สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

แป้งข้าวเหนียวนั้นแบบปรุงสุกดีกว่าแบบดิบ อย่างไรก็ตามแป้งรูปแบบต่าง ๆ ในการศึกษาครั้งนี้มีคุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างจากแป้งสาลี จึงกล่าวได้ว่ากุ้งกุลาดำสามารถใช้แป้งได้ทั้งแบบดิบและแบบปรุงสุก (เจริญ, 2551) นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดิน สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตในช่วงกว้างตั้งแต่ 22-48% และลดปริมาณโปรตีนในอาหารจาก 49 ลงเป็น 32% แต่ระดับที่แนะนำควรมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 35.5% และ คาร์โบไฮเดรตไม่มากกว่า 42.4% (มนทกานติและคณะ, 2553)

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินมีความต้องการทางโภชนาการในช่วงกว้าง การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อยอดจากงานวิจัยข้างต้น โดยประมวลผลงานวิจัยบางเรื่องที่ได้ดำเนินการมาก่อนหน้านั้น โดยใช้สูตรที่เหมาะสมที่สุดจาก มนทกานติและคณะ (2551ก) และ มนทกานติและคณะ (2553) แต่ใช้แป้งสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตเนื่องจากหาได้ง่าย มาพัฒนาเป็นอาหารสูตรใหม่และขยายผลโดยทดสอบผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของกุ้งกุลาดำในระบบบ่อดิน โดยคาดว่าจะได้สูตรอาหารที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบการเลี้ยงกุ้งแบบใหม่ปลอดสารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบสูตรอาหารที่ได้พัฒนาขึ้นต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและผลผลิตของกุ้งกุลาดำในบ่อดิน

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) มี 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 2 ซ้ำ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ 2 อาหารสูตรทดลองโดยดำเนินการทดลองในบ่อดินขนาด 1 ไร่ จำนวน 4 บ่อ เลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสูตรทดลองที่ได้จากการประมวลจากผลงานวิจัยหัวข้อต่างๆ ที่ได้ทำการทดลองก่อนหน้านี้ เปรียบเทียบกับการใช้อาหารชุดควบคุมซึ่งเป็นอาหารสำเร็จรูปที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

2. การผลิตอาหารทดลอง

ผลิตอาหารทดลอง มีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 1 โดยชั่งส่วนผสมของสูตรอาหารจากนั้นผสมวัสดุอาหารแห้งที่มีปริมาณน้อยก่อน ได้แก่ วิตามินต่าง ๆ โดยใช้รำเป็นสื่อ จากนั้นผสมวัสดุอาหารที่มีปริมาณมากขึ้นตามลำดับ จึงนำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแนวนอน ผสมน้ำให้มีความชื้นประมาณ 30% ตามด้วยวัสดุอาหารจำพวกน้ำมัน ได้แก่ น้ำมันปลา น้ำมันปาล์ม และเลซิทินอีก

ประมาณ 5-10 นาที จึงนำอาหารไปอัดออกเป็นเส้นด้วยเครื่องบดอาหารที่ติดตั้งใบมีดตัดอาหาร โดยใช้หน้าแว่นอัดอาหารมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดต่าง ๆ ขึ้นกับขนาดกุ้ง เกลี่ยด้วยมือให้เส้นอาหารไม่ติดกันเป็นก้อน นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C จนมีความชื้นไม่มากกว่า 10% ผึ่งลมระบายความร้อนก่อนบรรจุใส่ถุงและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องตลอดช่วงการทดลอง อาหารส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการดังนี้ วิเคราะห์โปรตีนด้วยเครื่อง Truspec CN Carbon/Nitrogen Determination (LECO) วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้เทคนิค SFE (Supercritical Fluid Extraction) ด้วยเครื่อง Fat Extractor (TFE 2000, LECO) วิเคราะห์เถ้า ความชื้นและเยื่อใยด้วยวิธี AOAC (1995) และวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) รุ่น Agilent 6890N

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของอาหารสูตรทดลอง

วัสดุอาหาร	ปริมาณ (กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งอาหาร)
ปลาป่นไทย (60% P)	26
หัวกุ้งบด	7
หมึกบด	6
กากถั่วเหลือง	19
หวีทกลูเท่น	5
แป้งสาลี	15
ปลายข้าวหัก	5
น้ำมันปลา	1.12
น้ำมันปาล์ม	0.38
วิตามินรวม*	2
แร่ธาตุรวม**	2
วิตามินซี 99%	0.5
BHT	0.02
เลซิทิน	1
รำ	5.98
แกลบ	3
CMC	1

หมายเหตุ * วิตามินรวม ประกอบด้วยวิตามินตาม Conklin (1997) ในปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมวิตามินรวม thiamin (B1) 45, riboflavin (B2) 40.32, nicotinic acid 73.4, Ca-pantothenate (B5) 48, inositol 196, biotin 1, folic acid 3.36, cyanocobalamin (B12) 0.01, menadione (K) 26.56, Vit A/D3 4.6, BHT 2 และ cellulose 559.75

** แร่ธาตุรวม ประกอบด้วยแร่ธาตุดังต่อไปนี้ในอัตราส่วน KH_2PO_4 1.0; $CaHPO_4.2H_2O$ 1.0; $NaH_2PO_4.2H_2O$ 1.5; KCl 0.5 (Davis and Lawrence, 1997)

3. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบและองค์ประกอบกรดไขมันในอาหารทดลอง แสดงในตารางที่ 2 และ 3

ทั้งนี้อาหารสูตรทดลองมีโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) จากอาหารชุดควบคุมทั้ง 3 ขนาด มีไขมันและพลังงานรวมต่ำกว่าอาหารสูตรควบคุมทั้ง 3 ขนาดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้อาหารสูตรทดลองมีเยื่อใยและเถ้าสูงกว่าอาหารชุดควบคุม ($p<0.05$)

ชนิดของกรดไขมันในอาหารสูตรทดลองและชุดควบคุมไม่แตกต่างกัน มีกรดไขมันหลัก ได้แก่ 16:0, 18:1n-9 และ 18:2n-6 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (HUFA) ชนิด 20:4n-6 (Arachidonic acid; ARA), 20:5n-3 (Eicosapentaenoic acid; EPA) และ 22:6n-3 (Docosahexaenoic acid; DHA) เมื่อพิจารณาสัดส่วนของกรดไขมันกลุ่มต่าง ๆ พบว่าอาหารทดลองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันกลุ่ม n-6 ต่ำกว่าอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง n-3 HUFA และอัตราส่วน n-3/n-6 แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จากอาหารชุดควบคุม ($p>0.05$)

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

สูตรที่	ความชื้น	องค์ประกอบ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)					พลังงานรวม
	%	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต	(กิโลแคลรี่/ 100 กรัม)
1. อาหารสูตรทดลอง	9.8±1.5^{a}	43.4±1.9^{ab}	8.0±0.7^{b}	4.7±0.5^{a}	15.4±0.5^{a}	28.6±2.0^{b}	437±8^{b}
2. อาหารชุดควบคุม							
เบอร์ 2	8.5±0.2^{ab}	44.9±0.4^{a}	9.6±0.7^{a}	2.1±0.2^{b}	11.6±0.7^{b}	31.7±0.8^{b}	474±6^{a}
เบอร์ 3	8.4±0.2^{ab}	42.3±1.0^{ab}	9.4±0.4^{a}	1.9±0.3^{b}	10.5±0.0^{b}	35.8±0.4^{a}	474±1^{a}
เบอร์ 4 เอส	7.4±0.7^{b}	41.7±0.5^{b}	10.6±0.6^{a}	1.5±0.2^{b}	10.8±0.6^{b}	35.4±1.3^{a}	481±2^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมัน (% Area) ของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

Fatty acid	สูตรอาหาร			
	อาหารทดสอบ	อาหารชุดควบคุม		
		เบอร์ 2	เบอร์ 3	เบอร์ 4S
C 14:0	2.91±0.13[a]	2.28±0.04[b]	2.64±0.20[a]	2.64±0.01[a]
C 16:0	24.04±0.78	19.46±0.08[b]	19.99±0.37	19.62±0.42
C 16:1	2.86±0.41[a]	2.88±0.06[b]	3.23±0.17[b]	3.22±0.04[b]
C 18:0	6.53±0.22[a]	5.82±0.06[b]	6.03±0.10[b]	5.80±0.18[b]
C 18:1n-9	16.32±0.79[b]	19.02±0.72[a]	17.43±1.26	15.99±0.48
C 18:1n-7	2.28±0.49[a]	2.17±0.02[a]	2.36±0.14[a]	2.39±0.17[a]
C 18:2n-6	19.85±1.98[b]	24.94±0.26[a]	23.07±1.11	24.80±0.36
C 18:3n-3	1.98±0.22[b]	2.97±0.08[a]	3.04±0.32[a]	3.34±0.29[a]
C 18:4n-3	0.31±0.03[a]	0.42±0.02[b]	0.46±0.06[b]	0.48±0.01[b]
C 20:1	0.62±0.21[b]	1.04±0.01[ab]	1.19±0.25[a]	1.04±0.26[ab]
C 20:3n-6	0.20±0.01[b]	0.29±0.03[a]	0.29±0.03[a]	0.27±0.03[a]
C 20:4n-6	1.36±0.21[a]	1.06±0.03[b]	1.14±0.04[ab]	1.09±0.02[b]
C 20:4n-3	0.17±0.01[b]	0.28±0.01[a]	0.27±0.02[a]	0.27±0.02[a]
C 20:5n-3	2.74±0.93[a]	2.65±0.08[a]	3.15±0.23[a]	3.28±0.02[a]
C 22:5n-3	0.86±0.08[b]	0.93±0.02[ab]	1.03±0.08[a]	1.12±0.02[a]
C 22:6n-3	9.22±1.28[a]	6.62±0.70[b]	7.73±0.29[b]	7.98±0.50[ab]
Total saturated fatty acids	**36.61±1.56[a]**	**30.06±0.04[b]**	**31.07±0.26**	**30.46±0.09**
Total unsaturated fatty acids	**60.15±1.60[b]**	**66.59±0.17[a]**	**65.80±0.89[a]**	**66.55±1.14[a]**
Total n-3 fatty acids	**15.28±2.12**	**13.99±0.68[a]**	**15.74±0.85**	**16.53±0.72**
n-3 highly unsaturated fatty acids	**12.99±2.30**	**10.60±0.75[a]**	**12.24±0.59**	**12.71±0.44**
Total n-6 fatty acids	**22.00±1.37**	**26.53±0.25[a]**	**24.74±1.04**	**26.41±0.31**
n-3/n-6	**0.70±0.14[a]**	**0.53±0.03[a]**	**0.64±0.04[a]**	**0.63±0.02[a]**

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

4. ระบบการเลี้ยงและการทดลอง

4.1 เตรียมบ่อ โดยใช้บ่อดินขนาด 1 ไร่ จำนวน 4 บ่อ ตากบ่อจนแห้ง จึงสูบน้ำทะเลจากบ่อบำบัดน้ำชีวภาพผ่านถุงกรองน้ำเข้าบ่อให้มีความลึกประมาณ 40 เซนติเมตร ไถพรวนดินก้นบ่อโดยใช้เรือคราดจำนวน 2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน เพื่อบำบัดของเสียและป้องกันการสะสมของเสียที่พื้นบ่อตามวิธีของอนันต์และคณะ (2544) จากนั้นจึงสูบน้ำทะเลเข้าบ่อเลี้ยงและผสมน้ำจืดจากบ่อบาดาล (ความเค็มประมาณ 3-5 ส่วนในพัน) ให้มีความเค็มตามต้องการ เปิดเครื่องตีน้ำให้น้ำผสมเข้ากัน ก่อนใช้แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 30 ส่วนในล้านเพื่อฆ่าเชื้อในขั้นตอนการเตรียมน้ำครั้งแรกเพียงครั้งเดียว ให้อากาศตลอดเวลาประมาณ 5-7 วันเมื่อหมดฤทธิ์คลอรีนจึงปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยง พร้อมติดตั้งระบบการให้อากาศแบบ Air litt ที่มุมบ่อทั้ง 4 มุม เมื่อเมื่อกุ้งมีอายุ 2 เดือนครึ่งจึงเริ่มเปิดเครื่องตีน้ำเพิ่มอากาศ

4.2 น้ำเค็มที่ใช้เลี้ยงเป็นน้ำทะเลที่สูบมาเก็บและพักไว้ในบ่อพักน้ำขนาด 5 ไร่เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 2 เดือน บำบัดโดยวิธีทางชีวภาพมีสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) และสาหร่ายมงกุฎ

หนาม (*Acanthophora spicifera*) ช่วยในการดูดซับสารอาหาร ปราศจากการใช้สารเคมี ใช้ในการเตรียมน้ำและเติมน้ำในบ่อเลี้ยงระหว่างการทดลอง

4.3 ปล่อยลูกกุ้งกุลาดำระยะกุ้งPL 15 ขนาด 1.5 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 0.01±0.0004 กรัม อัตราปล่อย 45,000 ตัว ต่อบ่อ (30 ตัว/ตร.ม.) ระหว่างการทดลองทำการไถพรวนดินก้นบ่อทุก 3 วัน เพื่อบำบัดของเสียและป้องกันการสะสมของเสียที่พื้นบ่อตามวิธีของอนันต์และคณะ (2544) ระหว่างการเลี้ยงไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อ แต่เติมน้ำทะเลจากบ่อพักน้ำผ่านถุงกรองเพื่อรักษาระดับน้ำในบ่อเลี้ยงที่ระเหยหรือรั่วซึม หรือเติมน้ำจืดเพื่อรักษาความเค็มของน้ำในบ่อเลี้ยงไม่ให้สูงมากจนเกินไป

4.4 การจัดการอาหาร ในช่วง 7 วันแรกของการเลี้ยงให้อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยเป็นอาหารวันละ 10 กิโลกรัม จากนั้นเริ่มให้อาหารเม็ด วันละ 3 ครั้ง เวลา 7.00, 13.00 และ 19.00 น. ปรับขนาดเม็ดอาหารและปริมาณอาหารตามขนาดกุ้งและอายุการเลี้ยง โดยใช้ตารางการให้อาหารสำเร็จรูป เมื่อกุ้งเริ่มเข้ายอหลังจากปล่อยเลี้ยง 20 วันจึงปรับปริมาณอาหารโดยวิธีทดสอบการกินอาหารจากในยอ และสุ่มชั่งน้ำหนักกุ้งเพื่อคำนวณอาหาร

5. การรวบรวมข้อมูล

5.1 เก็บตัวอย่างน้ำจำนวน 5 จุดต่อบ่อ บริเวณรอบบ่อทั้ง 4 จุด และกลางบ่อ 1 จุด ความลึกประมาณ 30 เซนติเมตรมาวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยวิธี Phenol hypochlorite method ไนไตรท์-ไนโตรเจน ด้วยวิธี diazotization (Strickland and Parsons, 1972) และค่าความเป็นด่างตามวิธี 403 potentiometric titration to pre-selected pH (APHA, 1980), pH โดยใช้ pH meter ของ HACH model sension 2 ความเค็มโดยเครื่องวัดความเค็ม ATAGO S/mill

5.2 ตรวจสอบการเจริญเติบโตของกุ้งทุก 2 สัปดาห์ โดยการสุ่มกุ้ง 20 ตัวต่อครั้ง จำนวน 4 จุดต่อบ่อมาวัดขนาดและชั่งน้ำหนัก และบันทึกการให้อาหาร จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลองประเมินจากผลผลิตกุ้งที่ได้เมื่อสิ้นสุดการทดลองและขนาดกุ้ง และนำไปใช้ในการคำนวณอัตราการรอดตาย

5.3 ระยะเวลาเลี้ยง นาน 105 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างกุ้งไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอย่างหยาบและกรดไขมันด้วยวิธีเดียวกันกับการวิเคราะห์อาหารในข้อ 2

5.4 คำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio; PER)

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของโปรตีนในอาหารที่กุ้งกิน (กรัม)}}$$

6. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ผลผลิตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ independent sample t-test (Sokal and Rohlf, 1981)