

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ

ชุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีน และแครอททินอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

ชุดที่ 2 ศึกษาการใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาปันในอาหารเดี่ยงปลากุบกืออุบ

วัสดุและอุปกรณ์

- อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเพาเวซ์ หลอดเดี่ยงเชือ ขวดรูปชมพู่ ขวดอาหารเดี่ยง เชือ แผ่นสไลด์ แผ่นปีสต์สไลด์

- เครื่องวัดพีเอช

- กล้องจุลทรรศน์

- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ

- เครื่องซั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

- กล้องจุลทรรศน์พร้อมกล้องถ่ายรูป

- ตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเก็บสาหร่าย

- ขวดโอลิ

- ฟิล์มถ่ายรูป และวัสดุสิ้นเปลืองอื่นๆ

- อุปกรณ์ให้อาหาร

- อุปกรณ์ในการประกอบตู้ปลาขนาด 45 x 65 x 30 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้

- เครื่องบดอาหาร

- เครื่องขัดเม็ดอาหารปลา

- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น

- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ถ้า

- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อไข

- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน

- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน

- เครื่องซั่ง

- เครื่องวัดความเข้มสี รุ่น Color Hunter Lab

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

Medium

- ลูกปลาดุกนึ่กอุย ขนาด 1-2 นิ้ว จำนวน 500 ตัว

- วัตถุคิดในการผลิตอาหารปลา เช่น ปลาบีน สาหร่ายขนาดเล็ก กากถั่วเหลือง รำ ปลายข้าว แป้งเหนียว นำมันพีช นำมันปลาหมึก วิตามินและแร่ธาตุ

ขุดที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแครอทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

1. การเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

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

2. ศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การผลิตโปรตีนและแครอทีนอยด์

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 นำไปเลี้ยงบนเครื่องเบี้ยงที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ภายใน 60 นาที โตรโนลต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 เป็นเวลา 14 วัน วัดความหนาแน่นของเชื้อ (OD_{750}) ให้ได้เท่ากับ 0.5 ใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

2.2 การเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่ระยะเวลาต่างๆ

นำหัวเชื้อที่เพาะเลี้ยงในข้อ (2.1) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงสาหร่าย แต่ละชนิด ปริมาตร 370 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask 500 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงโดยการให้อากาศ บ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน เป็นเวลาอย่างน้อย 16 วัน เก็บตัวอย่างสาหร่ายขนาดเล็กทุก 2 วัน ปริมาตรที่เก็บครั้งละ 30 มิลลิลิตร นำมาศึกษาเพื่อเชิงการเจริญเติบโตของสาหร่าย การผลิตโปรตีนและแครอทีนอยด์ โดยการเจริญเติบโตจะชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ส่วนปริมาณแครอทีนอยด์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430, 450 และ 480 นาโนเมตร

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

การวิเคราะห์โปรตีนละลายนำ้ได้ ตามวิธีภาคพนวก ฯ

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณแครอทีนอยด์

2.4.1 นำ culture broth ของสาหร่าย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปั่นให้匀 ที่ความเร็ว รอบ 4000 รอบ เป็นเวลา 20 นาที ชั่งน้ำหนักเซลล์

2.4.2 นำเซลล์มาสักด้โดยบดเซลล์ให้แตก จากนั้นเติม acetone 10 มิลลิลิตร ป่นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม Diethyl ether 5 มิลลิลิตร

2.4.3 หมุนให้วิ่งที่ความเร็วรอบ 4000 รอบ 20 นาที

2.4.4 นำส่วนใสที่ได้จากการหมุนให้วิ่ง ไปวัดปริมาณแคร์โรทินอยด์ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430, 450 และ 480 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณแคร์โรทินอยด์ทั้งหมด โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{แคร์โรทินอยด์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = E_{430, 450, 480} \times 3.86 \times \frac{\text{ปริมาณอะซิโคนที่สักด้ได้}}{\text{ปริมาณอะซิโคนที่นำมาสักด้}} \quad (1)$$

หมายเหตุ E = ค่าการดูดกลืนแสง

3. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนและแคร์โรทินอยด์ โดยวิธี Two-level factorial design

3.1 การออกแบบสูตรอาหาร

นำสูตรอาหารที่เลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่ดีที่สุด คือสูตร Allen ที่ประกอบด้วย NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 0.04 กรัมต่อลิตร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075 กรัมต่อลิตร $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.020 กรัมต่อลิตร และ Trace element 1 กรัมต่อลิตร นาออกแบบสูตรอาหารด้วยวิธี 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 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ trace element ตามลำดับ และกำหนดให้ค่า A มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.5 g/l และสูงสุด 2.5 g/l B มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.02 g/l และสูงสุด 0.06 g/l C มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 0.055 g/l และสูงสุด 0.095 g/l D มีค่าความเข้มข้นของสารต่ำสุด 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 เพื่อผลิตโปรดีนและ
แแกโรทินอยด์ 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 ₂ HPO ₄	ξ_2	0.02	0.06	$B = (\xi_2 - 0.04)/0.02$
C = MgSO ₄ ·7H ₂ O	ξ_3	0.055	0.095	$C = (\xi_3 - 0.075)/0.02$
D = CaCl ₂ ·2H ₂ O	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 เพื่อผลิตโปรตีน
และแครอทินอยด์

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
สูตรคั่งคิม	0	0	0	0	0	1.50	0.04	0.075	0.02	1.0

หมายเหตุ : -1 แทนความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

+1 แทนความเข้มข้นของสารอาหารระดับต่ำสุด

0 แทน ความเข้มข้นของสารอาหารในสูตรคั่งคิม

สารอาหารชนิดอื่นๆ ที่มีอยู่ในสูตร Allen ใช้ความเข้มข้นเหมือนเดิม

^a คือ Pseudo coded และ ^b คือ Real coded

3.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายในสูตรอาหารที่ออกแบบสูตรคู่บิวติ์ two-level factorial design

3.2.1 การเตรียมเชื้อสาหร่าย

ทำการทดลองตามวิธีที่ 2 (2.1)

3.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

นำสาหร่ายที่ผลิต โปรตีนดีที่สุด มาศึกษาการผลิต โปรตีนและแครโทีนอยด์ โดยนำมาเลี้ยงในอาหารทั้ง 32 สูตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ จากนั้นบ่มไว้เป็นเวลาที่เหมาะสมของเชื้อที่คัดเลือกได้ ภายใต้แสงฟลูออเรสเซน 60 ไมโคร ไมล์ต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน นำสาหร่ายที่ได้รับมาวัดการเจริญเติบโต การผลิต โปรตีน และแครโทีนอยด์

4. การเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการผลิต โปรตีนสูงสุด ปริมาตร 10 % มาเดี้ยงในขวด โอลิปราศจากเชื้อ ที่บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กปริมาตร 10 ลิตร ให้อากาศ และบ่มภายใต้แสงฟลูออเรสเซน ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 องศาเซลเซียส เข้าขวดโอลิปราศทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน นำสาหร่ายไปซึ่งน้ำหนักแห้ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่าย

นำสาหร่ายขนาดเล็กที่มีการผลิต โปรตีนสูงสุด มาวิเคราะห์ปริมาณ ในโตรเจน ทั้งหมด ปริมาณไขมัน ปริมาณน้ำตาล และปริมาณถ้า ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ข)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์การตอบสนองต่อพื้นผิว (Response Surface Methodology) เพื่อใช้ในการ ทำงานยสูตรอาหารที่เหมาะสมและปัจจัยของสารอาหารที่เกี่ยวข้องต่อการผลิต โปรตีนและแครโทีนอยด์ โดยใช้โปรแกรม Design Expert 7.0.1 software

ชุดที่ 2 ศึกษานิodicของสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อกัดแทนปลาป่าในอาหารเลี้ยงปลาดุกบิกอุย

1. วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดย แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทรีทเม้นต์ (Treatment) แต่ละทรีทเม้นต์ มี 3 ชุด (Replication) โดยให้ปลาดุกบิกอุยได้รับโปรตีนจากสาหร่าย *Aphanothecce saxicola* (O.D. 1.088) ในระดับต่าง ๆ กัน ดังนี้คือ 0 %, 10 %, 20 % และ 30 % ตามลำดับ ทั้งหมดมี 12 หน่วยทดลอง ซึ่งแต่ละหน่วยทดลอง ใช้จำนวนปลาหน่วยทดลองละ 40 ตัว

2. เตรียมตู้ทดลองขนาด $45 \times 65 \times 30$ เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้ เติมน้ำลงในตู้ทดลอง ประมาณ 70 ลิตร ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศทุกตู้ เพื่อให้อากาศตลอดเวลา จากนั้นทำการสุ่มตู้

ทดสอบเพื่อถือว่าเป็นโปรตีนแต่ละทริทเมนต์ และเพื่อควบคุมคุณภาพหน้าให้เหมาะสมทดลองดังกล่าว
จึงมีการเปลี่ยนถ่าน้ำทุกวันก่อนให้อาหารโดยใช้วิธีการลักษณะเดิมน้ำให้ได้ระดับเดิมทุกวัน

3. เตรียมวัตถุดินที่ใช้ในการผลิตอาหารทดลอง เช่น ปลาป่น สาหร่าย *Aphanothece saxicola* กากถั่วเหลือง รำ ปลายข้าว แป้งเหนียว น้ำมันพืช น้ำมันปลาหมึก วิตามินและแร่ธาตุ ตามสัดส่วนในตารางที่ 3.3 จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เข้าเป็นเนื้อดีเยกวัน อัดเม็ดอาหาร ที่ผสมเข้ากันดีแล้ว ด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหาร ไฟฟ้าแบบมินเซอร์ จากนั้นนำไปผึ่งded ให้แห้งเพื่อ ไล่ความชื้นออก เก็บไว้ในภาชนะที่กันความชื้น และเก็บตัวอย่างอาหารปลาแต่ละทริทเมนต์ เพื่อ ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ขและค)

ตารางที่ 3.3 วัตถุดินอาหารสำหรับปลาดุกบีกอยู่ที่ได้รับโปรดีนจากสาหร่าย *Aphanothece saxicola* ในระดับต่างๆ

วัตถุดิน	ทริทเมนต์ที่ 1	ทริทเมนต์ที่ 2	ทริทเมนต์ที่ 3	ทริทเมนต์ที่ 4
ปลาป่น	30	20	10	0
สาหร่าย <i>Aphanothece saxicola</i>	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. สุ่มลูกปลาดุกนึ่กอุบายน้ำดีประมาณ 1-2 นิ้ว จำนวน 500 ตัว มาพักไว้ในถังไฟเบอร์เพื่อให้ลูกปลาคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและฝึกให้กินอาหารสูตรควบคุมเป็นเวลา 2 สัปดาห์

5. เมื่อเริ่มทำการทดลอง คัดเลือกปลาที่มีขนาดและน้ำหนักเท่า ๆ กัน ทำการชั้งน้ำหนักเพื่อกำหนดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น สุ่มลูกปลาใส่ในตู้ทดลองทุกตู้ทดลอง จำนวน 12 ตู้ ๆ ละ 40 ตัว และเก็บตัวอย่างลูกปลาเพื่อไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ๖และ๘) และวัดสีด้วยเครื่องวัดความเข้มสี รุ่น Color Flex ยี่ห้อ Hunter Lab

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

7. ทุก ๆ สัปดาห์ ทำการชั้งน้ำหนัก วัดความยาวปลาดุกนึ่กอุบยกับน้ำหนักในแต่ละตู้ทดลอง พร้อมทั้งนับจำนวนตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการชั้งน้ำหนักปลาทั้งหมดในแต่ละทรีเมนต์ บันทึกจำนวนปลาที่เหลือรอด และวัดความยาวปลาแต่ละตู้ทดลอง เก็บตัวอย่างปลาแต่ละตู้ทดลองไปวิเคราะห์ทางเคมี ตามวิธีของ AOAC (1999) (ภาคผนวก ๖และ๘)

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 efficiency ratio, PER) อัตราการรอด (Survival rate) โครงสร้างความอ้วนทั่ว (Condition Factor) และความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก (Length – weight relationship) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

(1) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ,WG (กรัม)

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

(2) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน, DWG (กรัม/วัน)

$$DWG = \frac{(W2 - W1)}{(T2 - T1)}$$

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

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

(3) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, PWG (เปอร์เซ็นต์)

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

(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

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

(8) อัตราอุด (%)

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

(9) ครรชนีความอ้วนทั่ว, K

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

โดยที่ W คือ น้ำหนัก มีหน่วยเป็นกรัม

L คือ ความยาวทั้งหมด มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

(10) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก

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

(11) ประเมินอิทธิพลของอาหารทดลอง ต่อสีปลาสติกอุบ ด้วยเครื่องวัด

ความเข้มสี รุ่น Color Hunter Lab

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

