บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ

ชุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

ชุดที่ 2 ศึกษาการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย

วัสดุและอุปกรณ์

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเพาะเชื้อ หลอดเลี้ยงเชื้อ ขวดรูปชมพู่ ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์
- เครื่องวัดพีเอช
- กล้องจุลทรรศน์
- หม้อนึ่งความดันไอ
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- กล้องจุลทรรศน์พร้อมกล้องถ่ายรูป
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเก็บสาหร่าย
- ขวดโหล
- ฟิล์มถ่ายรูป และวัสดุสิ้นเปลืองอื่นๆ
- อุปกรณ์ให้อากาศ
- อุปกรณ์ในการประกอบตู้ปลาขนาด45 x 65 x 30 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้
- เครื่องบดอาหาร
- เครื่องอัดเม็ดอาหารปลา
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใย
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน
- เครื่องชั่ง
- เครื่องวัดความเข้มสี รุ่น Color Hunter Lab

- สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 Medium, Allen's Medium และ NS III Medium

- ลูกปลาดุกบิ๊กอุย ขนาด 1-2 นิ้ว จำนวน 500 ตัว

- วัตถุดิบในการผลิตอาหารปลา เช่น ปลาป่น สาหร่ายขนาดเล็ก กากถั่วเหลือง รำ ปลายข้าว แป้งเหนียว น้ำมันพืช น้ำมันปลาหมึก วิตามินและแร่ธาตุ

ชุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

1. การเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

เตรียมอาหารแข็งและอาหารเหลว BG-11, Allen's และ NS III เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณสาหร่ายและการเก็บรักษาสาหร่าย ทำตามวิธีภาคผนวก ก

2. ศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์

2.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำสาหร่าย *Chlorella* sp. , *Aphanothece saxicola* sp. และ *Haematococcus* sp. ในอาหารแข็ง ซึ่งเก็บรวบรวมไว้ที่โปรแกรมชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จำนวน 3-4 Loop มาเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11, Allen' s และ NSIII ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ภายใต้แสงฟลูออเรสเซน 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 29 $\pm$1 เป็นเวลา 14 วัน วัดความหนาแน่นของเชื้อ (OD_{750}) ให้ได้ เท่ากับ 0.5 ใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

2.2 การเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ระยะเวลาต่างๆ

นำหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงในข้อ (2.1) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงสาหร่ายแต่ละชนิด ปริมาตร 370 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask 500 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงโดยการให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน เป็นเวลาอย่างน้อย 16 วัน เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กทุก 2 วัน ปริมาตรที่เก็บครั้งละ 30 มิลลิลิตร นำมาศึกษาพีเอช การเจริญเติบโตของสาหร่าย การผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยการเจริญเติบโตจะชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์วัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430, 450 และ 480 นาโนเมตร

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) โดยวิธี (Lowry *et al.*, 1951)

การวิเคราะห์โปรตีนละลายน้ำได้ ทำตามวิธีภาคผนวก ข

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์

2.4.1 นำ culture broth ของสาหร่าย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบ เป็นเวลา 20 นาที ชั่งน้ำหนักเซลล์

2.4.2 นำเซลล์มาสกัด โดยบดเซลล์ให้แตก จากนั้นเติม acetone 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม Diethyl ether 5 มิลลิลิตร

2.4.3 หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบ 20 นาที

2.4.4 นำส่วนใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง ไปวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430, 450 และ480 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = E_{430,\,450,\,480} \times 3.86 \times \frac{\text{ปริมาตรอะซิโตนที่สกัดได้}}{\text{ปริมาตรอะซิโตนที่นำมาสกัด}} \qquad (1)$$

หมายเหตุ E = ค่าการดูดกลืนแสง

3. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยวิธี Two-level factorial design

3.1 การออกแบบสูตรอาหาร

นำสูตรอาหารที่เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่ดีที่สุด คือสูตร Allen ที่ประกอบด้วย $NaNO_3$ 1.5 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.04 กรัมต่อลิตร $MgSO_4 \cdot 7H_20$ 0.075 กรัมต่อลิตร $CaCl \cdot 2H_2O$ 0.020 กรัมต่อลิตร และ Trace element 1 กรัมต่อลิตร มาออกแบบสูตรอาหารด้วยวิธี two-level factorial design ที่ระดับความเข้มข้นของสารอาหาร 2 ระดับ จากระดับความเข้มข้นเดิม คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (lower level) โดยกำหนดสัญลักษณ์ -1 และระดับความเข้มข้นสูงสุด (upper level) โดยกำหนดสัญลักษณ์ +1 ส่วนองค์ประกอบของสารอาหารกำหนดสัญลักษณ์ A B C D และ E แทน $NaNO_3$, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_20$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ และ trace element ตามลำดับ และกำหนด ให้ค่า A มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.5 g/l และสูงสุด 2.5 g/l B มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.02 g/l และสูงสุด 0.06 g/l C มีค่าความเข้มข้นของ สารต่ำสุด 0.055 g/l และสูงสุด 0.095 g/l D มีค่าความเข้มข้นของ สารต่ำสุด 0.01 g/l และสูงสุด 0.03 g/l E มีความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.50 g/l และสูงสุด 1.50 g/l (แสดงในตารางที่ 3.1) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 3.1 เข้าโปรแกรม Design Expert DX 7 จะได้สูตรอาหารทั้งหมด 32 สูตร (แสดงในตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.1 การออกแบบสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เพื่อผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยวิธี two-level factorial design ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดและสูงสุด

ตัวแปร (Variables) (g/l)	สัญลักษณ์ของปัจจัย (Codes level, Factors)			ปัจจัยในรูปของ ξ_i (Factors in terms of ξ_I)
	ξ_I	-1	+1	
A = $NaNO_3$	ξ_1	0.50	2.50	A = $(\xi_1 - 1.50)/1$
B = K_2HPO_4	ξ_2	0.02	0.06	B = $(\xi_2 - 0.04)/0.02$
C = $MgSO_4 \cdot 7H_20$	ξ_3	0.055	0.095	C = $(\xi_3 - 0.075)/0.02$
D = $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	ξ_4	0.01	0.03	D = $(\xi_4 - 0.02)/0.01$
E = trace element	ξ_5	0.50	1.50	E = $(\xi_5 - 1.0)/0.5$

หมายเหตุ : ξ_I คือ ความเข้มข้นของปัจจัยที่ระดับ Upper และ Lower ซึ่งมีสัญลักษณ์เป็น -1 และ +1

ตารางที่ 3.2 Factorial design matrix ของสูตรอาหารเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เพื่อผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์

สูตรอาหารที่	ตัวแปร									
	A[a]	B[a]	C[a]	D[a]	E[a]	A[b]	B[b]	C[b]	D[b]	E[b]
1	-1	-1	-1	-1	-1	0.50	0.02	0.055	0.01	0.5
2	-1	-1	-1	-1	+1	0.50	0.02	0.055	0.01	1.5
3	+1	-1	-1	+1	+1	2.50	0.02	0.055	0.03	1.5
4	-1	-1	+1	-1	-1	0.50	0.02	0.095	0.01	0.5
5	+1	+1	+1	+1	+1	2.50	0.06	0.095	0.03	1.5
6	+1	+1	-1	+1	+1	2.50	0.06	0.055	0.03	1.5
7	+1	+1	-1	+1	-1	2.50	0.06	0.055	0.03	0.5
8	+1	+1	-1	-1	+1	2.50	0.06	0.055	0.01	1.5
9	-1	-1	-1	+1	+1	0.50	0.02	0.055	0.03	1.5
10	+1	-1	+1	-1	-1	2.50	0.02	0.095	0.01	0.5
11	+1	+1	+1	-1	-1	2.50	0.06	0.095	0.01	0.5
12	-1	+1	-1	-1	-1	0.50	0.06	0.055	0.01	0.5
13	+1	-1	-1	-1	+1	2.50	0.02	0.055	0.01	1.5
14	+1	-1	-1	-1	-1	2.50	0.02	0.055	0.01	0.5
15	-1	+1	-1	+1	+1	0.50	0.06	0.055	0.03	1.5
16	+1	+1	+1	+1	-1	2.50	0.06	0.095	0.03	0.5
17	-1	+1	+1	-1	+1	0.50	0.06	0.095	0.01	1.5
18	-1	+1	+1	-1	-1	0.50	0.06	0.095	0.01	0.5
19	+1	-1	+1	+1	+1	2.50	0.02	0.095	0.03	1.5
20	-1	-1	+1	+1	-1	0.50	0.02	0.095	0.03	0.5
21	-1	+1	-1	-1	+1	0.50	0.06	0.055	0.01	1.5
22	+1	+1	+1	-1	+1	2.50	0.06	0.095	0.01	1.5
23	+1	+1	-1	-1	-1	2.50	0.06	0.055	0.01	0.5
24	+1	-1	-1	+1	-1	2.50	0.02	0.055	0.03	0.5
25	+1	-1	+1	-1	+1	2.50	0.02	0.095	0.01	1.5
26	-1	-1	-1	+1	-1	0.50	0.02	0.055	0.03	0.5
27	-1	-1	+1	+1	+1	0.50	0.02	0.095	0.03	1.5
28	-1	-1	+1	-1	+1	0.50	0.02	0.095	0.01	1.5
29	-1	+1	+1	+1	+1	0.50	0.06	0.095	0.03	1.5
30	+1	-1	+1	+1	-1	2.50	0.02	0.095	0.03	0.5
31	-1	+1	+1	+1	-1	0.50	0.06	0.095	0.03	0.5
32	-1	+1	-1	+1	-1	0.50	0.06	0.055	0.03	0.5
สูตรดั้งเดิม	0	0	0	0	0	1.50	0.04	0.075	0.02	1.0

หมายเหตุ : -1 แทนความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

+1 แทนความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

0 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรดั้งเดิม

สารอาหารชนิดอื่นๆ ที่มีอยู่ในสูตร Allen ใช้ความเข้มข้นเหมือนเดิม

[a] คือ Pseudo coded และ [b] คือ Real coded

3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสูตรอาหารที่ออกแบบสูตรด้วยวิธี two-level factorial design

3.2.1 การเตรียมเชื้อสาหร่าย

ทำการทดลองตามวิธีที่ 2 (2.1)

3.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

นำสาหร่ายที่ผลิตโปรตีนดีที่สุด มาศึกษาการผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยนำมาเลี้ยงในอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ จากนั้นบ่มไว้เป็นเวลาที่เหมาะสมของเชื้อที่คัดเลือกได้ ภายใต้แสงฟลูออเรสเซน 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำสาหร่ายที่เลี้ยงในแต่ละสูตรอาหารมาวัดการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีน และแคโรทีนอยด์

4. การเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการผลิตโปรตีนสูงสุด ปริมาตร 10 % มาเลี้ยงในขวดโหลปราศจากเชื้อ ที่บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กปริมาตร 10 ลิตร ให้อากาศ และบ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน ที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส เขย่าขวดโหลทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน นำสาหร่ายไปชั่งน้ำหนักแห้ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย

นำสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการผลิตโปรตีนสูงสุด มาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณไขมัน ปริมาณน้ำตาล และปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ข)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์การตอบสนองต่อพื้นผิว (Response Surface Methodology) เพื่อใช้ในการทำนายสูตรอาหารที่เหมาะสมและปัจจัยของสารอาหารที่เกี่ยวข้องต่อการผลิตโปรตีนและแคโรทีนอยด์ โดยใช้โปรแกรม Design Expert 7.0.1 software

ชุดที่ 2 ศึกษาชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย

1. วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีทเมนต์ (Treatment) แต่ละทรีทเมนต์ มี 3 ซ้ำ (Replication) โดยให้ปลาดุกบิ๊กอุยได้รับโปรตีนจากสาหร่าย *Aphanothece saxicola* (O.D. 1.088) ในระดับต่าง ๆ กัน ดังนี้คือ 0 %, 10 %, 20 % และ 30 %ตามลำดับ ทั้งหมดมี 12 หน่วยทดลอง ซึ่งแต่ละหน่วยทดลองใช้จำนวนปลาหน่วยทดลองละ 40 ตัว

2. เตรียมตู้ทดลองขนาด 45 x 65 x 30 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้ เติมน้ำลงในตู้ทดลองประมาณ 70 ลิตร ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศทุกตู้ เพื่อให้อากาศตลอดเวลา จากนั้นทำการสุ่มตู้

ทดลองเพื่อเลี้ยงปลาในแต่ละทรีทเมนต์ และเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมตลอดการทดลอง จึงมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันก่อนให้อาหารโดยใช้วิธีกาลักน้ำและเติมน้ำให้ได้ระดับเดิมทุกวัน

3. เตรียมวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารทดลอง เช่น ปลาป่น สาหร่าย *Aphanothece saxicola* กากถั่วเหลือง รำ ปลายข้าว แป้งเหนียว น้ำมันพืช น้ำมันปลาหมึก วิตามินและแร่ธาตุ ตามสัดส่วนในตารางที่ 3.3 จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน อัดเม็ดอาหารที่ผสมเข้ากันดีแล้ว ด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารไฟฟ้าแบบมินเซอร์ จากนั้นนำไปผึ่งแดดให้แห้งเพื่อไล่ความชื้นออก เก็บไว้ในภาชนะที่กันความชื้น และเก็บตัวอย่างอาหารปลาแต่ละทรีทเมนต์ เพื่อไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ขและค)

ตารางที่ 3.3 วัตถุดิบอาหารสำหรับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับโปรตีนจากสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับต่าง ๆ

วัตถุดิบ	ทรีทเมนต์ที่ 1	ทรีทเมนต์ที่ 2	ทรีทเมนต์ที่ 3	ทรีทเมนต์ที่ 4
ปลาป่น	30	20	10	0
สาหร่าย *Aphanothece saxicola*	0	10	20	30
กากถั่วเหลือง	20	20	20	20
รำ	15	15	15	15
ปลายข้าว	16	16	16	16
แป้งเหนียว	14	14	14	14
น้ำมันพืช	2	2	2	2
น้ำมันปลาหมึก	2	2	2	2
วิตามิน	1	1	1	1
แร่ธาตุ	1	1	1	1

ที่มา : ดัดแปลงจาก บุญชัย,2532.

4. สุ่มลูกปลาดุกบิ๊กอุยขนาดประมาณ1-2 นิ้ว จำนวน 500 ตัว มาพักไว้ในถังไฟเบอร์ เพื่อให้ลูกปลาคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและฝึกให้กินอาหารสูตรควบคุมเป็นเวลา 2 สัปดาห์

5. เมื่อเริ่มทำการทดลอง คัดเลือกปลาที่มีขนาดและน้ำหนักเท่า ๆ กัน ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น สุ่มลูกปลาใส่ในตู้ทดลองทุกตู้ทดลอง จำนวน 12 ตู้ ๆ ละ 40 ตัว และเก็บตัวอย่างลูกปลาเพื่อไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ขและค) และวัดสีด้วยเครื่องวัดความเข้มสี รุ่น Color Flex ยี่ห้อ Hunter Lab

6. ให้อาหารปลาแต่ละทรีทเมนต์ ทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 น. และ 15.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละตู้ทดลองทุกวัน ใช้เวลาในการทดลอง 10 สัปดาห์

7. ทุก ๆ สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวปลาดุกบิ๊กอุยในแต่ละตู้ทดลอง พร้อมทั้งนับจำนวนตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักปลาทั้งหมดในแต่ละทรีทเมนต์ นับจำนวนปลาที่เหลือรอด และวัดความยาวปลาแต่ละตู้ทดลอง เก็บตัวอย่างปลาแต่ละตู้ทดลองไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ขและค)

8. ทำการประเมินอิทธิพลของอาหารทดลอง โดยตรวจสอบจาก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Daily weight gain, DWG) เปอร์เซนต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Percentage weight gain, PWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (Specific growth rate, SGR) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR) ประสิทธิภาพของอาหาร (Feed efficiency ratio, FE) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein effciency ratio, PER) อัตรารอด (Survival rate) ดรรชนีความอ้วนท้วน (Condition Factor) และความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก (Length – weight relationship) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

(1) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ,WG (กรัม)

$$WG = \text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}$$

(2) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน, DWG (กรัม/วัน)

$$DWG = (W2 - W1) / (T2 - T1)$$

โดยที่ W1 = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) เมื่อเวลา (วัน) ที่ (T1)

W2 = น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) เมื่อเวลา (วัน) ที่ (T2)

(3) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, PWG (เปอร์เซ็นต์)

$$PWG = \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย - น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

(4) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน, SGR (เปอร์เซ็นต์ ต่อวัน)

$$SGR = \frac{(\ln(\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}))}{\text{ระยะเวลาทดลอง (วัน)}} \times 100$$

(5) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ, FCR

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

(6) ประสิทธิภาพของอาหาร, FE

$$FE = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}$$

(7) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร, PER

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน}}$$

(8) อัตรารอด (%)

$$\text{อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

(9) ดรรชนีความอ้วนท้วน, K

$$K = \frac{W \times 10^5}{L^3}$$

โดยที่ W คือ น้ำหนัก มีหน่วยเป็นกรัม

L คือ ความยาวทั้งหมด มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

(10) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก

$W = a L^b$ หรือ $\text{Log } W = \text{Log } a + b \text{ Log } L$

(11) ประเมินอิทธิพลของอาหารทดลอง ต่อสีปลาดุกบิ๊กอุย ด้วยเครื่องวัดความเข้มสี รุ่น Color Hunter Lab

9. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลที่เกิดขึ้นจากความแตกต่างของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง วิเคราะห์โดยวิธีวาเรียนซ์ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการตอบสนอง โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY