

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการทดลอง

#### การเตรียมและปรับสภาพก่อนการทดลอง

##### ปลาทดลอง

นำปลากะพงขาวอายุ 10 วัน ที่ความเต็มเริ่มต้น 30 ส่วนในพันส่วน (ppt) จากโรงเพาะฟักของปราโมทย์ฟาร์ม จังหวัดชลบุรี มาอนุบาลที่ห้องเพาะเลี้ยง ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยแบ่งลูกปลากะพงขาวเป็น 4 ชุด เพื่อปรับสภาพความเต็มที่ใช้ในการทดลองดังนี้

- ชุดที่ 1 เลี้ยงลูกปลากะพงขาวจำนวน 1,000 ตัว ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่ระดับความเต็ม 30 ppt
- ชุดที่ 2 เลี้ยงลูกปลากะพงขาวจำนวน 1,000 ตัว ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่ระดับความเต็ม 30 ppt ทำการปรับระดับความเต็มให้ลดลงวันละ 2 ppt จนได้ความเต็ม 20 ppt
- ชุดที่ 3 เลี้ยงลูกปลากะพงขาวจำนวน 1,000 ตัว ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่ระดับความเต็ม 30 ppt ทำการปรับระดับความเต็มให้ลดลงวันละ 2 ppt จนได้ความเต็ม 10 ppt
- ชุดที่ 4 เลี้ยงลูกปลากะพงขาวจำนวน 1,000 ตัว ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่ระดับความเต็ม 30 ppt ทำการปรับระดับความเต็มให้ลดลงวันละ 2 ppt จนได้ความเต็ม 0 ppt

เมื่อปรับสภาพลูกปลากะพงขาวตามระดับความเต็มที่ต้องการแล้ว ทำการอนุบาลต่อไปจนอายุ 35 วัน จากนั้นจึงคัดเลือกปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อใช้ในการทดลอง

### อาหารในช่วงการปรับสภาพ

อาหารที่ใช้ในการอนุบาลครั้งนี้แบ่งออกได้ 3 ชนิดตามความเหมาะสมกับอายุของลูกปลา (ตารางที่ 6) ได้แก่ อาร์ทีเมียวัยอ่อน เคยบดละเอียดและอาหารสำเร็จรูป โดยอาหารทดลองสูตร 4 ที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำมัน(จะอธิบายต่อไปภายหลัง) โดยนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ตามความเหมาะสมกับขนาดของลูกปลากะพงขาว

ตารางที่ 6 อาหารที่ใช้ในการปรับสภาพก่อนทำการทดลอง

อายุ	อาหารที่ใช้
11 - 17 วัน	อาร์ทีเมีย
18 วัน	อาร์ทีเมียและเคยบดละเอียด ในอัตราส่วน 50 : 50
19 วัน	อาร์ทีเมียและเคยบดละเอียด ในอัตราส่วน 50:50 ใน 2 มือแรก และให้ในอัตราส่วน 20:80 ใน 2 มือหลัง
20 - 22 วัน	เคยบดละเอียด
23 - 25 วัน	เคยบดละเอียดกับอาหารเม็ดสูตรที่ 4 ในอัตราส่วน 50 : 50
26 - 28 วัน	เคยบดละเอียดกับอาหารเม็ดสูตรที่ 4 ในอัตราส่วน 20 : 80
29 - 35 วัน	อาหารทดลองที่ไม่มีส่วนผสมของ น้ำมัน

### ระบบและวิธีการเลี้ยงในช่วงปรับสภาพ

ระบบน้ำที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นระบบปิดที่มีการให้อากาศอย่างเพียงพอ ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำในช่วงเช้า กลางวันและเย็น ก่อนให้อาหารครั้งละ 80 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำทั้งหมด พร้อมทั้งทำการดูดมูลปลาและเศษอาหารก่อนการให้อาหารทุกมื้อ

ให้อาหารวันละ 4 ครั้ง (9.00, 12.00, 15.00 และ 18.00 น.) ในระหว่างลูกปลากะพงขาวอายุ 10-28 วัน และลดลงเหลือวันละ 3 ครั้ง (9.00, 13.00, และ 17.00 น.) ระหว่างอายุ 29-35 วัน โดยให้ในปริมาณที่ปลากินจนอิ่ม

### การทดลองผลของความเค็มและความต้องการกรดไขมันของปลากะพงขาว

ทำการออกแบบทดลองเป็น Factorial design (4x4) โดยใช้ความเค็มแตกต่างกัน 4 ระดับ (0, 10, 20 และ 30 ppt) และอาหารที่มีระดับกรดไขมันที่จำเป็นกลุ่ม n-3 HUFA แตกต่างกัน 4 ระดับรวม 16 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

#### ปลาทดลอง

สุ่มคัดลูกปลากะพงขาวอายุ 36 วัน ภายหลังจากการปรับสภาพในแต่ละระดับความเค็ม ที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน (1.00-1.09 กรัม) ลงในตู้ทดลอง (กระจก) ขนาด 30x60x30 เซนติเมตร<sup>3</sup> ที่มีปริมาตรน้ำประมาณ 50 ลิตร โดยปล่อยอัตราตู้ละ 20 ตัว ทำการสุ่มชุดการทดลองและอาหารทั้ง 4 ชุด โดยวิธีการสุ่มตลอด เริ่มนับการทดลองเมื่อลูกปลาอายุ 40 วัน (หลังจากลูกปลาได้รับการปรับสภาพเข้ากับตู้ทดลองเป็นเวลา 4 วัน) ระยะเวลาทดลองทั้งสิ้น 8 สัปดาห์

#### อาหารทดลอง

ผลิตอาหารที่มีระดับ n-3 HUFA ต่างกัน 4 ระดับโดยให้อัตราส่วนของน้ำมันข้าวโพดต่อน้ำมันปลาทูน่า มีค่า 2:3, 2.5:2.5, 3:2 และ 0:0 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) นำวัตถุดิบทั้งหมดยกเว้นน้ำมัน ผสมเข้าด้วยกันแล้วจึงนำมาอัดเม็ด หลังจากนั้นจึงนำมาคลุกกับน้ำมันที่เตรียมไว้ ภายหลัง เก็บรักษาอาหารในถุงพลาสติกห่อทับด้วยถุงดำ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียสก่อนนำมาใช้

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการทดลอง (กรัม)

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร			
	1	2	3	4
ปลาป่น	70	70	70	70
วิตามินรวม <sup>1</sup>	2	2	2	2
เกลือแร่	4	4	4	4
CMC <sup>2</sup>	6	6	6	6
แป้งสาลี	13	13	13	13
เซลลูโลส	0	0	0	5
น้ำมันข้าวโพด <sup>3</sup>	3	2.5	2	0
น้ำมันปลาทูน่า <sup>4</sup>	2	2.5	3	0
รวม	100	100	100	100

1. ผลิตภัณฑ์จาก : บริษัทโรวิไทย, ประเทศไทย ประกอบด้วย  $MgCO_3$ , KI, ZnO, SiO, antioxidant, pigment,  $CoSO_4$ ,  $MnSO_4$ ,  $CuSO_4$ ,  $FeSO_4$ , Choline biotin, Ca, niacin, folic acid, Vitamin A, D, E, K, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>
2. สารประสานอาหาร (carboxy methyl cellulose)
3. ผลิตภัณฑ์จาก : น้ำมัน Mazola, ประเทศไทย.
4. ผลิตภัณฑ์จาก : บริษัท Unicord Feed Co. Ltd, ประเทศไทย.

### ระบบและวิธีการเลี้ยง

ระบบน้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นแบบระบบปิด โดยให้อากาศอย่างเพียงพอ ทำการดูดตะกอนและมูลปลา เศษอาหารและเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 2 ครั้งๆละ 80 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำทั้งหมดก่อนการให้อาหารในแต่ละมือ

ให้อาหาร วันละ 2 ครั้งคือ (9.00 น. และ 16.00 น.) ด้วยปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเฉลี่ยรวมที่วัดได้ในแต่ละสัปดาห์ ในวันที่มีการชั่งปลาจะให้อาหารเพียงครั้งเดียวตอนบ่าย

### การวิเคราะห์อาหาร

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองใช้วิธีของ AOAC (1980) ดังต่อไปนี้ (ภาคผนวก ก)

1. ปริมาณความชื้นใช้เครื่องหาความชื้น Sartorius Thermo Control
2. ปริมาณโปรตีนใช้เครื่อง Gerhardt Kjeldatherm Digestion และ Gerhardt
3. ปริมาณไขมันใช้เครื่อง Soxtherm Automatic
4. ปริมาณเถ้าใช้เตาเผาความร้อนสูง เผาตัวอย่างที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
5. ปริมาณเส้นใยใช้ชุดวิเคราะห์เส้นใยของ Gerhardt
6. ปริมาณกรดไขมันในอาหาร วิธีการวิเคราะห์ดัดแปลงมาจากวิธีของ Artemia Reference Center (Sorgeloose *et al.*, 1993)

### การเก็บข้อมูล

ทำการทดลองชั่งน้ำหนักของปลาทดลองทั้งหมดในแต่ละตู้ทุก ๆ 2 สัปดาห์ พร้อมทั้งนับจำนวนปลาในแต่ละตู้ ข้อมูลที่ได้รวมทั้งข้อมูลปริมาณอาหารที่ปลากินในการทดลองครั้งนี้จะใช้เวลา 8 สัปดาห์ นำมาคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

- 1) การเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย (Mean Fish Weight, g/week)
- 2) อัตรารอด (Survival Rate, %)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์อัตราการเติบโต อัตรารอด โดยใช้วิธีวิเคราะห์ Analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (จรัญ, 2519) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (Statistics Analysis System)

### การตรวจสอบคุณสมบัติบางประการของน้ำ

น้ำทะเลที่ใช้เป็นน้ำจากชายฝั่งบริเวณหาดบางแสน เก็บในบ่อซีเมนต์ขนาดใหญ่ เพื่อตกตะกอนก่อนนำมาใช้ ตลอดจนการทดลองทำการตรวจวัดคุณสมบัติของน้ำได้แก่

- อุณหภูมิ โดยใช้ Thermometer ( $^{\circ}\text{C}$ )
- ความเค็ม โดยใช้ Refractometer (ppt)
- ความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter
- ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (ppm) โดยวิธีของ Strickland and Parson (1972)

ซึ่งทั้งค่าอุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง และออกซิเจนที่ละลายในน้ำจะวัดในตอนเช้าเวลาประมาณ 8.30 น. และบ่ายเวลาประมาณ 15.30 น.

- ปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ (ppm) จะวิเคราะห์สัปดาห์ละ 1 ครั้งโดยวิธีของ Strickland and Parson (1972)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย