

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลาอุกอุกผสม (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*) ขนาด 3 – 5 เซนติเมตร น้ำหนัก 1 กรัม จำนวน 1,260 ตัว
2. ตู้กระจกทดลอง จำนวน 42 ตู้
3. ตู้อบความร้อน (Hot air oven)
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเลือดปลา
 - Monovett หรือ Zyring ขนาด 10 มิลลิลิตร ใช้เข็มเบอร์ 22
 - Na – EDTA (Sodium Ethylene Diamine Tetra Acetic acid)
6. อุปกรณ์วิเคราะห์สีมาโคคริต และฮีโมโกลบิน
 - ใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาแบบอัตโนมัติ (Sysmex รุ่น F – 820)
7. อาหารทดลองที่มีการผสมกวางเครือขาวในระดับที่แตกต่างกัน 7 ระดับ

การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้เป็นอาหารเม็ดจมน้ำระดับโปรตีนในอาหาร 28 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ระดับพลังงานประมาณ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม โดยนำวัตถุดิบอาหารที่เตรียมไว้ ซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น, กากถั่วเหลือง, รำละเอียด, มันเส้น, น้ำมันพืช, น้ำมันปลา, สารเหนียว, วิตามินและแร่ธาตุ โดยนำมาผสมกับกวางเครือขาวให้ได้ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400, 800, 1,200, 2,400 และ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม (ตารางที่ 3)

กวางเครือที่ใช้ในการทดลองเป็นกวางเครือขาว จากแหล่งทางภาคเหนือโดยใช้กวางเครือขาวจากจังหวัดเชียงใหม่ โดยนำหัวกวางเครือไปตากแห้ง แล้วจึงนำไปบดเป็นผง เก็บไว้ในที่เย็น อุณหภูมิประมาณ 0 – 5 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาใช้ทดลอง

การเตรียมอาหารทดลองเริ่มจากการสุ่มวัตถุดิบแต่ละชนิดที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารมาบดให้ละเอียดและร่อนให้มีขนาดเท่า ๆ กัน ด้วยตะแกรงร่อนขนาด 500 ไมครอน จากนั้น

นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เยื่อใยและเถ้า โดยวิเคราะห์ตามวิธี proximate analysis (A.O.A.C., 1995) นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มาสร้างสูตรอาหารให้ได้ระดับโปรตีนประมาณ 28 และ 32 เปอร์เซ็นต์ และระดับพลังงานที่ย่อยได้ประมาณ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม และมีปริมาณของกวางเครือขาวที่เสริมเข้าไปในสูตรอาหาร 0, 200, 400, 800, 1,200, 2,400 และ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม จากนั้นชั่งวัตถุดิบแต่ละชนิดตามสัดส่วนของสูตรอาหารทดลองในตารางที่ 3 และ 4 โดยจะผสมวัตถุดิบที่มีปริมาณมากเข้าด้วยกันก่อน จากนั้นจึงค่อยผสมวัตถุดิบที่มีปริมาณน้อย ซึ่งได้แก่ กวางเครือขาว พรูมิคซ์ และสารเหนียว คลุกเคล้าส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ยกเว้นน้ำมันพืชและน้ำมันปลาจะผสมลงเป็นอันดับสุดท้าย หลังจากผสมวัตถุดิบเข้ากันดีแล้วนำมาผ่านกระบวนการอัดเม็ด ก่อนทำการอัดเม็ดเติมน้ำลงไปเล็กน้อยให้อาหารมีลักษณะกึ่งเปียกพอปั้นได้ จากนั้นจึงทำการอัดเม็ดโดยใช้เครื่องบด Mincer ซึ่งระหว่างการอัดเม็ดอาหารจะมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส ลักษณะอาหารที่ผ่านเครื่องอัดเม็ดจะเป็นเส้นยาวกึ่งเปียก จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารเม็ดที่ใช้ทดลองแห้งเมื่ออาหารแห้งดี เก็บไว้ในถุงที่มิดชิดเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 3 องค์ประกอบและปริมาณวัตถุดิบของอาหารปลาชุกชุมผสมระยะที่ 1

วัตถุดิบ (กิโลกรัม)	ระดับความเครียด (มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม)						
	0	200	400	800	1,200	2,400	3,600
กาวเครือขาว	0	0.02	0.04	0.08	0.12	0.24	0.36
ปลาป่น	30	30	30	30	30	30	30
กากถั่วเหลือง	32	31.98	31.96	31.92	31.88	31.76	31.64
รำละเอียด	12	12	12	12	12	12	12
มันเส้น	15	15	15	15	15	15	15
น้ำมันพืช	3	3	3	3	3	3	3
น้ำมันปลา	3	3	3	3	3	3	3
สารเหนียว	4	4	4	4	4	4	4
พรีมิกซ์ ^{1/}	1	1	1	1	1	1	1
รวม	100	100	100	100	100	100	100
องค์ประกอบทางเคมี							
% โปรตีน	32.29	32.00	32.15	32.18	32.24	32.08	32.09
% ไขมัน	10.24	10.23	10.31	10.14	10.71	10.20	10.28
% เยื่อใย	4.47	5.09	4.56	4.45	4.47	5.18	5.06
% เถ้า	14.94	15.08	14.48	15.45	16.07	14.62	15.75
% ความชื้น	6.53	7.40	7.20	8.72	8.18	6.95	7.36
พลังงาน (Kcal/Kg)	2899.1	2853.4	2893.3	2824.9	2854.7	2873.5	2842.5

หมายเหตุ ^{1/} พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย vitamin A 7,000,000 IU, vitamin D 1,400,000 IU, vitamin E 3 กรัม, vitamin K 0.5 กรัม, vitamin B₁ 1 กรัม, vitamin B₂ 4 กรัม, vitamin B₆ 1 กรัม, vitamin B₁₂ 15 กรัม, pantothenic acid 5 กรัม, niacin 10.0 กรัม, vitamin C 5.0 กรัม, แมงกานีส 25 มิลลิกรัม, สังกะสี 20 มิลลิกรัม, ทองแดง 5 มิลลิกรัม, ไอโอดีน 5 มิลลิกรัม, โคบอลต์ 0.05 มิลลิกรัม, ซีลีเนียม 0.3 มิลลิกรัม และเหล็ก 30 มิลลิกรัม

ตารางที่ 4 องค์ประกอบและปริมาณวัตถุดิบของอาหารปลาชุกชุมผสมระยะที่ 2

วัตถุดิบ (กิโลกรัม)	ระดับความเครียด (มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม)						
	0	200	400	800	1,200	2,400	3,600
กาวเครือขาว	0	0.02	0.04	0.08	0.12	0.24	0.36
ปลาป่น	26	26	26	26	26	26	26
กากถั่วเหลือง	27	26.98	26.96	26.92	26.88	26.76	26.64
รำละเอียด	12	12	12	12	12	12	12
มันเส้น	24	24	24	24	24	24	24
น้ำมันพืช	3	3	3	3	3	3	3
น้ำมันปลา	3	3	3	3	3	3	3
สารเหนียว	4	4	4	4	4	4	4
พรีมิกซ์ ^{1/}	1	1	1	1	1	1	1
รวม	100	100	100	100	100	100	100
องค์ประกอบทางเคมี							
% โปรตีน	28.07	28.17	28.13	28.19	28.26	28.18	28.47
% ไขมัน	9.31	10.59	11.18	11.22	10.19	10.57	10.95
% เยื่อใย	3.83	3.97	3.74	4.29	3.92	6.42	3.93
% เถ้า	14.98	14.89	14.55	14.82	15.57	15.18	15.13
% ความชื้น	4.09	3.87	3.94	4.25	4.34	4.60	4.53
พลังงาน (Kcal/Kg)	2860.6	2936.8	2981.1	2956.0	2888.6	2849.1	2939.6

หมายเหตุ ^{1/} พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย vitamin A 7,000,000 IU, vitamin D 1,400,000 IU, vitamin E 3 กรัม, vitamin K 0.5 กรัม, vitamin B₁ 1 กรัม, vitamin B₂ 4 กรัม, vitamin B₆ 1 กรัม, vitamin B₁₂ 15 กรัม, pantothenic acid 5 กรัม, niacin 10.0 กรัม, vitamin C 5.0 กรัม, แมงกานีส 25 มิลลิกรัม, สังกะสี 20 มิลลิกรัม, ทองแดง 5 มิลลิกรัม, ไอโอดีน 5 มิลลิกรัม, โคบอลท์ 0.05 มิลลิกรัม, ซีลีเนียม 0.3 มิลลิกรัม และเหล็ก 30 มิลลิกรัม

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับ phytoestrogen ในอาหารที่เสริมกวาวเครือขาวเมื่อผ่านกระบวนการอัดเม็ดในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับ phytoestrogen ในอาหารที่เสริมกวาวเครือขาว หลังจากผสมอาหารเสร็จเรียบร้อยแล้ว ก่อนเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ด ทำการวัดระดับของ phytoestrogen ในรูปของ estradiol ก่อนผ่านกระบวนการอัดเม็ด หลังจากนั้นนำอาหารผสมที่มีการเสริมกวาวเครือขาวในสูตรอาหารที่มีระดับกวาวเครือขาว 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม (ตารางที่ 3) เข้าสู่กระบวนการอัดเม็ดที่ผ่านความร้อนในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้

- ช่วงอุณหภูมิ 60 – 80 องศาเซลเซียส
- ช่วงอุณหภูมิ 100 – 120 องศาเซลเซียส
- ช่วงอุณหภูมิ 130 – 150 องศาเซลเซียส

การเก็บข้อมูล

ทำการเก็บตัวอย่างอาหารทดลองที่ผสมกวาวเครือขาวที่ระดับ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม หลังจากผสมวัตถุดิบเข้ากันทั้งหมดแล้วก่อนเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ดอาหาร หลังจากนั้นจึงทำการอัดเม็ดโดยใช้เครื่องบด Mincer ที่มีการติดแผ่นให้ความร้อนเพิ่ม ซึ่งเมื่อระหว่างการผลิตอาหารพอดูณหภูมิขึ้นถึงประมาณ 70 องศาเซลเซียส ก็ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง ต่อจากนั้นเมื่ออุณหภูมิขึ้นถึงประมาณ 100 องศาเซลเซียส ก็ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง และเมื่ออุณหภูมิขึ้นสูงถึงประมาณ 130 องศาเซลเซียส ก็ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหาร หลังจากอาหารทดลองที่ผสมกวาวเครือขาวที่ระดับ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัมได้ผ่านกระบวนการอัดเม็ดในช่วงอุณหภูมิต่างๆ แล้วก็นำมาอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารอีกครั้ง หลังจากนั้นชั่งตัวอย่างที่ได้มาประมาณ 2 กรัมใส่ในบีกเกอร์ แล้วก็เติมน้ำต้มเดือด 20 มิลลิลิตรทิ้งไว้ข้ามคืน หลังจากนั้นนำมากรองแล้วนำส่วนใสที่ได้ไปตรวจวัดระดับ phytoestrogen ในรูปของ estradiol เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียของ phytoestrogen เมื่อผ่านความร้อนในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2539)

การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารของปลาชุกชุมผสม

ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารโดยใช้สารบ่งชี้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) ของอาหารผสมทั้ง 7 สูตร ที่มีระดับโปรตีนประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ และระดับพลังงานประมาณ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมเท่ากับทุกสูตร แต่แตกต่างกันที่ปริมาณเปอร์เซ็นต์ของกาวเครือขาวที่เสริมในสูตรอาหาร ดังนี้ คือ 0, 200, 400, 800, 1,200, 2,400 และ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม ในปลาชุกชุมผสมที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 50 กรัมต่อตัว

การเตรียมปลาทดลอง

ทำการคัดขนาดปลาที่มีความยาว 15 – 20 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 50 กรัม ขนาดใกล้เคียงกันใส่ตู้กระจกที่มีขนาดความกว้าง 0.30 เมตร ความยาว 0.60 เมตร ความสูง 0.38 เมตร โดยแต่ละตู้จะใส่ปลา 5 ตัวต่อตู้โดยมีการให้อากาศตลอดการทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองมีระดับโปรตีนและระดับพลังงานเท่ากับอาหารทั้ง 7 สูตร ดังตารางที่ 3 แต่จะมีส่วนผสมของสารบ่งชี้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) ในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณมันเส้นออกจากสูตร 1 เปอร์เซ็นต์

การให้อาหารและการเก็บมูล

ให้อาหารทดลองที่มีส่วนผสมของโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) ปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร ทุกสูตรกับปลาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยให้อาหารปลาทุกวันๆ ละ 2 มื้อ ในช่วงเช้าเวลาประมาณ 9.00 น. และช่วงเย็น เวลาประมาณ 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม หลังจากปลากินอาหารอิ่มแล้ว ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บมูลในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อนำไปหาประสิทธิภาพการย่อย ต่อไป โดยจะเริ่มเก็บมูลในสัปดาห์ที่ 2 ของการให้อาหารแต่ละสูตร ด้วยวิธีการกลักน้ำโดยใช้สาย ยางที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร เก็บมูลของปลาผ่านถุงกรองที่มีขนาดตา 20 ไมครอน แล้วนำไปอบให้แห้ง เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

ทุกครั้งที่ทำกรเก็บมูลเรียบร้อยแล้ว จะทำการล้างตู้ให้สะอาดจากนั้นเติมน้ำที่พักไว้ไม่น้อย กว่า 24 ชั่วโมง ให้มีปริมาตรเท่าเดิม

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารและประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนโดยใช้สาร บ่งชี้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3)

นำมูลสดที่เก็บรวบรวมได้ในแต่ละวันมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วบดให้ละเอียดเพื่อทำการหาสารบ่งชี้โครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) และปริมาณ ธาตุอาหารที่มีอยู่ในมูล นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่ในมูล และนำคำนวณหา สัมประสิทธิ์การย่อยอาหาร (Dry matter digestion coefficient) และสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีน (Indirect method) ตามลำดับดังสูตร

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยอาหาร} = \frac{100 - 100 \left[\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ในอาหาร}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ในมูล}} \right]}{100}$$

$$\text{สัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีน} = \frac{100 - 100 \left[\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ในอาหาร}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ ในมูล}} \times \frac{\% \text{โปรตีนในมูล}}{\% \text{โปรตีนในอาหาร}} \right]}{100}$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2539)

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของกาวเครือขาวในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต ระดับฮอร์โมน และสุขภาพในปลาฉลาม

การทดลองครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) การทดลองมี 7 ชุด แต่ละชุดการทดลองจะมี 6 ซ้ำ โดยแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกันตามระดับกาวเครือขาวที่เสริมในอาหารทดลอง ดังนี้ คือ 0, 200, 400, 800, 1,200, 2,400 และ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม โดยศึกษาผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลา ระดับฮอร์โมน และสุขภาพปลา การศึกษาแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะแรกใช้อาหารที่มีระดับโปรตีน 32% เป็นเวลา 30 วัน และระยะที่ 2 ใช้อาหารที่มีโปรตีน 28% ระหว่างวันที่ 31 – 60

การทดลองที่ 3.1 ศึกษาผลของกาวเครือขาวในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพในปลาฉลามระยะที่ 1

ทำการทดลองในปลาฉลามอายุ 1 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 1.06 กรัม โดยใช้อาหารที่มีโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ พลังงานที่ย่อยได้ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม โดยแบ่งเป็น 7 ชุด ชุดละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว ดังนี้

ชุดที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเสริมกาวเครือขาว (ชุดควบคุม)

ชุดที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 200 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

ชุดที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 400 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

ชุดที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 800 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

ชุดที่ 5 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 1,200 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

ชุดที่ 6 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 2,400 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

ชุดที่ 7 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกาวเครือขาว 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

โดยมีสูตรอาหารดังตารางที่ 3

การเตรียมปลาทดลอง

ทำการเลี้ยงปลาคูกลุผสมในบ่อซีเมนต์ขนาด 1.5 x 1 x 1.5 เมตร ก่อนเริ่มการทดลอง เพื่อฝึกให้ปลาคูคุ้นเคยกับอาหารและสภาพแวดล้อม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. จากนั้นคัดปลาที่มีความยาว 2 – 3 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 1 กรัม ขนาดใกล้เคียงกันใส่ตู้กระจกที่มีขนาดความกว้าง 0.50 เมตร ความยาว 1.20 เมตร ความสูง 0.50 เมตร โดยแต่ละตู้จะใส่ปลา 30 ตัวต่อตู้โดยมีการให้อากาศตลอดการทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้เป็นอาหารเม็ดจมน้ำระดับโปรตีนในอาหารประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ ระดับพลังงานประมาณ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ดังตารางที่ 3 (สูตรอาหารปลาคูกลุผสม ระยะที่ 1) โดยนำวัตถุดิบอาหารที่เตรียมไว้ ซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น, กากถั่วเหลือง, รำละเอียด, มันเส้น, น้ำมันพืช, น้ำมันปลา, สารเหนียว, วิตามินและแร่ธาตุ โดยนำมาผสมกับกาวเครือขาวให้ได้ระดับความเข้มข้น 0, 200, 400, 800, 1,200, 2,400 และ 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม กับอีกหนึ่งชุดการทดลองที่ไม่มีการเสริมกาวเครือในอาหาร (ชุดควบคุม)

การให้อาหาร

ทำการให้อาหารปลาทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าและเย็น เวลาประมาณ 9.00 น. และ 16.00 น. โดยให้อาหารจนอิ่ม ยกเว้นวันที่จะทำการสุ่มเพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโต จะงดให้อาหารแก่ปลา ทำการคัดตะกอนทุกวันก่อนให้อาหารมือเย็น และหลังจากคัดตะกอนเรียบร้อยแล้ว จะเติมน้ำที่ผ่านการให้อากาศอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ให้มีปริมาตรน้ำระดับเดิม

เศษอาหารที่เหลือในแต่ละมือจะแยกออกภายหลังการกินอาหาร 1 ชั่วโมง นำมาอบให้แห้ง และหักออกจากปริมาณอาหารที่ให้

การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

ทำการเติมน้ำใหม่ที่ผ่านการให้อากาศไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง หลังจากทำการดูดตะกอนทุกวัน และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทำความสะอาดตู้ทดลองทุก 2 วัน

การศึกษาการเจริญเติบโต

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนักปลา ก่อนเริ่มทำการทดลอง และทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักทุก 4 สัปดาห์ระหว่างทำการทดลอง โดยทำการชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละชุดการทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่กินเพื่อศึกษาน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพของโปรตีน ดังสูตรต่อไปนี้

การเจริญเติบโต

$$\text{น้ำหนักเพิ่ม (Weight gain)} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}$$

$$\text{น้ำหนักเพิ่มต่อตัวต่อวัน (Average daily gain)} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate)} = \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}} \times 100$$

$$\text{อัตรารอด (Survival rate)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$$

$$\text{อัตราการกินอาหาร (Daily feed intake)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินเฉลี่ยต่อวัน} \times 100}{(\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น} + \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}) / 2}$$

การใช้ประโยชน์จากอาหาร

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่ม}}$$

(Feed conversion ratio: FCR)

$$\text{ประสิทธิภาพของโปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลา}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน}}$$

(Protein efficiency ratio: PER)

$$\text{การใช้โปรตีนสุทธิ} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนในตัวปลา}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน}}$$

(Net protein utilization: NPU)

การศึกษาสภาพปลา

ก่อนทำการทดลองและที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ทำการเก็บตัวอย่างเลือดในปลาแต่ละชุดการทดลองโดยนำเลือดปลานในแต่ละซุ่มรวมกัน เพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาซึ่งประกอบด้วย

- จำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cell: RBC)
- ฮีโมโกลบิน (haemoglobin: HGB)
- ฮีมาโตคริต (haematocrit: HCT) ด้วยเครื่องนับอัตโนมัติ sysmex F-820
- ดัชนีน้ำหนักตับ (Hepatosomatic Index: HIS)
- ปริมาณไกลโคเจนในตับ
- องค์กรประกอบทางเคมีของเลือด โดยทำการวิเคราะห์หา triglyceride
- ทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในเลือด (glucose)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2539)

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาผลของกวางเครือขาวในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต ระดับฮอร์โมน และสุขภาพในปลาตุ๊กตาสวยระยะที่ 2

ทำการทดลองในปลาตุ๊กตาสวย โดยใช้อาหารที่มีโปรตีน 28 เปอร์เซ็นต์ พลังงานที่น้อยได้ 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม เป็นการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองที่ 3.1 ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งเป็น 7 ชุด ชุดละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว ดังนี้

- ชุดที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเสริมกวางเครือขาว (ชุดควบคุม)
- ชุดที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 200 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม
- ชุดที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 400 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม
- ชุดที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 800 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม
- ชุดที่ 5 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 1,200 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม
- ชุดที่ 6 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 2,400 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม
- ชุดที่ 7 เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมกวางเครือขาว 3,600 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม

โดยมีสูตรอาหารดังตารางที่ 4

สภาวะการทดลอง

ทำการเลี้ยงในตู้กระจกที่มีขนาดความกว้าง 0.50 เมตร ความยาว 1.20 เมตร ความสูง 0.50 เมตร โดยมีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา ทำการให้อาหารปลาทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าและเย็น เวลาประมาณ 9.00 น. และ 16.00 น. โดยให้อาหารจนอิ่ม ยกเว้นวันที่จะทำการสุ่มเพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโต จะงดให้อาหารแก่ปลา ทำการดูดตะกอนทุกวันก่อนให้อาหารมือเย็น และหลังจากดูดตะกอนเรียบร้อยแล้วจะเติมน้ำที่ผ่านการให้อากาศอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ให้มีปริมาตรน้ำระดับเดิม

เศษอาหารที่เหลือในแต่ละมือจะแยกออกภายหลังการกินอาหาร 1 ชั่วโมง นำมาอบให้แห้ง และหักออกจากปริมาณอาหารที่ให้

การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต

ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักทุก 4 สัปดาห์ระหว่างทำการทดลอง โดยทำการชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละชุดการทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่กินเพื่อศึกษาน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพของโปรตีน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

การเก็บข้อมูลระดับฮอร์โมน

ทำการศึกษาปริมาณฮอร์โมนในตัวอย่างปลา วิเคราะห์โดยวิธี Chemiluminescent immunoassay (DCP, 1997) โดยเก็บข้อมูลเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยชนิดฮอร์โมนที่วัด คือ estradiol (E2)

การเก็บข้อมูลสุขภาพปลา

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดในปลาแต่ละชุดการทดลองโดยนำเลือดปลาในแต่ละซำรวมกัน เพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาซึ่งประกอบด้วย จำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต ด้วยเครื่องนับอัตโนมัติ sysmex F-820 เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.1

- ดัชนีน้ำหนักตับ (Hepatosomatic Index: HSI)
- ปริมาณไกลโคเจนในตับ
- องค์กรประกอบทางเคมีของเลือด โดยทำการวิเคราะห์หา triglyceride
- ทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในเลือด (glucose)

ศึกษาดัชนีต้นทุนการผลิตอาหารที่ผลิตปลา 1 กิโลกรัม

ระหว่างทำการทดลองบันทึกค่าใช้จ่ายต้นทุนค่าอาหารและการผลิต จำนวนผลผลิตที่ได้ เพื่อนำมาคำนวณหาต้นทุนค่าอาหาร (บาท/อาหาร 1 กิโลกรัม) และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต (บาท/ผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม)

ต้นทุนการผลิตปลา (บาท/ผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม) = ราคาวัตถุดิบอาหาร 1 กิโลกรัม x
ค่า FCR

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่าง
ของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
(อนันต์ชัย, 2539)

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และศูนย์พัฒนา
เทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระยะเวลาในการทดลอง

ตั้งแต่เดือนเมษายน 2548 ถึง เดือนสิงหาคม 2548