

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาการใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองและกลูเตนจากข้าวโพดเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนสำหรับปลากะพงแดงวัยรุ่นแบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

#### 1. การทดลองชุดที่ 1. ศึกษาอัตราส่วนของโปรตีนต่อไขมันที่เหมาะสมต่อการเติบโตของปลากะพงแดงวัยรุ่น

ศึกษาการเติบโตของปลากะพงแดงวัยรุ่นที่ได้รับอาหารที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่อไขมันในระดับต่าง ๆ กัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized designed, CRD) โดยมีระดับโปรตีนต่อไขมัน 6 สูตรอาหาร คือ 25/10, 35/10, 45/10, 35/5, 35/15 และ 35/20 (% w/w) ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ องค์ประกอบอาหารแต่ละสูตรแสดงในตารางที่ 1

#### สถานที่ในการเลี้ยงปลา

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้เวลาในการทดลอง 9 สัปดาห์ เริ่มการทดลองในเดือน มกราคม 2540 และสิ้นสุดการทดลองในเดือน มีนาคม 2540

ระบบการเลี้ยงปลา (รูปที่ 1) ใช้ตู้กระจกขนาด 30 × 60 × 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร บรรจุ น้ำ 40 ลิตร ที่ความเค็ม 30 ส่วนในพัน มีระบบกรองกรองผ่านท่อพีวีซีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูงประมาณ 20 เซนติเมตร ใช้ระบบ air lift โดยใช้อากาศดันน้ำเข้าสู่ระบบกรองผ่านท่อรูปตัวแอล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 นิ้ว บริเวณท่อรูปตัว L เจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร รอบท่อจำนวน 50 – 55 รู วางท่อรูปตัวแอลไปตามแนวยาวจนสุดมุมตู้ด้านตรงข้ามเพื่อดึงน้ำเข้าสู่ระบบกรองและทำให้มีการผสมของมวลน้ำภายในตู้เป็นมวลเดียวกัน ทำให้น้ำในตู้มีคุณภาพดีขึ้น ภายในระบบกรองเรียงจากชั้นล่างสู่ชั้นบนประกอบด้วยวัสดุจำพวก ทรายละเอียด กรวด หิน เปลือกหอยนางรม และใยกรองสังเคราะห์ ทำความสะอาดระบบกรองพร้อมเปลี่ยนใยกรองสังเคราะห์ใหม่ทุก 3 วัน

ตารางที่ 1. ส่วนประกอบของอาหารทดลองชุดที่ 1

ส่วนประกอบ	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6
	25/10	35/10	45/10	35/5	35/15	35/20
ปลาป่น <sup>*1</sup>	44	62	78	62	62	62
แป้งอัลฟา <sup>*2</sup>	20	20	10	20	10	10
เดกทรีน <sup>*3</sup>	10	10	5	10	5	5
น้ำมันปลา <sup>*4</sup>	6	5	4	0	10	20
แร่ธาตุรวม <sup>*5</sup>	2	2	2	2	2	2
วิตามินรวม <sup>*6</sup>	1	1	1	1	1	1
เซลลูโลส <sup>*7</sup>	17	0	0	5	10	0
รวม(%)	100	100	100	100	100	100
โปรตีน(%)	25	35	45	35	35	35
ไขมัน(%)	10	10	10	5	15	20

\*1 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท ป.เจริญภัณฑ์ จำกัด

\*2 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท ไทยวา จำกัด

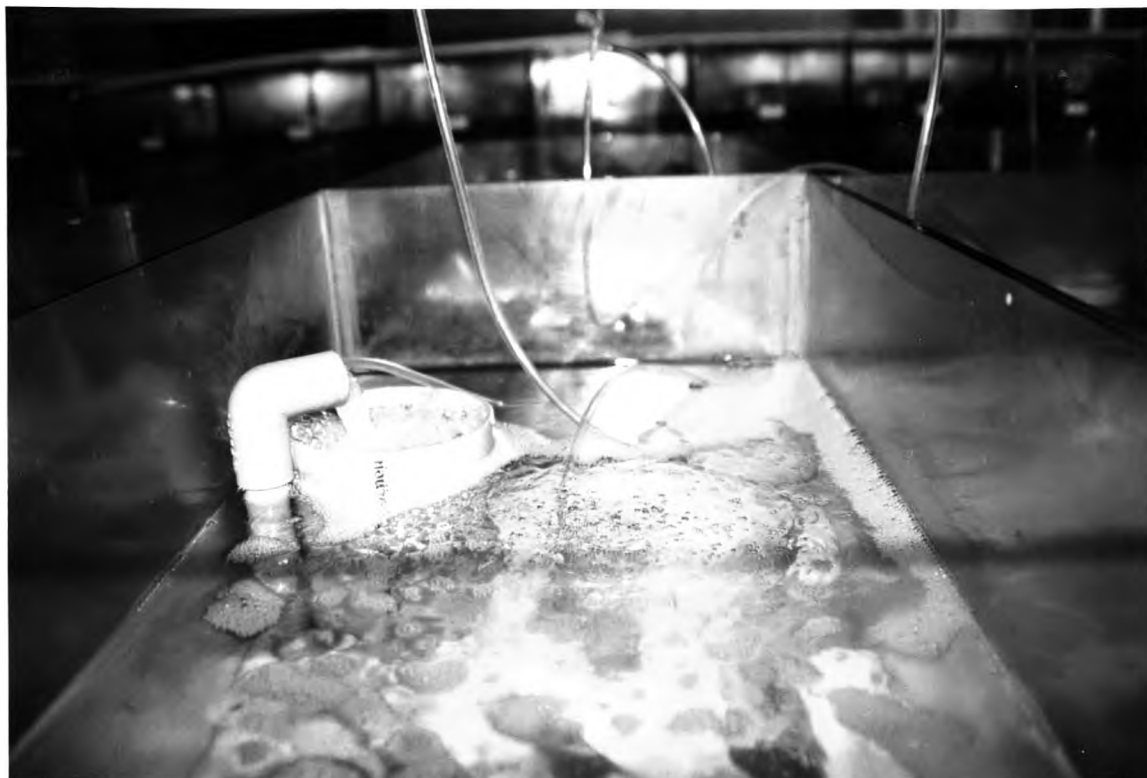
\*3 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท Sigma Co.,Ltd.

\*4 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท T.C. Union Agrotech Co.,Ltd.

\*5 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท Rovithai Co.,Ltd. Mineral mix 100 g. ประกอบด้วย :  $K_2HPO_4$  2.0 g.,  $Ca_3(PO_4)_2$  2.72 g.,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  3.041 g.,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  0.79 g;

\*6 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท Rovithai Co.,Ltd. Vitamin mix 100 g. ประกอบด้วย : p- Aminobenzoic acid 10.0 mg, Biotin 0.40 mg, Inositol 400.0 mg, Nicotinic acid 40.0 mg, Ca-Pantothenate 60.0 mg, Pyridoxine-HCL 12.0 mg, Riboflavin 8.0 mg, Thiamine-HCL 4.0 mg, Metadione 4.0 mg,  $\alpha$ -Tocopheral 20.0 mg, Cyanocobalamine 0.08 mg, Calciferal 1.20 mg, Folic acid 0.80 mg, Choline chloride 120.0 mg: รวม 2.48 g.

\*7 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท Sigma Co.,Ltd.



รูปที่ 1. ระบบกรองที่ใช้ในตู้เลี้ยงปลาทั้ง 2 ชุดการทดลอง

### ปลาและภาวะการทดลอง

การทดลองใช้ปลากะพงแดงวัยรุ่น อายุ 60 วัน น้ำหนักเฉลี่ย  $7.783 \pm 0.149$  กรัม โดยความอนุเคราะห์ของศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก (Eastern Marine Fisheries Development Center) กรมประมง นำปลามาอนุบาลในถัง 1 ตัน ที่โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้เนื้อปลาบดผสมด้วยอาหารอัดเม็ดที่มีโปรตีนต่อไขมัน 35/10 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงลดปริมาณเนื้อปลาบดลง ผีกเพื่อให้ปลากินอาหารอัดเม็ดเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงทำการสุ่มคัดขนาดปลาที่แข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันมาใส่ลงตู้กระจก 12 ตู้ ๆ ละ 12 ตัว พร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักความยาวเหยียด (total length) ของปลากะพงแดงในแต่ละตู้ ให้อาหารปลาวันละ 3 เวลา 08.00 น. 12.00 น. และ 16.00 น. โดยเลี้ยงจนปลาทุกตัวกินอิ่ม บันทึกปริมาณอาหารที่ปลากินในแต่ละวัน ทำความสะอาดเศษอาหารที่เหลือและอุจจาระปลาทุกวันเวลา 17.00 น. และเปลี่ยนน้ำในตู้ 80 % ทุก 2 วัน



## สถานที่และอุปกรณ์การเลี้ยงปลา

สถานที่ทดลองและการเตรียมอุปกรณ์ในการเลี้ยงปลาสำหรับการทดลองที่ 2 เหมือนกับการทดลองที่ 1 ใช้เวลาในการทดลอง 9 สัปดาห์ โดยเริ่มในเดือน มีนาคม 2541 และสิ้นสุดการทดลองในเดือน พฤษภาคม 2541

การเลี้ยงปลาเลี้ยงในตู้กระจกขนาด  $30 \times 60 \times 30$  ลูกบาศก์เซนติเมตร บรรจุน้ำ 40 ลิตร ที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน โดยใช้ระบบกรองเหมือนกับการทดลองชุดที่ 1

## อาหารทดลอง

การทำอาหารในการทดลองชุดที่ 2 ใช้วัตถุดิบจากแหล่งเดียวกันกับการทดลองชุดที่ 1 ยกเว้นปลาป่นโดยในการทดลองชุดที่ 1 ใช้ปลาป่นนำเข้าจากต่างประเทศบริษัท ป. เจริญพันธ์อาหารสัตว์ จำกัด ปริมาณโปรตีน 57 % การทดลองที่ 2 ใช้ปลาป่นไทยจากบริษัท พัฒนาการตลาดปลาป่น จำกัด ปริมาณโปรตีน 61 % เป็นแหล่งโปรตีน องค์ประกอบของสูตรอาหารในการทดลองที่ 2 แสดงในตารางที่ 3 เก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ในภาชนะที่บแสงจนกว่าจะนำมาใช้

ตารางที่ 3. ส่วนประกอบของอาหารทดลองชุดที่ 2

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร (ปลาป่น / กากถั่วเหลือง / กุลูเตนจากข้าวโพด)							
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6	สูตรที่ 7	สูตรที่ 8
	1/0/0	1/1/1	2/1/0	2/0/1	2/2/1	2/1/2	2/1/1	3/1/1
ปลาป่น <sup>1</sup>	57	22	43	39	27	25	32	38
กากถั่วเหลือง <sup>2</sup>	—	22	21	—	27	13	16	12
กุลูเตน <sup>3</sup>	—	22	—	19	13	25	16	12
น้ำมันปลา <sup>4</sup>	6	6	6	6	6	6	6	6
แป้งอัลฟา <sup>5</sup>	15	15	15	15	14	15	15	15
เดกทรีน <sup>6</sup>	10	10	10	10	10	10	10	10
แร่ธาตุรวม <sup>7</sup>	2	2	2	2	2	2	2	2
วิตามินรวม <sup>8</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1
เซลลูโลส <sup>9</sup>	9	—	2	8	—	3	2	4
รวม (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
โปรตีน (%)	35.00	35.21	34.84	34.81	35.08	35.08	35.36	35.06
ไขมัน (%)	10.02	10.18	10.27	9.87	10.29	10.03	10.16	10.10

\*1 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท พัฒนาการตลาดปลาป่น จำกัด

\*2 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท วังมัจฉา จำกัด

\*3 ผลิตภัณฑ์จากบริษัท ชูคอมมา จำกัด

\*4 - \*9 ดูจากส่วนประกอบอาหารสูตรที่ 1

## ปลาและภาวะการทดลอง

การทดลองใช้ปลากะพงแดงวัยรุ่น อายุ 60 วัน น้ำหนัก  $7.828 \pm 0.085$  กรัม ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์พัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก (Eastern Marine Fisheries Development Center) กรมประมง เช่นเดียวกันกับการทดลองชุดที่ 1 นำมาอนุบาลในถัง 1 ดัน ที่โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยอนุบาลเหมือนกับการทดลองที่ 1 แล้วจึงทำการสุ่มคัดขนาดปลาที่แข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันมาใส่ลงตู้กระจก 16 ตู้ ๆ ละ 10 ตัว พร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักความยาวเหยียด (total length) และจำนวนเริ่มต้นของปลากะพงแดงในแต่ละตู้ ทำการเลี้ยงปลากะพงแดงในระดับโปรตีนและไขมันที่ต่างกัน 8 สูตรอาหาร

## การบันทึกผลการทดลอง และตรวจสอบการเติบโต

การทดลองทั้ง 2 ชุดการทดลอง ทำการบันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่ให้ทุกวัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง อัตราการตายรวมทั้งตรวจสอบการเติบโตทุก 3 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเหยียด (total length) ของปลาทุกตัว เพื่อนำมาประเมินผลของอาหารต่อการเติบโตและประสิทธิภาพของอาหารโดยใช้สูตรดังนี้

$$1. \text{ อัตราการเติบโต (Growth rate, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยของปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100 \%$$

$$2. \text{ อัตราการเติบโตสัมพัทธ์ต่อวัน (Daily relative growth rate) =}$$

$$\frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} \times \text{จำนวนวันที่ให้อาหาร (วัน)}} \quad \text{กรัม/วัน}$$

3. ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency) =

$$\frac{\text{น้ำหนักทั้งหมดของปลาที่เพิ่มขึ้น} \times 100 \%}{\text{น้ำหนักของอาหารทั้งหมดที่ให้}}$$

4. อัตรารอด (Survival rate) =

$$\frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100\%}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มทำการทดลอง}}$$

#### การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

นำตัวอย่างอาหารและตัวอย่างปลาทดลองมาวิเคราะห์ proximate composition โดยวิธีตาม AOAC. (1990) ต่อไปนี้

1. วิเคราะห์ไนโตรเจนอินทรีย์รวมโดยวิธี Kjeldahl method
2. วิเคราะห์ไขมันโดยใช้เครื่อง Soxhlet extraction apparatus
3. วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยใช้ hot air oven
4. วิเคราะห์ปริมาณเถ้าในเครื่อง Muffle furnace
5. วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในอาหารทดลอง
6. วัดค่าพลังงานในเนื้อปลาและอาหารทดลองในเครื่อง Bomb calorimeter (Parr 1455

Solution Calorimeter)

รายละเอียดวิธีวิเคราะห์แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก.

#### การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้งโดยสุ่มตรวจสอบสูตรอาหารละ 1 ตู้ ตรวจสอบความเข้มข้นของ ไนเตรท ไนไตรท์ และฟอสเฟต ด้วย Aquatic test (Merck Co.,Ltd.) วัดความเค็มด้วยเครื่อง Refractometer (S/Mill ATAGO Co., Ltd., Japan) วัดความ



เป็นกรดต่างด้วย pH meter (pH Scan 3 Eutech Cybernetics Co., Ltd., Singapore) วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ และวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำด้วยเครื่องวัดออกซิเจนที่ละลายน้ำ (YSI รุ่น 57)

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างตัวแปรที่วัดจากอาหารสูตรต่าง ๆ ด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รายละเอียดการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในภาคผนวก ข.