเทน้ำเสียครั้งละ  $\frac{1}{2}$  ของ 1.8 ลิตรทุก 4 วัน

ข. การเพาะเลี้ยงไรแดงให้ได้จำนวนมากและต่อเนื่องในน้ำเสียชุมชน

ทดลองในบริเวณทางเดินบนรางตักตะกอนหนัก ของโรงกำจัดน้ำโสโครกห้วยขวาง เนื่องจากเป็นบริเวณกลางแจ้ง จึงต้องทำที่กำบังจากฝนหรือแดดที่จัดเกินไป การทดลอง แบ่งเป็น

1. การหาจำนวนไรแดงเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อน้ำเสีย 30 ลิตร

เลี้ยงไรแดง 400 และ 800 ตัวต่อน้ำเสีย 30 ลิตร (ประยุกต์จาก 25 และ 50 ตัว ต่อ 1.8 ลิตร ในข้อ จ.1.1) ในอ่างพลาสติก ทดลองวิธีละ 2 อ่าง โดยให้น้ำเสีย เพียงครั้งเดียวแล้วปล่อยให้ไรแดงขยายพันธุ์ถึงวันที่ 4 จึงลุ่มนับทุกวัน เมื่อเริ่มลดจำนวนลง จึงหยุดการทดลอง สำหรับการทดลองนี้จะหาเฉพาะค่า BOD ของน้ำเสียก่อนเลี้ยงเท่านั้น

2. การเพาะเลี้ยงไรแดงให้ได้จำนวนมากและต่อเนื่องในน้ำเสียชุมชน

เป็นการทดลองที่ใช้ผลและประสบการณ์ที่ผ่านมาทั้งหมดมาประยุกต์ใช้ โดยเลี้ยงไรแดงในอ่างพลาสติก เริ่มด้วยไรแดง 400 ตัว ต่อน้ำเสีย 30 ลิตร (ผลจากข้อ 1) ทดลอง 3 อ่าง และอ่างควบคุมที่ไม่มีไรแดงอีก 1 อ่าง (รูปที่ 13) การลุ่มนับ การถ่ายเทน้ำเสีย การตักผลผลิตไรแดงออก และการถ่ายเทน้ำเสียออกวิเคราะห์คุณภาพ ใช้หลักการเดียวกับข้อ จ.2.4 ทุกประการ สำหรับการตักไรแดงออกนั้นยังคงใช้ความหนาแน่นเดิมเป็นหลัก คือในช่วงสิบวันแรกก็นับอัตราการขยายพันธุ์จึงจะตักผลผลิตออกครั้งละ  $\frac{1}{2}$  ของปริมาณไรแดงทั้งหมดในวันนั้น (เมื่อมีความหนาแน่น 200 ตัว/100 มล. หรือ  $60 \times 10^3$  ตัว/30 ลิตร ขึ้นไป) จากนั้นจะตักผลผลิตออกครั้งละ  $\frac{1}{3}$  (เมื่อมีความหนาแน่น 100 ตัว/100 มล. หรือ  $30 \times 10^3$  ตัว/30 ลิตร ขึ้นไป) โดยมีการถ่ายเทน้ำเสียครั้งละ  $\frac{1}{2}$  ของ 30 ลิตร ทุก 4 วัน ในการเลี้ยงนาน 2 เดือน (ถ่ายเทน้ำเสีย 14 ครั้ง)



รูปที่ 13 การทดลองเลี้ยงไรแดงด้วยน้ำเสียชุมชนในอ่างพลาสติก ที่ใส่น้ำเสีย 30 ลิตร เพื่อให้ได้จำนวนมากและต่อเนื่อง

ช. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1. ทางกายภาพ

อุณหภูมิใช้เทอร์โมมิเตอร์สำหรับลิ กลิน และการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่สังเกตได้

จะใช้การสังเกตของผู้วิจัย

2. ทางเคมี วิเคราะห์ตาม Standard Methods (APHA, 1975)

2.1  $\text{NO}_3^-$ -N ใช้วิธี Brucine Method

2.2 Total  $\text{PO}_4$ -P ใช้วิธี Persulfate Digestion

ตามด้วย Vanadomolybdophosphoric Acid Colorimetric Method

2.3 pH ใช้ pH meter

2.4 Dissolved Oxygen (DO) ใช้วิธี Azide Modification of The Winkler Method (การทดลองข้อ ๒.2 เท่านั้นที่ทำการหา DO)

3. ทางชีวภาพ วิเคราะห์ตาม Standard Methods (APHA, 1975)

3.1 Biochemical Oxygen Demand (BOD)

3.2 Total Bacteria ใช้วิธี Standard Plate count บน Nutrient Agar (DIFCO)

3.3 E. coli ใช้หลักการเดียวกับ Standard Plate Count โดยทำ Direct Plate Count บน Selective media (EMB Agar (DIFCO)) ซึ่งจะปรากฏลักษณะเฉพาะของโคโลนิของ E. coli บน EMB คือ โคโลนิสีม่วงแดงและมีสีเข้มมันวาวคล้ายโลหะ และตรวจสอบโคโลนิที่สงสัยด้วยวิธี IMViC Tests

ฉ. สถานที่ในการทดลอง

1. การทดลองในหน่วยเล็ก (ขวดขนาด 200 มล. หรือปีเกอร์ 2 ลิตร ในการทดลอง ข้อ ง-จ) ทดลองในห้องปฏิบัติการบริเวณโรงพยาบาลเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน ของ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยทำในตู้ที่ กันยูงหรือแมลงได้

2. การทดลองในหน่วยใหญ่ (อ่างใส่น้ำเสีย 30 ลิตร ในการทดลองข้อ ข.) ทดลองนอกห้องปฏิบัติการบริเวณโรงบำบัดน้ำโสโครกห้วยขวาง โดยทำที่กำแพงฝนและแดด ที่จัดเก็บไป และใช้ในล้อนตาที่คลุมอ่างทดลอง เพื่อกันยูงหรือแมลง

3. การทดลองวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี และชีววิทยา ทดลองในห้องปฏิบัติการ ของภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ญ. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้วิธีทางสถิติ (ลรัญ, 2519) ดังนี้

### 1. Analysis of Variance (ANOVA)

เป็นการทดสอบว่าแต่ละวิธี (treatment) ที่ใช้ในการทดลองมีความแตกต่างกันหรือไม่ ถ้าพบว่ามี ความแตกต่างระหว่างวิธี จะทดสอบต่อตามวิธีในข้อ 2

### 2. Duncan's New Multiple Range Test (Duncan)

เป็นการทดสอบว่าวิธีการทดลองคู่ใดบ้างที่ให้ผลการทดลองแตกต่างกัน

จากการทดสอบด้วย ANOVA ถ้าพบว่ามี ความแตกต่างระหว่างวิธีการทดลอง หมายความว่า วิธีที่ใช้ทั้งหมดในการทดลองเรื่องหนึ่ง บางคู่อาจให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน แต่บางคู่อาจให้ผลไม่ต่างกัน จึงต้องทดสอบต่อด้วยวิธีของ Duncan เพื่อหาว่าวิธีการทดลอง คู่ใดบ้างที่แตกต่างกัน แต่ถ้าการทดสอบด้วย ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างวิธีการทดลองก็สามารถสรุปได้เลยไม่ต้องทดสอบต่อ