บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. วัสดุ

1.1 พันธุ์ปลานิลแปลงเพศ

ใช้ปลานิลแดงแปลงเพศเป็นเพศผู้ทั้งหมดจากสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดนครศรีธรรมราช อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยนำปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 5 กรัม มาอนุบาลเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ปลาปรับตัวให้เข้ากับสภาพการทดลอง

1.2 อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นการทดลอง

อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาในระยะแรกก่อนเริ่มต้นการทดลอง เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลาดุกวัยอ่อนยี่ห้อไฮ-เกร็ด (Hy-grade) เบอร์ 9961 ซึ่งประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ และกาก 5 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารเคมี

1.3.1 สารเคมีสำหรับใช้เตรียมอาหารทดลอง (ตาราง 6 และ 7)

1.3.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองและปลาทดลอง (ภาคผนวก ก.1)

1.3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันในวัตถุดิบอาหาร (ภาคผนวก ก.2)

1.3.4 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบอาหาร (ภาคผนวก ก. 3)

1.3.5 สารเคมีที่ใช้สำหรับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของปลา (ภาคผนวก ก.4)

1.3.6 สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำ (ภาคผนวก ก.5)

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงปลาทดลอง

2.1.1 ถังไฟเบอร์กลาสกลมขนาดความจุน้ำ 2 ลูกบาศก์เมตร

2.1.2 ตู้ทดลอง ใช้ตู้กระจกขนาด 45 x 90 x 45 เซนติเมตร ความจุ 182.25 ลิตร ปิดด้วยพลาสติกสีทึบ ด้านข้างและด้านหลัง 3 ด้าน เพื่อป้องกันการรบกวนจากภายนอก

2.1.3 ชุดอุปกรณ์สำหรับให้อากาศประกอบด้วยเครื่องให้อากาศ สายยางและหัวทราย

2.1.4 ชุดอุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ ประกอบด้วย สายยางดูดตะกอน สายยางเปลี่ยนถ่ายน้ำ และปั๊มน้ำชนิดจุ่ม

2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.2.1 เครื่องเตรียมอาหารของ Hobart mixer Model A 200 T ประกอบด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด และชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.2.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร แร่ธาตุ และวิตามิน ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Research เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งของ Satorius รุ่น Basic บีกเกอร์ กระบอกตวง และถาดเตรียมอาหาร

2.2.3 ตู้แช่แข็ง สำหรับแช่อาหารทดลอง

2.3 อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ประกอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ถังบรรจุน้ำ 20 ลิตร ถังพลาสติกขนาด 3 ลิตร กะละมังพลาสติก และสวิงช้อนปลา

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองและปลาทดลอง

2.4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ขวดชั่ง (bottle weight) ตู้อบ (hot air oven) ของ memmert โถดูดความชื้น (desiccator) และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (fat extraction) ของ Soxtec system HT 6 ไส้กรองสาร ถ้วยสกัดสาร ตู้อบ โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest 1 ขวดรูปชมพู่ กระบอกตวง และบิวเรต

2.4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใยได้แก่ เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย (fiber tech system) ชนิดสกัดร้อน (hot extracter) ของ Foss M.1020 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น (desiccator) และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.5 อุปกรณ์สกัดเมทธิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid methyl ester)

ประกอบด้วย ชุดสกัดไขมัน ได้แก่ กรวยสกัด บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ หลอดฝาเกลียว กระบอกตวง เครื่องเขย่า เตาร้อน และอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2.6 อุปกรณ์ศึกษาพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ

ประกอบด้วยชุดอุปกรณ์ผ่าตัด เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ของ Technicon Corporation รุ่น Autotechnicon Mono MOD. 2A เครื่องตัดชิ้นเนื้อเยื่อของ Jung AG Heidelberg ตู้อบ อ่างน้ำอุ่น (warm bath) เตาร้อน (hot plate) สไลด์ กล้องถ่ายรูปของ Olympus รุ่น BX 50 และกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบของ Olympus รุ่น C-35 AD

2.7 อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.7.1 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิของน้ำคือ เทอร์โมมิเตอร์

2.7.2 อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen, DO) คือ DO meter ของ YSI model 57

2.7.3 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ (pH) คือเครื่อง pH meter ของ Mettler Delta รุ่น 340

2.7.4 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ความเป็นด่างของน้ำ (alkalinity) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต และชุดจับบิวเรต

2.7.5 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ความกระด้างของน้ำ (hardness) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต ชุดจับบิวเรตและเตาร้อน

3. วิธีการ

3.1 การเตรียมการทดลอง

3.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 45 x 90 x 45 เซนติเมตร บรรจุน้ำ 120 ลิตร ปิดตู้กระจกด้วยพลาสติกสีทึบด้านข้างและด้านหลัง 3 ด้าน เพื่อป้องกันปลาทดลองถูกรบกวนจากภายนอกขณะทำการทดลอง และให้อากาศตลอดระยะเวลาการเลี้ยง น้ำที่ใช้เลี้ยงปลาเป็นน้ำประปาที่นำมาพักไว้ 2 - 3 วัน โดยการให้อากาศตลอดเวลา เพื่อให้คลอรีนสลายตัวก่อนนำมาใช้

3.1.2 การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองทั้งหมด 10 สูตร โดยแต่ละสูตรมีองค์ประกอบและปริมาณวัสดุอาหารเหมือนกัน จะแตกต่างกันที่ชนิดและสัดส่วนของไขมันในอาหาร (ตาราง 6 และ 7)

การเตรียมอาหารทดลองโดยการสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบอาหาร (ภาคผนวก ก.3) ได้แก่ ปลาป่น ข้าวโพดป่น กากถั่วเหลือง แป้งข้าวเจ้า จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใยและเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) ดังแสดงผลในตาราง 8 จากนั้นแยกชั่งวัสดุอาหารที่ต้องใช้ในการเตรียมอาหารทดลองซึ่งได้แก่ ปลาป่นสกัดไขมัน ข้าวโพดสกัดไขมัน กากถั่วเหลืองสกัดไขมัน แป้งข้าวเจ้าสกัดไขมัน อัลฟาสตาช (alfa starch) วิตามินผสม แร่ธาตุผสม และไขมันแต่ละชนิด บรรจุวัสดุอาหารแต่ละชนิดแยกในถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีน จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นไขมัน ผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด จนกระทั่งส่วนผสมของวัสดุอาหารดังกล่าวผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จึงนำไขมันผสมลงไปในอาหารแต่ละสูตรจนกระทั่งส่วนผสมทั้งหมดเข้ากัน จึงเติมน้ำสะอาด 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร จากนั้นทำการอัดเม็ดผ่านหน้าแว่นที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร นำอาหารทดลองไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และหักอาหารให้เป็นท่อนสั้นๆ จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีน และนำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วุฒิพร และคณะ, 2540) และนำอาหารทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใยและเถ้า ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) ดังแสดงผลในตาราง 9

ตาราง 6 ส่วนประกอบอาหารทดลองแต่ละสูตร

ส่วนประกอบ	สูตรอาหาร									
(ก./อาหาร 100 ก.)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ปลาป่น	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
กากถั่วเหลือง	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
ข้าวโพดป่น	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
แป้งข้าวเจ้า	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
น้ำมันปลา	0	6	4.5	3	1.5	0	4.5	3	1.5	0
น้ำมันข้าวโพด	0	0	1.5	3	4.5	6	0	0	0	0
น้ำมันถั่วเหลือง	0	0	0	0	0	0	1.5	3	4.5	6
วิตามินและแร่ธาตุผสม*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
อัลฟาสตาซ(alfa starch)	14	8	8	8	8	8	8	8	8	8
รวม	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

* วิตามินและแร่ธาตุผสม (ปริมาณ/อาหาร 1 กก.) ประกอบด้วย Thiamine (B_1) 10 มิลลิกรัม; Riboflavin (B_2) 20 มิลลิกรัม; Pyridoxine (B_6) 10 มิลลิกรัม; Cyanocobalamin (B_{12}) 2 มิลลิกรัม; Cholecalciferol (D_3) 29.2 มิลลิกรัม; Menadione sodium bisulfite (K_3) 80 มิลลิกรัม; Folic acid 5 มิลลิกรัม; Calcium pantothenate 40 มิลลิกรัม; Inositol 400 มิลลิกรัม; Niacin 150 มิลลิกรัม; DL-alpha tocopherol (E) 60 มิลลิกรัม; Choline chloride 6,000 มิลลิกรัม; Ascorbic acid (C) 500 มิลลิกรัม; Anticaking (SiO_2) 200 มิลลิกรัม; Antioxidant (BHT) 2 มิลลิกรัม; Acetate (A) & Cholecalciferol (AD_3) 500/100 700,000 IU; NaCl 0.25 กรัม; $MgCO_3$ 3.75 กรัม; $FeSO_4$ 0.72 กรัม; $(CH_3COO)_2Ca.5H_2O$ 0.88 กรัม; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 กรัม; $MnSO_4.4H_2O$ 0.04 กรัม; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 กรัม; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 กรัม; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 กรัม

ตาราง 7 ส่วนประกอบไขมันในอาหารทดลอง (กรัม/100กรัมอาหาร)

สูตรอาหาร	น้ำมันปลา	น้ำมันข้าวโพด	น้ำมันถั่วเหลือง
1	0	0	0
2	6	0	0
3	4.5	1.5	0
4	3	3	0
5	1.5	4.5	0
6	0	6	0
7	4.5	0	1.5
8	3	0	3
9	1.5	0	4.5
10	0	0	6

ตาราง 8 องค์ประกอบทางโภชนาการของวัสดุอาหารทดลอง โดยการวิเคราะห์หลังการสกัดไขมัน [1]

วัสดุอาหาร	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE
ปลาป่น	6.61±0.03	79.29±0.34	0.61±0.01	13.22±0.01	0.02±0.01	0.13±0.26
ข้าวโพดป่น	6.77±0.02	6.65±0.02	0.36±0.03	1.29±0.03	1.87±0.02	82.94±0.15
กากถั่วเหลืองป่น	6.04±0.03	57.73±0.9	0.51±0.01	7.73±0.01	4.27±0.02	23.69±0.96
แป้งข้าวเจ้า	7.47±0.03	7.05±0.05	0.41±0.00	0.42±0.10	0.02±0.01	84.69±0.06

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

NFE : Nitrogen free extract

ตาราง 9 คุณค่าทางโภชนาการอาหารทดลอง [1]

สูตรอาหารที่		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE
1	ไม่เติมน้ำมัน	5.89±0.01	29.03±0.44	0.92±0.14	5.42±0.00	2.52±0.01	56.17±0.53
2	น้ำมันข้าวโพด / น้ำมันปลา : 0 / 6	9.50±0.41	29.11±0.64	6.45±0.12	5.26±0.03	2.56±0.02	47.11±0.25
3	น้ำมันข้าวโพด / น้ำมันปลา : 1.5 / 4.5	9.42±0.23	29.05±0.56	6.58±0.13	5.27±0.10	2.51±0.07	47.17±0.59
4	น้ำมันข้าวโพด / น้ำมันปลา : 3 / 3	6.91±0.03	30.28±0.18	6.31±0.09	5.36±0.05	2.44±0.06	48.62±0.24
5	น้ำมันข้าวโพด / น้ำมันปลา : 4.5 / 1.5	7.30±0.10	30.60±0.61	5.94±0.24	5.58±0.34	2.48±0.06	47.6±0.51
6	น้ำมันข้าวโพด / น้ำมันปลา : 6 / 0	5.47±0.04	30.35±0.32	6.54±0.18	5.60±0.00	2.5±0.03	49.58±0.37
7	น้ำมันถั่วเหลือง / น้ำมันปลา : 1.5/4.5	8.50±0.01	28.65±0.11	6.63±0.21	5.28±0.02	2.52±0.01	46.42±0.18
8	น้ำมันถั่วเหลือง / น้ำมันปลา : 3/3	8.63±0.27	29.34±0.04	6.54±0.12	5.34±0.05	2.50±0.02	47.65±0.50
9	น้ำมันถั่วเหลือง / น้ำมันปลา : 4.5 / 1.5	8.59±0.14	29.30±0.14	6.50±0.25	5.39±0.01	2.56±0.03	47.68±0.37
10	น้ำมันถั่วเหลือง / น้ำมันปลา : 6/0	8.26±0.26	29.35±0.03	6.38±0.10	5.37±0.05	2.52±0.01	41.28±0.22

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

NFE : Nitrogen free extract

3.1.3 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลานิลแดงแปลงเพศเป็นเพศผู้ทั้งหมดขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 5 กรัม จำนวน 1,000 ตัว อนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 2 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยใส่น้ำในถังให้ได้ปริมาตรความจุ 0.4 ลูกบาศก์เมตร อนุบาลลูกปลาโดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป สำหรับปลาดุกวัยอ่อน ยี่ห้อไฮ-เกร็ดเบอร์ 9961ซึ่งประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ และกาก 5 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารวันละ 2 ครั้งเวลา 9.00 น. และ 17.00 น. สังเกตพฤติกรรม การกินอาหาร จนปลาทดลองมีขนาดประมาณ 9.32-9.33 กรัม ก่อนเริ่มทำการทดลองนำลูกปลาไปตรวจสอบแบคทีเรียและปรสิตภายนอก ลูกปลาที่ใช้ในการทดลองต้องมีสุขภาพดีไม่มีโรคและปรสิตรบกวน จากนั้นทำการคัดลูกปลาลงตู้ทดลองปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมของตู้ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนเริ่มทำการทดลอง

3.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งการทดลอง (treatment) เป็น 10 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (replication) ใช้ปลาจำนวน 20 ตัวต่อซ้ำ รวมใช้ปลาทั้งหมด 600 ตัว โดยสุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 9.32-9.33 กรัม นำไปชั่งน้ำหนัก แต่ละตู้ทดลองบรรจุน้ำปริมาตร 120 ลิตร ให้อากาศตลอดระยะเวลาการเลี้ยงและให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือช่วงเช้า 9.00 น. และช่วงเย็นเวลา 17.00 น. โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม ดูดเศษตะกอนทำความสะอาดตู้ทดลองและเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 80-100 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน ทำการทดลองเป็นเวลา 10 สัปดาห์

3.3 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะที่แสดงออกภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตลักษณะความผิดปกติภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือด การเกิดบาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ รวมทั้งสังเกตพฤติกรรมที่ผิดปกติในปลาแต่ละกลุ่ม โดยการตรวจสอบระหว่างการให้อาหารและขณะเปลี่ยนถ่ายน้ำ

3.3.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

นับจำนวนและชั่งน้ำหนักปลาทดลองทุก 2 สัปดาห์ เพื่อทราบน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละตู้ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง คำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อตามวิธีการของ Mukhopadhyay และ

Rout (1996) อัตราการกินอาหารตามวิธีการของ Yone และ Fugii (1975) และบันทึกผลอัตราการรอดของปลาในแต่ละชุดการทดลอง

การคำนวณน้ำหนักปลาที่เพิ่ม (% weight gain) โดยสมการ

$$\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่ม (\%)} = \frac{(\text{นน้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนกปลาเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

การคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) โดยสมการ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว/วัน)

$$\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่ม (\%)} = \frac{(\text{นน้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนกปลาเริ่มต้น})}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

การคำนวณอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate, FCR) โดยสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}} \times 100$$

การคำนวณอัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) โดยสมการ

อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)

$$= \frac{F \times 100}{\frac{WO + Wt}{2} \times \frac{NO + Nt \times t}{2}}$$

โดยที่ Fคือน้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน

W0 คือ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น

Wt คือ น้ำหนักปลาเฉลี่ยสุดท้าย

N0 คือ จำนวนปลาเริ่มต้น

Nt คือ จำนวนปลาสุดท้าย

t คือ ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง

การคำนวณอัตราการรอดตาย (% survival rate) โดยสมการ

$$\text{อัตราการรอดตาย}(\%) = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือรอด}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

3.3.3 การหาค่าดัชนีตับต่อตัว (% hepatosomatic index, HSI)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักตับปลา น้ำหนักตัวปลา และนำมาคำนวณหาค่าดัชนีตับต่อตัว ตามวิธีการของ Anwar และ Jafri (1995)

การคำนวณหาค่าดัชนีตับต่อตัว โดยสมการ

$$\text{ดัชนีตับต่อตัว } (\%) = \frac{\text{น้ำหนักตับปลา}}{\text{น้ำหนักตัวปลา}} \times 100$$

3.3.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มทำการทดลองจำนวน 30 ตัว เพื่อวิเคราะห์ความชื้นในร่างกายทันที และนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) บันทึกเป็นองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาก่อนเริ่มทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการสุ่มตัวอย่างปลา 3 ตัวจากทุกชุดการทดลอง นำไปวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีเดียวกันกับตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลอง แล้วบันทึกเป็นองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากนั้นจึงนำมาคำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ตามวิธีการของ Zeitoun *et al.* (1973) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ตามวิธีการของ Robinson และ Wilson (1985) การคำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER) โดยสมการ

$$\text{ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน}}$$

การคำนวณการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) โดยสมการ

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

$$= \frac{\text{โปรตีนของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - โปรตีนของตัวปลาเมื่อเริ่มทำการทดลอง}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง(กรัม)}}$$

3.3.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างโดยตัดส่วนตับดองด้วยน้ำยาบูแอง (Bouin's solution) 1 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนน้ำยาดองเป็นแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ ตามวิธีการของ Bancroft (1967) เพื่อศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

3.3.6 การศึกษาต้นทุนการผลิตปลา

คำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลานิล (unit feeding cost) โดยสมการ

$$\text{ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด(กก)} \times \text{ราคาอาหาร(บาท)}}{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด(กก)}}$$

3.3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)