บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์

1.พันธุ์ปลาดุกบิ๊กอุย ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 2.0-3.0 กรัม จำนวน 800 ตัว

2.กะบะพลาสติก ขนาดความจุ 50 ลิตร จำนวน 16 ใบ

3.อุปกรณ์ให้อากาศ จำนวน 16 ชุด

4.วัตถุดิบที่ใช้ในการทำอาหารทดลอง (ตารางที่ 1)

5.เครื่องบดอาหาร

6.เครื่องผสมอาหารแบบใบพัด (Twin-shell blender)

7.เครื่องอัดเม็ดอาหารแบบมินเซอร์ (Mincer)

8.เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Sartorius)

9.เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius)

10.เครื่องวัดสี (Chroma meter)

วิธีการทดลอง

1.การวางแผนการทดลอง จัดการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Diesign, CRD) แต่ละชุดการทดลองมี 4 ทรีทเมนท์ แต่ละทรีทเมนท์ มี 4 ซ้ำ โดยปัจจัยที่ศึกษาคือแหล่งของคาร์โรทินอยด์ที่ใช้ในการปรับสีผิวและสีเนื้อปลาดุกบิ๊กอุย คือ สไปรูไลน่า หอยแมลงภู่ และแกลบกุ้ง ที่แตกต่างกัน ดังนี้

ทรีทเมนท์ที่ 1 เป็นอาหารสูตรควบคุม

ทรีทเมนท์ที่ 2 เป็นอาหาร เสริมด้วยสไปรูไลน่า 10 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเมนท์ที่ 3 เป็นอาหาร เสริมด้วยหอยแมลงภู่ 10 เปอร์เซ็นต์

ทรีทเมนท์ที่ 4 เป็นอาหาร เสริมด้วยแกลบกุ้ง 10 เปอร์เซ็นต์

2.การเตรียมปลาทดลอง เลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยขนาดเล็ก ในถังไฟเบอร์ขนาด 2,000 ลิตร และฝึกให้คุ้นเคยกับการกินอาหารเม็ดจมน้ำ โดยเลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุม วันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 น. และ 16.00 น. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ปลาคุ้นเคยกับสภาพของการทดลอง จากนั้นคัดเลือกปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 2.0 – 3.0 กรัม จำนวน 250 ตัว สุ่มจำนวน 20 ตัว ใส่ในกะบะพลาสติก บรรจุน้ำ 30 ลิตร และกะบะพลาสติกทุกใบติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศและเปลี่ยนถ่ายน้ำก่อนให้อาหารในตอนเช้าทุกวัน เพื่อให้คุณภาพน้ำเหมาะสมตลอดเวลาในการเลี้ยง

3.การเตรียมอาหารทดลอง อาหารทดลองประกอบด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ตารางที่ 3) ประกอบด้วย ปลาป่น และกากถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีน น้ำมันปลา และน้ำมันถั่วเหลือง เพื่อเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น เดร็กตริน เป็นแหล่งพลังงาน สไปรูไลน่า แกลบกุ้ง และหอยแมลงภู่ เป็นแหล่งของคาร์โรทินอยด์ ทุกสูตรปรับค่าโภชนะให้ใกล้เคียงกัน โดยอาหารแต่ละสูตร มีโปรตีน 32-33 เปอร์เซ็นต์ พลังงานที่ย่อยได้ใกล้เคียงกัน คือ 2.8 กิโลแคลอรี่ ต่ออาหาร 1 กรัม ซึ่งคำนวณจากระดับพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีค่า 3.5, 8.1 และ 2.5 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม ตามลำดับ (NRC, 1983)

นำวัตถุดิบที่เป็นของแห้ง มาผสมกันด้วยเครื่องผสมอาหารแบบใบพัด (Twin-shell blender) ประมาณ 15-20 นาที หรือจนกว่าผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมน้ำมันผสมให้เข้ากัน เติมน้ำประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้อาหารมีการยึดเกาะตัวกันดีขึ้น จากนั้นนำไปอัดด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารแบบมินเซอร์ (Mincer) ผ่านหน้าแว่นที่มีรูขนาด 1.6 มิลลิเมตร นำอาหารไปผึ่งแดดให้แห้ง เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง เก็บไว้ใช้ตลอดการทดลอง

ตารางที่ 3 ปริมาณของอาหารทดลองทรีทเมนท์ต่าง ๆ ของน้ำหนักแห้ง (เปอร์เซ็นต์)

วัตถุดิบอาหาร	ทรีทเมนท์			
	ทรีทเมนท์ที่ 1	ทรีทเมนท์ที่ 2	ทรีทเมนท์ที่ 3	ทรีทเมนท์ที่ 4
สไปรูไลน่า	-	10.0	-	-
หอยแมลงภู่	-	-	10.0	-
แกลบกุ้ง	-	-	-	10.0
ปลาป่น	30.0	20.0	25.0	35.0
กากถั่วเหลือง	39.6	39.6	34.6	24.6
น้ำมันปลา	0.7	0.7	0.7	0.7
น้ำมันถั่วเหลือง	2.0	2.0	2.0	2.0
เดร็กตริน	25.0	25.0	25.0	25.0
วิตามินรวม	1.0	1.0	1.0	1.0
โคลีนคลอไรด์	0.2	0.2	0.2	0.2
วิตามินซี	1.0	1.0	1.0	1.0
แร่ธาตุรวม	0.5	0.5	0.5	0.5
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0
เปอร์เซ็นต์โปรตีน	32.8	33.8	33.07	32.07
พลังงาน (K Cal)	399.45	372.75	393.81	381.35

4.การวิเคราะห์ทางเคมี นำอาหารทดลองแต่ละสูตร ที่ผ่านการผสมและอัดเม็ดอาหารแล้ว ไปวิเคราะห์หาปริมาณ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และใยอาหาร ตามวิธีของ AOAC, 1990 ค่าไนโตรเจนฟรีเอกเทรกท์ (Nitrogen Free Extract, NFE) และนำอาหารทดลองไปวิเคราะห์ค่าพลังงานในอาหาร

5.การจัดการทดลอง ปลาที่ทดลอง จะได้รับอาหารอย่างเต็มที่ วันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 น. และ 16.00 น. ทุกวัน ภายหลังปลาไม่สนใจกินอาหาร ถ้าสังเกตเห็นมีอาหารเหลือตาค้างอยู่ในกะบะทดลอง ทำการดูดอาหารออก แล้วนำไปทำให้แห้ง และชั่งน้ำหนัก เพื่อทราบจำนวนอาหารที่ปลากินแน่นอน เมื่อเลี้ยงปลาทุก ๆ 2 สัปดาห์ ทำการนับจำนวนและชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละทรีทเมนท์ สุ่มปลาซ้ำละ 10 ตัว วัดความยาว เพื่อตรวจสอบอัตรารอดและการเจริญเติบโต เลี้ยงจนครบ 10 สัปดาห์ ตรวจนับจำนวนปลาที่เหลือ และชั่งน้ำหนักรวมในแต่ละซ้ำ สุ่มปลาซ้ำละ 10 ตัว วัดความยาว จากนั้นบันทึกภาพเพื่อเปรียบเทียบสีผิวของปลาทดลอง จากนั้นแล่เนื้อปลาในแต่ละซ้ำไปวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Chroma meter) โดยใช้ระบบ CIE L* a* b*

6.การวิเคราะห์ตัวปลา ก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำตัวปลาเริ่มต้น และปลาทดลองในแต่ละทรีทเมนท์ นำไปหาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใย ค่าไนโตรเจนฟรีเอกเทรกท์ วิเคราะห์พลังงาน เช่นเดียวกับการวิเคราะห์อาหารทดลอง

7.การศึกษาอิทธิพลของอาหารทดลองแต่ละสูตรต่อปลาทดลอง โดยพิจารณาจาก

7.1 น้ำหนักเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Weight Gain, WG) (กรัม)

$$WG = W(2) - W(1)$$

W(1) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาเริ่มการทดลอง

W(2) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาสิ้นสุดทดลอง

7.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (Specific Growth Rate, SGR) (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

$$SGR = \left[\frac{\ln(\text{นน.สิ้นสุดการทดลอง}) - \ln(\text{นน.เริ่มการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาทดลอง (วัน)}} \right] \times 100$$

7.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio, FCR)

$$FCR = \frac{\text{นน.อาหารแห้งที่ปลากิน}}{\text{นน.ปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

7.4 ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio,PER)

$$PER = \frac{\text{นน.ปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{นน.โปรตีนที่ปลากิน}}$$

7.5 โปรตีนที่เพิ่มขึ้นในตัวปลา (Apparent Net Protein Retention, ANPR) (เปอร์เซ็นต์)

$$ANPR = \frac{[\ W(2) \times P(2)\ ] - [\ W(1) \times P(1)\ ] \times 100}{P}$$

W(1) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาเริ่มการทดลอง

W(2) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาสิ้นสุดทดลอง

P = นน.โปรตีนในอาหารที่ปลากิน

P(1) = เปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวปลา (เริ่มต้นการทดลอง)

P(2) = เปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวปลา (สิ้นสุดการทดลอง)

7.6 พลังงานที่เพิ่มขึ้นในตัวปลา (Apparent Net Energy Retention, ANER)

$$ANER = \frac{[\ W(2) \times E(2)\ ] - [\ W(1) \times E(1)\ ] \times 100}{E}$$

W(1) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาเริ่มการทดลอง

W(2) = นน.เฉลี่ย (กรัม) ของปลาสิ้นสุดทดลอง

E = นน.พลังงานในอาหารที่ปลากิน

E(1) = เปอร์เซ็นต์พลังงานในตัวปลา (เริ่มต้นการทดลอง)

E(2) = เปอร์เซ็นต์พลังงานในตัวปลา (สิ้นสุดการทดลอง)

7.7 อัตรารอด (Survival rate) (เปอร์เซ็นต์)

$$\text{อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มทำการทดลอง}} \times 100$$

7.8 ค่าสีผิวและเนื้อปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

7.9 ความยาวลำไส้

$$\text{ความยาวลำไส้ (เปอร์เซ็นต์ความยาวลำตัว)} = \frac{\text{ความยาวลำไส้}}{\text{ความยาวลำตัว}} \times 100$$

7.10 น้ำหนักกระเพาะอาหาร

$$\text{น้ำหนักกระเพาะอาหาร (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว)} = \frac{\text{น้ำหนักกระเพาะอาหาร}}{\text{น้ำหนักตัว}} \times 100$$

7.11 ดัชนีตับ

$$\text{น้ำหนักตับ (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว)} = \frac{\text{น้ำหนักตับ}}{\text{น้ำหนักตัว}} \times 100$$

7.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักของปลา (Length-weight relationship)

7.13 ดัชนีความอ้วนท้วน (Condition Index)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่เกิดขึ้นจากความแตกต่างของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง วิเคราะห์โดยวิธีวาเรียนซ์ (analysis of variance) และการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการตอบสนองโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS version 11.5

สถานที่ทำการทดลอง

อาคารปฏิบัติการโปรแกรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง เดือนมีนาคม พ.ศ.2549

สิ้นสุดการทดลอง เดือนเมษายน พ.ศ.2550