

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์ทดลอง

1. วัสดุทดลอง

1.1 พันธุ์ปลาแฉะ

ลูกปลาแฉะน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 4.24 กรัม จำนวน 300 ตัว รวบรวมจากน้ำตกสองรัก และคลองปลายอวน อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของตัวปลาและอาหารทดลอง

1.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1.2.3 ยาสลบ (2-Methylquinoline) สำหรับสลบปลาในขณะทำการชั่งน้ำหนัก

1.2.4 อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นทดลอง

ในช่วงอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มทำการทดลอง ใช้อาหารสำเร็จรูปของลูกปลาดุกขนาดเล็ก ยี่ห้อ ไฮ-เกล็ด เบอร์ 9961 ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีน 40 % ไขมัน 6 % ความชื้น 12 % และกาก 5 %

2. อุปกรณ์ทดลอง

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

2.1.1 กระชังขนาด 85×85×100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 15 กระชัง

2.1.2 อุปกรณ์ระบบให้อากาศ ประกอบด้วย เครื่องให้อากาศ สายยาง หัวทราย

2.1.3 อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดบ่อปลา ได้แก่ สายยาง

ท่อพีวีซี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว

2.1.4 อุปกรณ์ขนย้ายปลา ได้แก่ สวิงช้อนปลา กะละมัง

2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.2.1 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม

2 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Basic เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Satorius รุ่น Research กระบอกตวง บีกเกอร์ ถาดเตรียมอาหาร กระดาษกรอง ถุงพลาสติก

2.2.2 ตู้แช่แข็ง ใช้เพื่อเก็บอาหารทดลองระหว่างรอนำมาใช้

2.2.3 เครื่องเตรียมอาหารทดลอง ของ Hobart Model A 200 T ประกอบด้วยชุดเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด และชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.3.1 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ น้ำ คือ เทอร์โมมิเตอร์

2.3.2 อุปกรณ์และเครื่องแก้ววิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ได้แก่ ขวดบีโอดี ปิเปตต์ ลูกยาง กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ บิวเรตและชุดจับบิวเรต หลอดหยด

2.3.3 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำ (pH) โดยเครื่อง pH meter ของ Mettler Delta รุ่น 340

2.3.4 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ค่าความเป็นด่างของน้ำ (alkalinity) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปตต์ ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต และชุดจับบิวเรต

2.3.5 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ค่าความกระด้างของน้ำ (hardness) ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปตต์ ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต และชุดจับบิวเรต

2.3.6 อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ได้แก่ เครื่องวัดความเข้มข้นของแสง ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปตต์ ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต และชุดจับบิวเรต

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาและอาหารทดลอง

2.4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ กระดาษฟรอยด์ ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง เครื่องชั่งแบบอินฟราเรด (Infrared moisture determination balance 600)

2.4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระบอกตวง บีกเกอร์ บิวเรตและชุดจับบิวเรต ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร ปิเปตต์ ลูกยาง ขวดน้ำกลั่น

13889๕

2.4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible)

~~เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallen-Kamp โดดุดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง~~
คีมจับ ถ้วยไฟฟ้า ถาด

2.4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน

แบบ Soxhlet รุ่น B-811 กระจายกรอง ถ้วยไฟฟ้า เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ถาด
บีกเกอร์ กระบอกตวง ถ้วยสกัดสาร ไซ้กรองสาร

1.2.4.5 อุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใย ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์เยื่อใย รุ่น FIVE ของ
VELP ถ้วย(glass crucible) เตาเผา เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง โดดุดความชื้น ถ้วยไฟฟ้า

2.5 อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโต

ประกอบด้วย เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ถังพลาสติก กะละมัง
และสวิงช้อนปลา

การเตรียมปลาทดลอง

นำลูกปลาแวง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 4.10-4.20 กรัม จากน้ำตกสองรัก อำเภอพรหมคีรี
จังหวัดนครศรีธรรมราช เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ ขนาดความจุ 4 ลูกบาศก์เมตร ณ อาคารปฏิบัติการ
โรงเพาะฟักสัตว์น้ำ ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
นครศรีธรรมราช เพื่อฝึกให้ลูกปลาคู่คุ้นเคยกับสภาพการเลี้ยง โดยจะทำการเริ่มฝึกให้ลูกปลากิน
อาหารสำเร็จรูปของลูกปลาคูขนาดเล็กยี่ห้อ ไฮ-เกล็ด เบอร์ 9961 ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการคือ
โปรตีน 40 % ไขมัน 6 % ความชื้น 12 % และกาก 5 % ก่อนเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้ปลา
ทดลองกินอาหารทดลองสูตรที่ 1 (โปรตีน 20 %) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เพื่อปรับให้ปลาคู่คุ้นเคยกับ
อาหารทดลอง และสังเกตการยอมรับอาหารของปลาในระยะนี้ก็จะทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำคว่ำไป
ด้วยเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำ ไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง เริ่มทำการทดลองโดยก่อนทำการทดลองต้อง
นำลูกปลาไปตรวจสอบการติดเชื้อแบคทีเรีย ปริศติภายนอก ลูกปลาที่ใช้ต้องมีสุขภาพดี

การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองซึ่งมีทั้งหมด 5 สูตร โดยมีระดับโปรตีนในอาหารต่าง ๆ กัน 5 ระดับ
คือ 20, 25, 30, 35 และ 40 % ปรับระดับพลังงานในอาหารทุกสูตรให้เท่ากัน คือ ประมาณ 320
กิโลแคลอรี/อาหาร 100 กรัม (digestible energy) โดยปรับจากปริมาณสารอาหารที่เป็นแหล่ง

โปรตีน คือ ปลาป่น รำละเอียด และกากถั่วเหลือง, แหล่งของไขมัน คือ น้ำมันพืช และแหล่งของคาร์โบไฮเดรต คือ ปลายข้าว (ตารางที่ 6) ค่าพลังงานที่ข่อยได้ในอาหารคำนวณโดยใช้ค่าต่างๆ ซึ่งประยุกต์ใช้ในปลาเนื้อ คือ 4.4 กิโลคาลอรี/อาหาร 100 กรัม สำหรับโปรตีน 9 กิโลคาลอรี/อาหาร 100 กรัม สำหรับไขมันและ 3.7 กิโลคาลอรี/อาหาร 100 กรัม สำหรับคาร์โบไฮเดรต (Stickney, 1979) ทำการผสมส่วนประกอบวัสดุอาหาร (ตารางที่ 7) ให้เข้ากันดี เติมน้ำลงไป 40 % อัดเม็ดโดยใช้เครื่อง Hobart mixer รุ่น Model A200T ผ่านหน้าแวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60°C นาน 24 ชั่วโมง จนอาหารแห้งสนิท จากนั้นจึงบรรจุในถุงพลาสติก สีดำแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 เซลเซียส ตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า) ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Nitrogen free extract ; NFE) หาได้จากการคำนวณตามสูตร (ตารางที่ 7) $100 - (\% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เถ้า} + \% \text{เยื่อใย} + \% \text{ความชื้น})$ คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละสูตรแสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร¹ (หน่วย % น้ำหนักแห้ง)

วัตถุดิบอาหาร	คุณค่าทางโภชนาการ (%)				
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	NFE ²
ปลาป่น	8.93±0.07	48.73±0.00	7.11±0.07	22.63±0.03	12.56±0.11
กากถั่วเหลือง	11.47±0.30	41.65±1.47	0.99±0.02	7.31±0.07	38.57±1.70
รำละเอียด	10.76±0.15	12.53±1.14	11.61±0.05	9.02±0.05	56.06±1.74
ปลายข้าว	11.06±0.15	5.88±0.32	0.84±0.09	0.55±0.04	81.65±0.26

¹ตัวเลขที่นำเสนอบนค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสครมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (p > 0.05)

²NFE : Nitrogen free extract

ตารางที่ 7 สูตรอาหารทดลองและส่วนประกอบทางโภชนาการ (%)

วัตถุดิบอาหาร (กรัม)	สูตรอาหาร				
	1	2	3	4	5
ปลาป่น	154	224.60	289	352.20	425
กากถั่วเหลือง	165	195.50	240	289	320
รำละเอียด	170.60	190	210	213	170
ปลายข้าว	405.90	283	151	35	15
แคลบ	59.50	61.90	65	65.80	40
น้ำมันถั่วเหลือง	15	15	15	15	15
วิตามินและแร่ธาตุผสม ¹	30	30	30	30	30
รวม	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
ส่วนประกอบทางโภชนาการ โดยการวิเคราะห์ (%)					
ความชื้น	3.34	4.73	6.70	4.56	4.50
โปรตีน	19.22	24.53	29.87	34.95	40.10
ไขมัน	6.11	8.22	8.84	8.86	8.13
เถ้า	15.53	17.09	17.75	18.93	18.87
คาร์โบไฮเดรต	55.80	45.43	36.84	32.70	28.40
รวม	100	100	100	100	100
พลังงานที่ย่อยได้ (Kcal/100g.)	3,204.70	3,206.10	3,217.40	3,197.60	3,190.50

¹Vitamin mixture provided the following per kg diet : vitamin A 4000 IU; D₃ 2000 IU; vitamin E 3,750 mg; vitamin B₁ 600 mg ; vitamin B₂ 600 mg; vitamin B₆ 600 mg; vitamin B₁₂ 750 mg; vitamin C 450 mg; Calcium pantothenate 50 mg; Folic acid 5 mg; Choline chloride 2,250 mg; Biotin 3.75 mg; Calcium 15 mg; Phosphorus 15 mg; Copper 180 mg.

แผนการทดลองและการจัดการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design ; CRD) แบ่งชุดการทดลอง เป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ใช้ปลาและน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยตัวละ 4.24 กรัม จำนวน 20 ตัวต่อซ้ำ ทดลองเลี้ยงในกระชังขนาด 85×85×100 เซนติเมตร โดยวางลอยน้ำไว้ในบ่อซีเมนต์

ขนาด 2×2×0.6 เมตร ระดับน้ำลึก 40 เซนติเมตร โดยใช้น้ำประปาที่ผ่านการพักไว้ 7 วัน เพื่อให้ตกตะกอนและกำจัดคลอรีน ระหว่างการเลี้ยงให้อากาศด้วยหัวทรายตลอดเวลา ควบคุมตะกอนทุก 3 วัน ให้อาหารปลาทุกวันละ 2 ครั้ง คือ 08.30 และ 16.30 น. บันทึกปริมาณอาหารที่ปลากินและชั่งน้ำหนักปลาทุก ๆ 2 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักรวมของแต่ละกระชัง จากนั้นนำไปหาค่าเฉลี่ยของปลาแต่ละตัว บันทึกจำนวนปลาที่เหลือแต่ละกระชัง ก่อนเริ่มการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละกระชัง ไปวิเคราะห์หาความชื้นของตัวปลาตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) และนำปลาส่วนหนึ่งไปทำให้แห้ง นำตัวอย่างนั้น ไปวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลา ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) นำข้อมูลที่ได้รับ ไปคำนวณหาค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อ้างตามวิธีการของ Dupree and Sneed (1966) ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อ้างตามวิธีของ Zeitoun et al. (1973) และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ อ้างตาม Robinson and Wilson (1985) นำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และตรวจสอบคุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองทุก 2 สัปดาห์ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าออกซิเจนละลาย อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นด่าง และค่าความกระด้าง ตามวิธีของ Boy and Tucker (1992)

ตารางที่ 8 ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง โดยการวิเคราะห์¹ (หน่วย % น้ำหนักแห้ง)

สูตรอาหาร	คุณค่าทางโภชนาการ					
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE ²
1. โปรตีน 20%	3.34±0.14	19.22±0.94	6.11±0.95	15.53±0.68	7.72±0.19	48.50±0.47
2. โปรตีน 25%	4.73±0.11	24.53±0.78	8.22±0.78	17.09±0.31	6.59±1.99	38.80±3.03
3. โปรตีน 30%	6.70±0.00	28.97±1.13	8.84±0.41	17.75±1.05	6.38±1.52	31.39±2.76
4. โปรตีน 35%	4.56±0.49	34.95±0.84	8.86±0.18	18.93±1.47	6.34±1.92	27.67±3.83
5. โปรตีน 40%	4.50±0.45	40.10±0.17	8.13±0.52	18.87±1.27	6.25±1.26	22.13±1.35

¹ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ), ²NFE : Nitrogen free extract

วิธีการวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design ; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (Replication) รวมทั้งหมด 15 ชุดการทดลอง และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (Duncan, 1955) ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง 12 สัปดาห์ ดำเนินการทดลองโดย

เติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ลงในบ่อปูนซีเมนต์ที่เตรียมกระชังทดลองไว้ลึกประมาณ 40 เซนติเมตร มีเครื่องให้อากาศตลอดเวลา เมื่อเริ่มต้นการทดลองทำการสุ่มปลาที่เตรียมไว้ (น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 4.22–4.26 กรัมต่อตัว) ลงเลี้ยงในกระชังทดลองจำนวน 20 ตัวต่อกระชัง นำปลาจำนวน 10 ตัว ไปวิเคราะห์หาความชื้น และองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (1990) ให้อาหารปลาทดลองวันละ 2 ครั้ง ตอนเช้าเวลา 08.30 น. และตอนเย็น เวลา 16.30 น. โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ทุกๆ 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุกๆ 2 สัปดาห์ และตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนเลี้ยงระหว่างการเลี้ยง และสัปดาห์สุดท้ายของการเลี้ยงตามวิธีการของ Boyd and Tucker (1992) ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจนละลายในน้ำ อุณหภูมิ น้ำ ความเป็นด่าง ความกระด้าง แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท

วิธีการเก็บข้อมูล

1. การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละกระชังทดลองด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ในวันชั่งน้ำหนักปลาลงคให้อาหารก่อนซึ่งเป็นเวลา 1 วัน) นับจำนวนปลาที่เหลือ สังเกตลักษณะอาการปลาตลอดการทดลองพร้อมทั้งจดบันทึกไว้ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าต่างๆ โดยสมการดังนี้

1.1 อัตราการรอด

$$\text{อัตราการรอด} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น}} \times 100$$

1.2 การเจริญเติบโต

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain %) =

$$\frac{[\text{นน. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{นน. ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}] \times 100}{\text{นน. ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$$

1.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR %)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ =

$$\frac{[\ln \text{ นน. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ นน. ปลาเมื่อการทดลอง}] \times 100}{\text{เวลา (วัน)}}$$

1.4 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) ตามวิธีการของ

Durpre and Sneed (1966) โดยสมการ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) =

$$\frac{\text{นน. อาหารที่ปลากินทั้งหมด}}{\text{นน. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$$

1.5 อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) ตามวิธีการของ Yone and Fujii (1975)

โดยสมการ อัตราการกินอาหาร (% ต่อวันต่อตัว) =

$$\frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_t}{2} + \frac{N_0 + N_t}{2}} \times 100$$

โดย	F	=	น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม)
	N ₀	=	จำนวนปลาเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)
	W ₀	=	น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)
	N _t	=	จำนวนปลาสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)
	W _t	=	น้ำหนักปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)
	t	=	ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของซากปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มทำการทดลองจำนวน 36 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1990) แล้วบันทึกเป็นองค์ประกอบทางโภชนาการของปลาเริ่มต้นการทดลองจากนั้นจึงนำมาคำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ตามวิธีการของ Zeintoun et al., (1973)

2.1 ประสิทธิภาพโปรตีน (protein efficiency ratio, PER)

ประสิทธิภาพโปรตีน =

$$\frac{\text{นน. ปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{นน. โปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

2.2 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent protein utilization, ANPU)

ตามวิธีของ Robinson and Wilson (1985) โดยสมการ

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (%) =

$$\frac{(\% \text{โปรตีนในตัวอย่างเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \% \text{โปรตีนในตัวอย่างเมื่อเริ่มต้น})}{\text{นน. โปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

นน. โปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (Duncan, 1955)

การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำในกระชังทดลองก่อนทำการทดลอง ระหว่างการทดลอง และสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเป็นด่าง ความกระด้างของน้ำ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรทในน้ำตามวิธีของ Boyd and Tucker (1992)