สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาสูตรอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาว จากแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

Development of seabass (*Lates calcarifer*) diet based on digestibility approach

โดย

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[1]
สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[2]

- 9 มี.ค. 2552 BK 0094440 เริ่มบริการ
25 1553 - 3 มิ.ย. 2552

[1]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาวจากแนวทางการประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองของเอนไซม์ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เริ่มทำโดยนำเอนไซม์สกัดของปลากะพงขาวที่มีอายุแตกต่างกันมาหาค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน และไคโมทริปซิน พบว่าปลากะพงขาวมีค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินสูงสุดอยู่ที่อุณหภูมิ 60 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 วันจะมีค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินสูงกว่าปลาช่วงอายุอื่นๆ (30, 60 และ 90 วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองของปลากะพงขาวโดยใช้ปลาป่น กากถั่วเหลืองป่น กากถั่วลิสงป่น แป้งมันสำปะหลัง เนื้อและกระดูกป่น และเลือดป่น พบว่าปลากะพงขาวสามารถย่อยปลาป่นได้สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือกากถั่วเหลืองป่น ซึ่งเมื่อนำกากถั่วเหลืองป่นมาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารสำหรับปลากะพงขาวที่ 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์แล้วนำมาย่อยในหลอดทดลอง พบว่า สูตรอาหารปลากะพงขาวที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองป่น 30 เปอร์เซ็นต์จะมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารประเภทโปรตีนได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ก็ยังมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการทดแทนปลาป่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) การทดลองในช่วงต่อมาได้ผลิตสูตรอาหารต่างๆกันเพื่อเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยสูตรอาหารปลากะพงขาวมีการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และข้าวโพด ด้วยการแทนที่ปลาป่น 20% ในสูตรอาหารที่เลี้ยงปลากะพงขาวขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 14.28-14.73 กรัม โดยทำอาหารทดลอง 6 สูตรที่ระดับโปรตีน 45% และไขมัน 12% เท่ากันทุกสูตร ผลการศึกษาพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 6 ซึ่งใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับเนื้อกระดูกป่นอัตราส่วน 1:1 ให้น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสูตรควบคุม แต่ในสูตรที่ 4 และ 5 ซึ่งใช้โปรตีนข้าวโพด และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับโปรตีนข้าวโพดอัตราส่วน 1:1 ให้น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะประสิทธิภาพการใช้โปรตีน เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ต่ำกว่า สูตรควบคุม ($P<0.05$) แสดงว่าปลาป่นยังคงเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีที่สุดในอาหารปลากะพงขาว แต่สามารถแทนที่ได้ด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเนื้อกระดูกป่นมากถึง 20% สำหรับการใช้ข้าวโพดเป็นแหล่งโปรตีนสำรอง ซึ่งให้ผลการทดลองทุกค่าต่ำที่สุด จึงไม่ควรใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารปลากะพงขาวเกิน 20%

Abstract

Development of seabass (*Lates calcarifer*) diet was studied based on *in vitro* enzyme digestibility of crude enzyme extract from seabass reared at different interval. The optimum temperature for specific activity of trypsin and chymotrypsin was 60 °C and 50 °C, respectively ($P < 0.05$). Highest level of trypsin and chymotrypsin activity was observed in seabass at the age of 20 days, significantly higher than other treatments that sampled from fish at the age of 30, 60 and 90 days ($P < 0.05$). *In vitro* digestibility of feedstuff was performed by digesting fishmeal, peanut, cassava powder, meat and bone, blood meal and soybean meal with extracted enzyme from seabass. The result showed that extracted enzyme digested fishmeal more efficiently than other feedstuffs ($P < 0.05$). Soybean meal was shown to be the most suitable feedstuffs for replacement of fishmeal in diet.

In the second experiment, seabass with initial weight of 14.28-14.73 gm was reared for 8 weeks with pellets to compare feed utilization and growth performance. Six experimental diets containing 45% protein and 12% lipid were formulated based on 20% fishmeal replacement with soybean meal, meat and bone and corn starch. There was no significant different ($P>0.05$) in average final weight, average daily weight gain (ADG), food conversion efficiency ratio (FCR), specific growth rate (SGR), percentage weight gain (PWG) among diets replaced with soybean meal (diet 2), meat and bone (diet 3), soybean meal and meat and bone (diet 6), and the control. Fish fed with corn gluten (diet 4) and soybean meal with corn gluten (diet 5) resulted in significant difference ($P<0.05$) in average weight, ADG, FCR, SGR, PER and PWG compared to the control. This indicated that fishmeal is the best protein source for rearing of seabass although it can be partially replaced by soybean meal and meat and bone. The use of corn gluten resulted in low growth performance and fed utilization, suggesting that incorporation of corn gluten in diet of seabass would be less than 20%

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การพัฒนาสูตรอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาวจากแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จเรียบร้อยลงได้ โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2548 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ คุณธนัย สุรศิลป์ และคุณสุริยา คำหวาน ที่ได้ช่วยเตรียมสถานที่ทดลอง และดูแลปลาทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง และภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ และอุปกรณ์ต่างๆระหว่างการศึกษาวิจัยทำให้การวิจัยดำเนินการไปด้วยดี

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์

กุมภาพันธ์ 2549

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....i

Abstract.....ii

กิตติกรรมประกาศ.....iii

สารบัญ.....iv

สารบัญตาราง.....v

บทที่

1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ.....4

3. ประโยชน์ที่ได้รับ.....4

4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

5. วิธีดำเนินการทดลอง.....10

6. ผลการทดลอง.....18

7. อภิปรายผลการทดลอง.....30

8. สรุปผลการทดลอง.....36

9. เอกสารอ้างอิง.....37

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง.....15

2 แสดงองค์ประกอบวัตถุดิบอาหารสัตว์ของอาหารทั้ง 6 สูตรที่ใช้เลี้ยงปลา.....17

3 แอคติวิตีของทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน 19

4 ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดออกมาจากปลากะพงขาวที่มีอายุต่างๆกัน.....19

5 แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} mg $protein^{-1}$) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆที่อุณหภูมิต่างกัน 20

6 แอคติวิตีของไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....22

7 แอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} mg $protein^{-1}$) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....23

8 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (μmol DL-alanine) ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ.....24

9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (μmol DL-alanine) ในอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ.....25

10 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ.....26

11 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily weight Gain) ของปลากะพงขาว.....27

12 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average daily weight gain) ของปลากะพงขาว.....27

13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ (Specific Growth Rate).....28

14 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio) ของปลากะพงขาว.....28

15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain) ของปลากะพงขาว.....29

1. ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าการผลิตอาหารเม็ดเพื่อการเลี้ยงปลาจำเป็นต้องมีสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี โดยต้องมีการคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมมาใช้เป็นองค์ประกอบในการผลิตอาหาร อย่างไรก็ตามสูตรอาหารปลาที่พัฒนาใช้ในประเทศไทยส่วนมากยังเป็นการนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาใช้ในอัตราส่วนต่างๆกันโดยพยายามลดต้นทุนอาหารโดยการใช้แหล่งโปรตีนจากพืชมาทดแทนปลาป่นและยังต้องทดลองนำอาหารมาเลี้ยงปลาในระยะเวลานานกว่าจะทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการนำมาเลี้ยงปลา การสร้างสูตรอาหารปลาที่เหมาะสมแนวทางใหม่ที่ทำให้มั่นใจได้ว่าปลาจะเจริญเติบโตได้ดีแม้ว่าจะยังไม่นำสูตรอาหารนั้นมาเลี้ยงปลาก็ตามสามารถที่จะพัฒนาขึ้นมาได้โดยแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำย่อยหรือเอนไซม์ (enzyme) ของปลาในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) เนื่องจากน้ำย่อยหรือเอนไซม์จะถูกสกัดจากลำไส้ของปลาแล้วนำไปย่อยวัตถุดิบที่ต้องการทดสอบในหลอดทดลองโดยตรง ทำให้ทราบ database ว่าน้ำย่อยหรือเอนไซม์สกัดของปลาชนิดหนึ่งชนิดใดสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดได้มากน้อยเพียงไร ซึ่งเมื่อนำชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมไปใช้ในการสร้างสูตรอาหารเลี้ยงปลาก็จะใช้ในปริมาณที่ไม่เกินความสามารถที่น้ำย่อยสามารถย่อยได้ดี จึงทำให้ปลานำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีและมั่นใจได้ว่าปลาจะโตดีแม้ว่าขณะนั้นยังไม่เอาอาหารไปเลี้ยงปลาก็ตาม

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เป็นปลาที่มีการแพร่กระจายอยู่ตามแหล่งน้ำต่างๆของไทยทั้งในแม่น้ำ ลำคลอง ชายฝั่งทะเลด้านอ่าวไทยและด้านทะเลอันดามัน สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ง่าย เลี้ยงง่ายทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำทะเล ปลากะพงขาวเป็นปลาที่กินอาหารที่มีชีวิต แต่ก็สามารถปรับให้กินเนื้อปลาสดได้ มีการเจริญเติบโตเร็ว มีรสชาติดีเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั่วไปทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวกันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะบริเวณชายฝั่งทะเล

ปลากะพงขาวเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ซึ่งก็มีความสำคัญทั้งในการผลิตลูกปลาทั้งในภาครัฐและเอกชน การผลิตปลากะพงขาวขนาดใหญ่ และปลากะพงขาวที่เป็นผลพลอยได้จากนากุ้ง มูลค่าของการผลิตปลากะพงขาวมีสูงมากซึ่งในปี พ.ศ. 2542 มีมูลค่าถึง 626.3 ล้านบาท (กองเศรษฐกิจการประมง, 2545) ลูกปลากะพงขาวส่วนใหญ่จะนำไปเลี้ยงภายในประเทศ และบางส่วนก็ส่งขายไปยังต่างประเทศ เช่น ไต้หวัน, มาเลเซีย, สิงคโปร์ ฯลฯ ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการเพาะและขยายพันธุ์ปลากะพงขาวเป็นประเทศแรกของ

โลกใน พ.ศ. 2516 ต่อจากนั้นจึงได้มีการวิจัยและพัฒนาความรู้เกี่ยวกับปลากะพงขาวทั้งจากภาครัฐบาลและภาคเอกชนต่อเนื่องกันมาจนถึงปัจจุบัน (อัญชลี คงสมบูรณ์, 2530)

ในการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวตั้งแต่การอนุบาลไปจนถึงการจับขายจะมีการให้อาหารต่างๆกัน โดยในการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนจะใช้อาหารที่มีชีวิต (living diets) เช่น โรติเฟอร์ (*Branchionus plicatilis*) อาร์ทีเมีย (*Artemia salina*) เป็นต้น แต่ด้วยเหตุที่ปลากะพงขาวเป็นปลากินเนื้อ (Carnivores) ดังนั้นอาหารที่ผู้เลี้ยงนิยมนำมาใช้ในการเลี้ยงปลากะพงขาวคือปลาเป็ดสด ซึ่งมีข้อจำกัดที่คุณภาพปลาเป็ดมีความแตกต่างกัน และยังไม่สามารถจัดหาอาหารมาเลี้ยงปลาได้อย่างสม่ำเสมอ หรือไม่เพียงพอ โดยเฉพาะในฤดูมรสุม ทำให้ต้นทุนการเลี้ยงเพิ่มสูง ดังนั้น จึงได้มีการนำแหล่งอาหารที่มีโปรตีนสูงมาทดแทน เพื่อผลิตอาหารเม็ดหรืออาหารสำเร็จรูปสำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาว เนื่องจากการใช้อาหารเม็ดหรืออาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาจะมีความสะดวกในการใช้ และเก็บรักษาได้นานกว่าการใช้ปลาเป็ด ซึ่งในปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่นิยมนำอาหารเม็ดมาเลี้ยงปลากะพงขาวดังที่นิยมในต่างประเทศ แต่ถ้ามีการให้อาหารเม็ดหรืออาหารสูตรสำเร็จ (artificial diets) เลี้ยงปลากะพงขาวแทนการให้เนื้อปลาสับก็จะเป็นการประหยัดเวลาและแรงงาน ซึ่งในอาหารเม็ดนั้นจะประกอบไปด้วยวัตถุดิบหลายอย่าง เช่นปลาป่น กากถั่วเหลือง รำข้าว ฯลฯ

ปลาป่นจัดเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ดีที่สุด โดยโปรตีนในปลาป่นมีความสมดุลของกรดอะมิโน อีกทั้งยังมีรสชาด เป็นที่ชื่นชอบของปลา แต่อย่างไรก็ตามคุณภาพของปลาป่นก็ไม่แน่นอน โดยเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของปลา กระบวนการผลิต กรรมวิธีการผลิต ฤดูกาล และแหล่งของปลาที่นำมาผลิตเป็นปลาป่น ในขณะที่ปริมาณปลาป่นก็มีลดลงเนื่องปริมาณปลาเป็ดที่จับได้ในน่านน้ำไทยมีน้อยลง อีกทั้งราคาของปลาป่นก็ค่อนข้างแพงเมื่อเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบอาหารอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ จึงมีความพยายามลดปริมาณปลาป่นที่ใช้ในการผลิตอาหารปลาสำเร็จรูปลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแหล่งโปรตีนอื่น ๆ ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลาและประสิทธิภาพอาหารมาทดแทนยังให้การเจริญเติบโตของปลากะพงขาวคงเท่าเดิม โดยการเลือกใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น หรือมีคุณภาพดีมาแทนปลาป่นเพื่อผลิตอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารเท่าเดิมก็จะเป็นประโยชน์เพราะจะมีการใช้แหล่งโปรตีนจากพืชหรือแหล่งอื่นๆซึ่งมีราคาถูกกว่ามาแทนที่ปลาป่นบางส่วน แนวคิดดังกล่าวได้มีการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศเพื่อหาวัตถุดิบอาหารสัตว์มาทดแทนปลาป่นเช่นในการทดแทนปลาป่นในอาหารในปลา silver perch (*Bidyanus bidyanus*) ของประเทศออสเตรเลีย (Allan, 2000) อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของการพัฒนาดังกล่าวต้องใช้เวลาทดลอง

นาน 3-4 เดือนเพื่อให้ปลาเจริญเติบในการพิจารณาว่าอาหารสูตรไหนดีหรือเหมาะสมที่สุด อีกทั้งอัตราส่วนของชนิดวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมใส่ลงไปทดแทนปลาป่นส่วนมากก็มักใส่ลงไปในสูตรอาหารแบบก้าวกระโดดเช่น 10%, 20%, 30% หรือ 15%, 30%, 45% เป็นต้น ซึ่งถ้าพิจารณาในด้านของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาชนิดใดชนิดหนึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการใส่แหล่งโปรตีนจากพืชโดยไม่ทราบแท้จริงว่าปลาชนิดนั้นมีความสามารถในการย่อยโปรตีนนั้นได้มากน้อยเพียงไร โดยเฉพาะปลากินเนื้อ ก็จะมีผลทำให้เสียเวลาในการทดลองโดยที่ปลาเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร เช่นความสามารถแท้จริงของปลากินเนื้อชนิดหนึ่งในการย่อยกากถั่วเหลืองมีค่า 30% แต่ถ้าผลิตสูตรอาหารเม็ดเลี้ยงปลาชนิดนั้นโดยใช้กากถั่วเหลือง 45% ซึ่งมากกว่าความสามารถที่ปลาจะย่อยได้ก็จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารต่ำ และโตช้า ดังนั้นการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมแนวทางใหม่จึงจำเป็นที่ต้องทราบว่าชนิดปลาที่ศึกษานั้นมีความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้แท้จริงมากน้อยเพียงใดก่อนผลิตหรือคำนวณสูตรอาหารเม็ด

จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นนั้นทำให้การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่จะใช้นำมาทดแทนปลาป่นสำหรับสูตรอาหารปลากะพงขาวนั้นจึงจำเป็นต้องเริ่มจากศึกษาหาชนิดของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลากะพงขาวที่พบในช่วงอายุต่างๆเพื่อที่จะได้รู้ชนิดของเอนไซม์ย่อยอาหารที่มีในท่อทางเดินอาหาร หลังจากนั้นจึงสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารออกมาเพื่อนำมาเป็นน้ำย่อยในการทดลองย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ต้องการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) จะได้ทราบถึงชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลากะพงขาวเพื่อคัดเลือกนำมาเป็นวัตถุดิบแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลากะพงขาวในอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อไป หลังจากนั้นจึงนำเอาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่คัดเลือกว่าดีที่สุดมาผสมแทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารเลี้ยงปลากะพงขาว (experimental diet) เพื่อที่จะดูการเจริญเติบโตเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตราฐานที่ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบ (standard diet) ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาในขั้นเริ่มต้นของการศึกษาทางด้านเอนไซม์ย่อยอาหารในประเทศไทย ซึ่งยังขาดการศึกษาทางด้านกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ในปลาโดยเฉพาะเอนไซม์ย่อยโปรตีนเพื่อการพัฒนาเทคโนโลยีการสร้างสูตรอาหารปลาที่ปลาย่อยได้ดีและโตเร็ว ดังนั้นการที่ทราบความสามารถหรือกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารปลากะพงขาวจึงเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ในการพัฒนาสูตรอาหารปลากะพงขาว และยังเป็นประโยชน์ต่อการจัดการด้านโภชนาการในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หาง่ายและมีราคาถูกเพื่อที่จะใช้เป็นแนวทางใหม่

ในการสร้างสูตรอาหารที่มีคุณค่าสูงต่อการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวเพื่อสร้างประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากะพงขาวต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ของปลากะพงขาวในช่วงที่ปลามีอายุต่างๆกัน

2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) ของปลากะพงขาวโดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่แตกต่างกัน

2.3 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม

3. ประโยชน์ที่ได้รับ

3.1 ทราบความสามารถหรือกิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลากะพงขาวเมื่อปลากะพงขาวมีอายุแตกต่างกัน

3.2ทราบถึงชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์และปริมาณที่เหมาะสมที่นำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในการผลิตอาหารเลี้ยงปลากะพงขาว

3.3ได้พัฒนาเทคโนโลยีการศึกษากิจกรรมหรือความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองเพื่อผลิตสูตรอาหารในการเลี้ยงปลากะพงขาว ซึ่งสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสูตรอาหารเลี้ยงปลาชนิดอื่นๆของประเทศไทยต่อไป

4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความต้องการอาหารปลากะพงขาว และการศึกษาด้าน enzyme activity และ *in vitro* digestibility ในอาหารปลาได้มีการศึกษาในประเทศและต่างประเทศมีพอสรุปได้ดังนี้

ในการเลี้ยงปลากะพงขาวนั้นอาหารที่ให้ควรมีโปรตีน 45-55% (วิเชียร สาคเรศและคณะ, 2531; Cuzon และ Fuch, 1988; Sakaras และคณะ1988,1989) อาหารที่มีกรดอะมิโนไทโรซีนมากเกินไปจะทำให้ปลากะพงขาวเป็นโรคเกี่ยวกับไตได้

ปลากะพงขาวต้องการไขมันในอาหาร 10-15 % และต้องการกรดไขมันในกลุ่มโอเมกา 3 ในอาหาร 1-1.72% (สุพจน์ จึงแย้มปิ่นและคณะ, 2533) ส่วนแหล่งของไขมันนั้นพบว่าทั้ง

น้ำมันพืชและน้ำมันปลาให้ผลได้ดี น้ำมันตับปลาคอดให้ผลได้ดีกว่าน้ำมันปลาทูน่าและน้ำมันปลาสลิดตามลำดับ ในส่วนของพืชนั้นน้ำมันถั่วเหลืองจะให้ผลดีกว่าน้ำมันปาล์มเล็กน้อย การให้อาหารที่มีปลาป่นคุณภาพดีมีโปรตีนสูง 60 % ขึ้นไป ถ้าเสริมน้ำมันเหล่านี้เข้าไป 5 % ก็จะมีกรดไขมันที่จำเป็นพอกับความต้องการของปลากะพงขาวได้ (จารุรัตน์ บูรณะพานิชย์กิจและคณะ, 2532)

ส่วนของคาร์โบไฮเดรตนั้นก็จะมีเซลลูโลสเป็นแหล่งสำคัญ ระดับของเซลลูโลสที่ทำให้ปลากะพงขาวเจริญเติบโตดีที่สุดอยู่ที่ 5.53 % ถึงอย่างไรก็ตามอาหารในปลากะพงขาวอาจมีเซลลูโลสได้ถึง 6.58 % และแป้งเหนียว 3.82 % แหล่งของแป้งควรมาจาก ข้าว ถั่วเขียวและถั่วลิสง ถ้าเป็นแป้งจากถั่วเหลืองไม่ควรเป็นถั่วเหลืองชนิดที่ไม่อัดน้ำมัน เพราะจะถูกออกซิไดส์ทำให้น้ำมันกลายเป็นสารพิษ การใช้ถั่วเหลืองไม่อัดน้ำมันผสมในอาหาร 30 % จะมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของปลา (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543)

การขาดวิตามินบางชนิดในปลากะพงขาวจะทำให้เกิดอาการสีตัวคล้ำ เบื่ออาหาร โตช้า ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ และตามด้วยโรคที่เกิดจากการขาดวิตามินนั้นๆอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ในอาหาร 1 กิโลกรัมควรจะมีวิตามินบี1 บี6 และวิตามินซีเป็น 2.5, 5-10 และ 500-700 มิลลิกรัมตามลำดับ Boonyaratpalin (1991) พบว่าความต้องการในแง่วิตามินในเชิงปริมาณความต้องการในอาหารปลากะพงขาว มีอยู่ 2 ชนิด คือ ไพริดอกซิน ปริมาณความต้องการประมาณ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และวิตามินซีปริมาณความต้องการคือ 700 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่วนวิตามินอื่นๆนั้นขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนถึงความต้องการ อาจใช้วิตามินรวมที่จำหน่ายตามท้องตลาดแทนก่อนเพื่อป้องกันการขาดวิตามิน โดยในอาหาร 1 กิโลกรัมควรใช้วิตามินรวมไม่ต่ำกว่า 0.5% และไม่ควรเกิน 1% ซึ่งการใช้วิตามินรวมในระดับนี้จะทำให้ปลาโตดี รอดตายสูงและผิดปกติน้อย

ปลากะพงขาวจะมีความต้องการเกลือแร่เพียงเล็กน้อย เกลือแร่ที่จำเป็นจะเติมในอาหารอยู่ในรูปเกลือแร่รวมประมาณ 2% อาหารที่ไม่เติมแคลเซียมจะทำให้ปลาโตช้าเล็กน้อย ส่วนฟอสฟอรัสที่ปลากะพงขาวต้องการคืออยู่ที่ 0.55-0.65% ซึ่งโมโนโซเดียมฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่ดีที่สุด โมโนโซเดียมฟอสเฟตที่เติมไปในอาหารควรอยู่ในระดับ 0.5-1% จึงจะอยู่ในระดับที่ปลาต้องการ (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543) และฟอสฟอรัสปริมาณที่ต้องการคือ 0.55-0.65 % (มะลิ บุญรัตผลิน และจูอะดี พงศ์มณีรัตน์, 2533)

ในการศึกษาด้านการพัฒนาของระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำในประเทศไทยได้มีการศึกษาอยู่พอควร ส่วนมากสัตว์น้ำที่ศึกษามักจะเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ดังเช่น Walford และ

Lam (1993) ศึกษาพัฒนาการของทางเดินอาหารและแอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยโปรตีนของปลากะพงขาวระยะ larvae และระยะ juvenile พบว่ากระเพาะอาหารและกล้ามเนื้อหูรูด (pyrolic sphincter) ยังไม่ก่อตัวจนกระทั่งอายุ 13 วันหลังจากฟักออกจากไข่ และจะสมบูรณ์เมื่ออายุได้ 17 วัน เช่นเดียวกันกับดุสิต ตันวิไลยและคณะ (2528) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาการของลูกปลากะพงขาววัยอ่อนพบว่าเมื่อลูกปลากะพงขาวเข้าสู่ระยะ flexure ทางเดินอาหารจะพัฒนาควบคู่ไปกับอวัยวะอื่นๆ การพัฒนาของทางเดินอาหารจะเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ

ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำพบว่าที่อวัยวะต่างกันจะมีสัดส่วนของเอนไซม์ย่อยอาหารคล้ายๆกัน โดย Torrissen (1984) ได้ทำการศึกษาการทำงานและคุณสมบัติของโปรติเอสในทางเดินอาหารของปลา Atlantic salmon และปลา rainbow trout พบว่าคุณสมบัติของเอนไซม์ที่แยกได้จากกระเพาะอาหารของปลา 2 ชนิดจะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และจากลำไส้เล็กก็จะคล้ายคลึงกันด้วยแต่คุณสมบัติของเอนไซม์ในปลาชนิดเดียวกันที่สกัดได้จากกระเพาะอาหารจะแตกต่างกันไปจากที่สกัดได้จากลำไส้เล็ก สอดคล้องกับการศึกษาของอัญชลี คงสมบูรณ์ (2530) ซึ่งได้ศึกษารูปแบบเอนไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลากะพงขาวซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกันโดยศึกษารูปแบบการพัฒนาการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหาร(ไคติเนส ทริปซิน เปปซิน และอะไมเลส) ในทางเดินอาหาร 3 ส่วน คือ กระเพาะอาหาร(หลอดอาหาร-กระเพาะอาหาร) ลำไส้(ไส้ติ่ง-ทวารหนัก) และส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมด(หลอดอาหาร-ทวารหนัก) พบว่า เอนไซม์ไคติเนสทำงานได้ดีที่สุดที่ pH 4.5-5.5 และมีรูปแบบการสังเคราะห์เอนไซม์คล้ายคลึงกันในทุกส่วนของทางเดินอาหารและไม่สัมพันธ์กับอายุของลูกปลา ส่วนทริปซินจะตรวจพบแอคติวิตีได้ในส่วนของลำไส้เท่านั้นและทำงานได้ดีที่ pH 8-9 โดยมีรูปแบบการพัฒนาของเอนไซม์สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและความเข้มข้นของโปรตีนในทางเดินอาหาร จะพบเปปซินแอคติวิตีได้ทั้ง 2 ส่วนของทางเดินอาหาร แต่จะมีค่าสูงที่บริเวณกระเพาะอาหาร ส่วนเอนไซม์อะไมเลสไม่สามารถตรวจพบแอคติวิตีได้เลยในทุกส่วนของทางเดินอาหารตลอดระยะเวลาทำการทดลอง

ปัจจัยต่างๆทั้งจากอายุ อิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมและพฤติกรรมการกินอาหาร จะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารของสัตว์น้ำดังเช่น Kuz'mina (1996) ทำการศึกษาอิทธิพลของอายุต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาน้ำจืด พบว่าคาร์โบไฮเดรสแอคติวิตีจะมีความผันแปรมากกว่าแอคติวิตีของโปรติเอส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ตามอายุที่เปลี่ยนไป การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกี่ยวข้องกับพฤติกรรม การกินอาหารของปลา โดยปลาที่ล่าเหยื่อจะมีแอคติวิตีของ amylase และ sucrase ลดลงแต่จะมีแอคติวิตีของ protease เพิ่มขึ้น และมีการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ย่อยอาหารในลูกปลาระยะ larvae และระยะ juvenile การเปลี่ยนระดับของโปรตีนใน

อาหารก็มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยอาหารในสัตว์น้ำเช่นในกุ้ง *Penaeus vannamei* ซึ่ง Moullac และคณะ (1997) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ย่อยอาหารจำพวกโปรตีน โดยดูจากระดับของแอคติวิตีของเอนไซม์ โดยการเพิ่มระดับเคซีนจาก 25 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 48 เปอร์เซ็นต์ส่วนแป้งและส่วนประกอบอื่นๆจะไม่เพิ่มขึ้น พบว่าแอคติวิตีของไคโมทริปซินจะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น แอคติวิตีของอะไมเลสจะลดลงเมื่อปริมาณเคซีนเพิ่มขึ้น ในการทดลองชุดเดียวกันนี้ยังมีการเปรียบเทียบแอคติวิตีของไคโมทริปซินโดยใช้โปรตีนจากเจลาติน เนื้อปลาหมึกและเนื้อปลาพบว่าแอคติวิตีสูงสุดของไคโมทริปซินจะอยู่ที่ปลาหมึกและน้อยสุดในเจลาติน วิชัย วัฒนกุลและคณะ (2540) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาน้ำย่อยในลูกปลากะรังวัยอ่อน *Epinephelus coioides* ที่มีอายุ 2-60 วันโดยใช้อาร์ทีเมีย โรติเฟอร์และเนื้อปลาสดเป็นอาหาร พบว่าน้ำย่อย trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase A และ alpha amylase สามารถตรวจวัดได้เมื่อลูกปลามีอายุได้ 2 วัน ส่วน pepsin เริ่มตรวจวัดได้เมื่อลูกปลาอายุ 8 วัน ส่วนความว่องไวจำเพาะ (specific activity) ของน้ำย่อยในลูกปลาที่มีอายุ 2-22 วันไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงตามการเจริญเติบโต เมื่อลูกปลามีอายุมากกว่า 30 วันจะมีความไวจำเพาะของน้ำย่อยเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโต เมื่อลูกปลามีอายุได้ 38 วันความว่องไวจำเพาะของน้ำย่อยทั้ง 5 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น 2.4-132.5 เท่าของความว่องไวจำเพาะที่วัดเมื่อลูกปลาอายุ 2 วัน

จูอะดี และมะลิ (2539) ศึกษาการใช้โปรตีนพืชเพื่อแทนที่ปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว โดยใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนข้าวโพด ในอัตราส่วน 5 : 3 แทนที่ปลาป่นในอาหารสูตราควบคุม ที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์, 52เปอร์เซ็นต์, 75 เปอร์เซ็นต์ และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ โดยอาหารทั้ง 5 สูตร มีระดับโปรตีนประมาณ 37 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองทราบว่า สามารถใช้กากถั่วเหลือง และโปรตีนข้าวโพดในสูตรอาหารได้ไม่เกิน 17 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร (เมื่อแทนที่ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์) เมื่ออาหารนั้นมีปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหาร

จูอะดี และทาเคชิ (1993) ได้ศึกษา การใช้โปรตีนสำรองบางชนิดทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาเรนโบว์เทร้า ซึ่งได้แก่ กากถั่วเหลือง โปรตีนข้าวโพด และเนื้อป่น โดยผสมผสานแหล่งโปรตีนเหล่านี้ เพื่อแทนที่ปลาป่น ในระดับ 55, 64, 73, 82 และ 91 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุม ซึ่งใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว ผลการศึกษาพบว่าอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งโปรตีนเหล่านี้ ให้ผลการกินอาหาร การเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพของอาหารเทียบเท่ากับอาหารสูตรควบคุม ซึ่งแสดงว่า การผสมผสาน

ระหว่างกากถั่วเหลือง โปรตีนข้าวโพด และเนื้อป่นให้มีรูปแบบของกรดอะมิโนใกล้เคียงกับปลาป่นจะสามารถใช้แทนที่ปลาป่นได้ประมาณ 90เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำหรับปลาแรนโบว์เทร้า

จูอะดี และคณะ (2545) ได้ทำการศึกษาระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงแดง โดยเลี้ยงปลากะพงแดงด้วยอาหารเม็ด 5 สูตรที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันคือ 33.0, 38.0, 43.7, 48.8 และ 52.8 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหาร ผลการทดลองพบว่าอาหารเม็ดที่มีระดับโปรตีน 52.8 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และการสร้างสมโปรตีนดีที่สุด แต่ระดับโปรตีนต่ำสุดที่เหมาะสมในอาหารเม็ดสำหรับปลากะพงแดงคือ 48.8 เปอร์เซ็นต์

มะลิ และคณะ (2539) ศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ในอาหารปลากะพงขาว โดยใช้ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด ถั่วเหลืองนึ่ง และถั่วเหลืองแช่น้ำเพื่อไปแทนที่ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น หรือ 15 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นอาหารสูตรควบคุม ผลการทดลองพบว่า 37.5 เปอร์เซ็นต์จากปลาป่นหรือ 15 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นในอาหารสามารถถูกแทนที่ได้ด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด ถั่วเหลืองนึ่ง ส่วนถั่วเหลืองแช่น้ำไม่ควรนำมาใช้เป็นส่วนประกอบอาหารปลากะพงขาว เนื่องจากมีผลทำให้ปลากินอาหารน้อยลง ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและไขมันต่ำ การเจริญเติบโตช้า อัตรารอดต่ำ และยังทำให้เซลล์ตับอ่อนและลำไส้ผิดปกติ

วิเชียร และคณะ (2532) ได้ทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวโดยใช้อาหารเม็ดแบบเปียก (Moist Pellet) โดยกำหนดให้มีโปรตีน 3 ระดับคือ 45 48 และ 51 เปอร์เซ็นต์ แต่ละระดับมีไขมัน 13 และ18 เปอร์เซ็นต์ รวมเป็นอาหาร 6 สูตร และมีอาหารผสมอีก 1 สูตร ซึ่งมีระดับโปรตีน 54เปอร์เซ็นต์ ไขมัน13 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารเปรียบเทียบ ผลการทดลองปรากฏว่าปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 ซึ่งมีโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 18 เปอร์เซ็นต์ (จากการคำนวณ) มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

ธวัช และคณะ (2543) ได้ทดลองใช้อาหารเม็ดซึ่ง ได้แก่ อาหารเม็ดกุ้งกุลาดำ และอาหารเม็ดปลาลอยน้ำ ทดแทนปลาสดในการเลี้ยงลูกปลากะพงขาว ผลการทดลองพบว่าการใช้ปลาหลังเขียวในการอนุบาลดีที่สุด

ธำมรงค์ (2539) ได้การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และไขมันของอาหารทดลองซึ่งมีถั่วเหลืองทีผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ ในอาหารปลากะพงขาววัยอ่อน โดยอาหารทดลองซึ่งมีถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นมีผลให้ปลากะพงขาววัยอ่อนเจริญ เติบโตดีที่สุด ดีกว่าอาหารทดลองซึ่งมีถั่วเหลืองเอกซ์ทรูด เป็นแหล่งโปรตีน และอาหาร

ทดลองซึ่งมีถั่วเหลืองนึ่งเป็นแหล่ง โปรตีนอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอาหารทดลองซึ่งมีถั่วเหลือง แช่น้ำเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ให้ผลการเจริญเติบโต และ อัตรารอดต่ำกว่าอาหารทดลองสูตรอื่น ๆ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของอาหารทดลอง ซึ่งมีถั่วเหลือง ที่ผ่านกรรมวิธีเอ็กซ์ทรูด สกัดน้ำมันด้วยสารเคมี นึ่งและแช่น้ำ เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาววัยอ่อนเป็น เวลานาน 10 สัปดาห์ มีค่าเท่ากับ 92.26, 94.24, 94.40 และ 73.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพการย่อยไขมันของ อาหารทดลองสูตรต่าง ๆ มีค่าเท่ากับ 88.06, 87.84, 89.31 และ 75.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สุนิตย์ และคณะ (2547) ได้ทำการทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่ำ (38.30 เปอร์เซ็นต์) สลับกับอาหารที่มีระดับโปรตีนปกติ (45.48 เปอร์เซ็นต์) ต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร เปรียบเทียบกับการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนปกติอย่างเดียว และการให้ปลาหลังเขียว ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตรารอดของปลาทั้ง 3 ชุดการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ผลผลิตปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำสลับกับโปรตีนปกติ และผลผลิตปลากะพงขาว ที่เลี้ยงด้วยปลาหลังเขียวสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปโปรตีนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อัตราการกินอาหารและอัตราแลกเนื้อที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปทั้ง 2 ชุดการทดลองดีกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยปลาหลังเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลของการเลี้ยงปลากะพงขาวต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การนำโปรตีนไปใช้โดยการสะสม พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จที่มีโปรตีนต่ำสลับกับโปรตีนปกติมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปโปรตีนปกติ และปลาที่เลี้ยงด้วยปลาหลังเขียวตามลำดับ แต่การนำโปรตีนไปใช้โดยการสะสมของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปโปรตีนปกติและที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำสลับกับโปรตีนปกติมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่าสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยปลาหลังเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Alexis และคณะ (1985) รายงานว่า การแทนที่ปลาป่น 34 เปอร์เซ็นต์ ด้วยถั่วเหลือง 26 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา rainbow trout ทำให้อัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น อัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.15 ซึ่งต่ำกว่าอาหารที่ไม่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลือง ซึ่งมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.05

Shiau และคณะ (1989) รายงานว่า ในอาหารปลา tilapia (*Oreochromis nilotious* × *O.aureus*)ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (hexane extracted soybean meal) แทนที่ใช้ปลาป่น 67

เปอร์เซ็นต์ พบว่า การแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพอาหาร จะแตกต่างจากอาหารสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ สาเหตุที่ทำให้การเจริญเติบโตลดลงสันนิษฐานว่าขาด เมทไธโอนีน เนื่องจากมีสารยับยั้งการทำงานของทริปซิน และการไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร

Dabrowska และคณะ (1989) รายงานว่า อัตราการเจริญเติบโตของปลา rainbow trout ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อมีการแทนที่ปลาป่นด้วย กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตหยุดชะงัก และมีการตาย คาดว่าการขาดเมธโอนีน ในถั่วเหลืองเป็นปัจจัยสำคัญทำให้การเจริญเติบโตลดลง

5. วิธีดำเนินการทดลอง

5.1 การวางแผนการทดลอง (Experimental design)

ในการที่จะหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมที่จะนำมาทดแทนโปรตีนแทนปลาป่นนั้น ต้องมีการศึกษาอย่างครบวงจร โดยในเบื้องต้นมีการเตรียมตัวอย่างปลากะพงขาวโดยการเลี้ยงไว้ในถังทดลอง ต่อจากนั้นก็นำตัวอย่างปลากะพงขาวมาผ่าตัดเพื่อเอากระเพาะอาหารและลำไส้ออกมาเพื่อที่จะนำไปสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร (crude digestive enzyme) เมื่อได้เอนไซม์ย่อยอาหารเสร็จแล้ว จึงนำเอนไซม์ย่อยอาหารไปวัดหาค่ากิจกรรมหรือแอคติวิตี (activity) ของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน สำหรับการวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองจะใช้วัตถุดิบที่มีแหล่งโปรตีนจากชนิดต่างๆกัน และเมื่อได้แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้วจะนำวัตถุดิบชนิดนั้นไปผสมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากะพงขาวเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตราฐานต่อไปโดยทำทดลอง 3 ซ้ำ

5.2 การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ของปลากะพงขาว

นำปลากะพงขาวที่มีอายุต่างๆกันมาศึกษา enzyme activity โดยเลี้ยงปลาที่ความเค็ม 28 ส่วนในพัน การสกัดเอาเอนไซม์ย่อยอาหารออกมาจากปลาตัวเล็กให้นำปลาตัวเล็กมาบดทั้งตัว ส่วนปลาตัวโตขึ้นมาก็นำมาทำการผ่าตัดเอาไพลอริคซีกา (pyloric caeca) และลำไส้เล็กออกมา โดยทำการผ่าหลังจากการให้อาหารไปได้ 2 ชั่วโมงเพราะบริเวณนี้จะมีการหลั่งและมีการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร หลังจากนั้นนำมาสกัดเอาเอนไซม์ย่อยอาหารออกมา ในกรณีที่ยังไม่สกัดเอาเอนไซม์ออกมาก็ให้นำกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ –80 องศา

เซลเซียสเพื่อที่จะรักษาสภาพของเอนไซม์ย่อยอาหารก่อนที่จะนำไปสกัดหาเอนไซม์อีกต่อไป (Rungruangsak-Torrisen *et al.*, 2002)

นำตัวอย่างปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 และ 30 วัน และที่อายุ 2 และ 3 เดือน มาผ่าตัดเพื่อเอากระเพาะอาหารและลำไส้ออกมาเพื่อที่จะนำไปสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร (crude digestive enzyme) เมื่อได้เอนไซม์ย่อยอาหารเสร็จแล้ว จะนำเอนไซม์ย่อยอาหารไปวัดหาค่าแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซิน ที่ระดับอุณหภูมิต่างกันเพื่อที่จะได้ทราบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการที่จะวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง

5.3 การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร

5.3.1 นำไพลอริคซีกาและลำไส้ของปลากะพงขาวที่ทำการผ่าไว้แล้วมาบดใน 50 mM Tris buffer pH 8.0 ที่มี 200 mM NaCl ในอัตราส่วน 1: 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.3.2 เมื่อทำการบดละเอียดแล้วให้นำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 15000 x g เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5.3.3 ดูดเอาส่วนที่เป็นของเหลวออกมาโดยระวังไม่ให้ดูดเอาส่วนที่เป็นไขมันที่ลอยอยู่ข้างบนออกไปด้วย

5.3.4 นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ในการหาแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซิน และประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบในหลอดทดลองต่อไป (Rungruangsak-Torrisen *et al.*, 2002)

5.4 การวัดแอคติวิตีของทริปซิน (trypsin activity)

ในการวัดแอคติวิตีของทริปซินนั้นจะวัดจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างทริปซินสับสเตรต (1.25 mM benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide ที่ละลายใน 0.2 M Tris-HCl buffer pH 8.4 ซึ่งมี 5% dimethylformamideและเอนไซม์ที่สกัดไว้แล้ว ทริปซินแอคติวิตี (แสดงผลเป็น μmol p-nitroaniline h^{-1} mg protein $^{-1}$) ทราบโดยการพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร โดยความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาวจะทราบโดยใช้วิธี Bio-Rad DC (detergent-compatible) protein assay (Rungruangsak-Torrisen *et al.*, 2002) ในการวัดแอคติวิตีของทริปซินจะวัดแอคติวิตีที่อุณภูมิ 30 - 70 องศาเซลเซียส โดย

มีระยะห่างช่วงละ 5 องศา เพื่อที่จะหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการศึกษาแอคติวิตีของทริปซินต่อไป

5.5 การวัดแอคติวิตีของไคโมทริปซิน (chymotrypsin activity)

แอคติวิตีของไคโมทริปซินทราบโดยการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสับสเตรต (0.1 mM N-succinyl-Ala-Ala-Pro-phe-p-nitroanilide ใน 0.2 M Tris-buffer pH 8.4 โดยมี 5% dimethylformamide และเอนไซม์ที่สกัดไว้แล้ว ทริปซินแอคติวิตี (แสดงผลเป็น μmol p-nitroaniline h^{-1} mg protein $^{-1}$) โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร ส่วนความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารทำโดยวิธีเดียวกับทริปซิน(Rungruangsak-Torrisen et al., 2002) ในการวัดแอคติวิตีของไคโมทริปซินจะวัดแอคติวิตีที่อุณภูมิ 20 - 60 องศาเซลเซียส โดยมีระยะห่างช่วงละ 5 องศา เพื่อที่จะหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดแอคติวิตีของไคโมทริปซิน

5.6 การวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารโดยวิธี Bio-Rad DC assay

5.6.1 นำเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะและลำไส้มาเจือจางในอัตราส่วน 1/50 ด้วย 50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 โดยมี 200 mM NaCl ละลายอยู่ด้วย

5.6.2 ปิเปตสารละลายจากข้อ 5.6.1 มา 50 μL มาผสมลงใน 250 μL reagent A เขย่าให้เข้ากัน

5.6.3 นำสารละลายจากข้อ 5.6.2 มาผสมลงใน 2 ml reagent B เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

5.6.4 นำสารละลายจากข้อ 5.6.3 ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรแล้วนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีนโดยใช้ BSA เป็นกราฟมาตรฐานโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.7 ประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility)

ในการวัดประสิทธิภาพย่อยอาหารในหลอดทดลองได้ทำการสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลากะพงขาวที่มีอายุ 7 เดือน แล้วนำมาหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนโดยใช้วัตถุดิบที่มีแหล่งโปรตีนจากชนิดต่างๆกัน เมื่อได้แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการย่อยอาหารในหลอด

ทดลองแล้วนำวัตถุดิบชนิดนั้นไปผสมลงในอาหารเพื่อทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวในเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างกันเพื่อที่จะได้ทราบว่าสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้สามารถนำมาผสมลงในอาหารเลี้ยงปลากะพงขาวกี่เปอร์เซ็นต์จึงจะมีความเหมาะสมในการนำวัตถุดิบมาทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลากะพงขาวต่อไป

5.7.1 การหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการทดแทนปลาป่น

เพื่อที่จะทราบว่าแหล่งวัตถุดิบที่เป็นโปรตีนชนิดใดจะถูกย่อยได้ดีนั้นจะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง ในการทดลองการหาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลองนั้นได้ทำการทดลองโดยนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากกระเพาะและลำไส้ของปลากะพงขาวที่อุณหภูมิห้อง โดยวัตถุดิบที่จะนำมาทดลองย่อยคือปลาป่น, เนื้อป่น, เนื้อและกระดูกป่น, เลือดป่น, ถั่วเหลืองป่น และถั่วลิสงป่น

5.7.1.1 นำตัวอย่างวัตถุดิบมา 20 มิลลิกรัมมาผสมกับ 50 mM phosphate buffer (pH 8.2) ปริมาตร 40 มิลลิลิตรและ 0.2 มิลลิลิตรของคลอแรมฟีนิคอล (0.5 w/v % ใน 96 % ethanol) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

5.7.1.2 เขย่าสารที่ได้จากข้อ 5.7.1.1 เบาๆเป็นเวลา 22 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่อง shaking water bath

5.7.1.3 ก่อนที่จะทำการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองให้ดูดสารผสมวัตถุดิบอาหารสัตว์จากข้อ 5.7.1.2 ออกมา 0.5 มิลลิลิตรเพื่อที่จะทำเป็นชุดควบคุมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป

5.7.1.4 นำส่วนสารผสมวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหลือจากข้อ 5.7.1.3 ทั้งหมดมาเติมเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดออกมาจากกระเพาะและลำไส้ของปลากะพงขาวปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5.7.1.5 นำสารที่ได้จากข้อ 5.7.1.4 ไปเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) แล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป (Rungruangsak-Torrisen และคณะ, 2002) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

<u>5.7.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่น</u>

เมื่อได้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมแล้ว นำมาทดลองทำสูตรอาหารทดแทนปลาป่น โดยอาหารที่เป็นชุดควบคุม (control diet) จะเป็นอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบหลัก ส่วน

อาหารที่จะทำการทดลองจะมีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมโดยมีการทดแทนปลาป่นในอัตราส่วน 30, 45 และ 60 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ส่วนของการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองให้กระทำเหมือนข้อ 5.7.1 ดังนี้

5.7.2.1 นำสูตรอาหารจำนวน 3 สูตรที่มีการทดแทนปลาป่นและชุดควบคุม (ตารางที่ 1) ในแต่ละอัตราส่วนมา 20 มิลลิกรัมมาผสมกับ 50 mM phosphate buffer (pH 8.2) ปริมาตร 40 มิลลิลิตรและ 0.2 มิลลิลิตรของคลอแรมฟีนิคอล (0.5 w/v % ใน 96 % ethanol) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

5.7.2.2 เขย่าสารที่ได้จากข้อ 5.7.2.1 เบาๆเป็นเวลา 22 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่อง shaking water bath

5.7.2.3 ก่อนที่จะทำการย่อยสูตรอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นในหลอดทดลอง ให้ดูดสารผสมอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นจากข้อ 5.7.2.2 ออกมา 0.5 มิลลิลิตรเพื่อที่จะทำเป็นชุดควบคุมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป

5.7.2.4 นำส่วนสารผสมสูตรอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นที่เหลือเติมเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดออกมาจากกระเพาะและลำไส้ของปลากะพงขาวปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5.7.2.5 นำสารที่ได้จากข้อ 5.7.2.4 ไปเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องแล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป (Rungruangsak-Torrisen และคณะ, 2002) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.8 การวัดกลุ่มอะมิโนอิสระ

ผลิตผลของกลุ่มอะมิโนอิสระสามารถทำได้โดยวิธีการใช้ TNBS (trinizobenzene sulphonic acid)

5.8.1 นำ 50 mM phosphate buffer (pH 8.2) ปริมาตร 2,000 μL มาผสมกับสารตัวอย่างที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์สกัดและหยุดปฏิกิริยาปริมาตร 200 μL ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร

5.8.2 เติม 0.1 % TNBS ใน 50 mM phosphate buffer (pH 8.2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

5.8.3 เมื่อผสมกันเสร็จแล้วให้นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยทำในที่ที่ไม่มีแสงสว่าง

5.8.4 หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 1 N HCl ปริมาตร 1,000 µL และนำมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.8.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มแสง 420 นาโนเมตร โดยนำ D,L alanine มาทำเป็นกราฟมาตรฐาน (Rungruangsak-Torrisen และคณะ, 2002) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.9 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองการประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง

เมื่อทราบวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมที่สามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่น ก็นำมาทดแทนปลาป่นโดยไม่ได้อิงปริมาณโปรตีนลงในสูตรอาหารในปริมาณ 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับโดยใช้ปลาป่นเป็นชุดควบคุมดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบอาหาร	ปริมาณของวัตถุดิบในสูตรอาหาร (%)			
	ชุดควบคุม	ทดแทนปลาป่น 30 %	ทดแทนปลาป่น 45 %	ทดแทนปลาป่น 60 %
-ปลาป่น	40	28	22	16
-วัตถุดิบทดแทนปลาป่น	-	12	18	24
-หัวกุ้งป่น	10	10	10	10
-หวีดกลูเท่น	8	8	8	8
-แป้งสาลี	16	16	16	16
-แป้งข้าวจ้าว	13	13	13	13
-น้ำมันปลา	8	8	8	8
-วิตามิน + แร่ธาตุรวม	5	5	5	5

5.10 การเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์

ลูกปลากะพงขาวได้ถูกฝึกให้กินอาหารเม็ดสูตรควบคุมเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความเค็ม 0 ppt แล้วคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาใส่ในบ่อทดลองทดลองขนาด 1×1×1 เมตร ใส่น้ำลงไปในบ่อเลี้ยงปลาสูง 60 ซม. (ปริมาตรน้ำ 600 ลิตร) จำนวน 18 บ่อ โดยปลาทดลองได้รับอาหารทดลอง 6 สูตร (3 replication) เลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

ทำการผลิตอาหารเม็ดแห้ง (dry pellet) จำนวน 6 สูตร (ตารางที่ 2) โดยให้มีระดับโปรตีนเท่ากันทุกสูตรที่ 45 เปอร์เซ็นต์ และไขมันเท่ากันทุกสูตรที่ 12 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรที่ 1 ประกอบด้วยปลาป่น 65 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งโปรตีนหลักและไม่มีแหล่งโปรตีนสำรอง (สูตรอาหารชุดควบคุม) ส่วนอาหารสูตรที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ใส่กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน 30.80 เปอร์เซ็นต์ เนื้อกระดูกป่น 25.66เปอร์เซ็นต์ โปรตีนข้าวโพด (corn gluten) 23.64 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับโปรตีนข้าวโพด (corn gluten) ในอัตราส่วน 1:1 26.71 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับเนื้อกระดูกป่นในอัตราส่วน 1:1 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพื่อไปแทนที่โปรตีน 12.53 เปอร์เซ็นต์ ของปลาป่นหรือ 20 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นในอาหารสูตร

ทำการชั่งวัตถุดิบตามส่วนประกอบต่าง ๆ ตามสูตรที่ได้ทำการบดให้ละเอียด จากนั้นนำวัตถุดิบต่าง ๆ มาผสมกันในเครื่องผสมอาหารชนิด horizontal mixer ผสมให้เข้ากันสักระยะหนึ่งประมาณ 10 นาที จึงทำการผสมวิตามินและแร่ธาตุตามลงไป เมื่อวัตถุดิบอาหารต่าง ๆ รวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุผสมเข้ากันดีแล้วจึงใส่น้ำมันปลาตามลงไปเป็นอันดับสุดท้าย ทำการผสมสักระยะหนึ่งเพื่อให้ส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันดี แล้วจึงเติมน้ำสะอาดลงไป 25 – 30%โดยน้ำหนักแล้วทำการผสมต่อไปจนส่วนผสมรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน เป็นก้อนเมื่อปั่นและไม่ร่วนเป็นผง จึงนำไปอัดเม็ดต่อไป อาหารที่ได้อัดเม็ดออกมานำไปอบด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นใส่ภาชนะเก็บในตู้แช่ที่มีอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ทดลองเลี้ยงปลาต่อไป

นำลูกปลากะพงขาวทีมีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 14.47±0.68 กรัม มาเลี้ยงในบ่อขนาด 1×1×1 เมตร โดยสุ่มปล่อยปลาจำนวน 20 ตัว/บ่อ ให้อาหารจนปลาอิ่มวันละ 2 ครั้ง เวลา 7.30-8.00 นาฬิกา และ15.30-16.00 นาฬิกาทุกวัน บันทึกปริมาณอาหารที่ให้และจำนวนปลาที่ตายในแต่ละบ่อทุกวัน ชั่งและวัดปลาเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและนับจำนวนปลาเพื่อศึกษาอัตรารอดทุก ๆ 2 สัปดาห์ การเปลี่ยนถ่ายน้ำ จะทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% ทุกวัน ในช่วงเย็นก่อนให้อาหารโดยดูด

น้ำ มูลและเศษอาหารออก และใส่ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อโรค เมื่อปลาแสดงอาการของโรค โดยใช้ Formalin 20 ppm ร่วมกับ Oxytetracyclin 10 ppm ติดต่อกัน 5 วัน

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบวัตถุดิบอาหารสัตว์ของอาหารทั้ง 6 สูตรที่ใช้เลี้ยงปลา

สูตรอาหารที่ / ส่วนประกอบ%	1	2	2	2	5	5
ปลาป่น	65	45	45	45	45	45
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	-	30.80	-	-	13.21	15.00
เนื้อกระดูกป่น	-	-	25.66	-	-	15.00
โปรตีนข้าวโพด	-	-	-	23.64	13.50	-
น้ำมันปลา	9	8	6.41	8.43	8	8
แป้งข้าวสาลี	14	4.20	10.93	10.93	8.29	5.00
กุ้งป่น	10	10	10	10	10	10
วิตามินรวม[1]	1	1	1	1	1	1
แร่ธาตุรวม	1	1	1	1	1	1
รวม	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**

[1] วิตามินรวม (กรัม / กิโลกรัม อาหาร) : Vitamin A 500,000 หน่วยสากล,Vitamin D_3 100,000 หน่วยสากล, Vitamin B 10, Vitamin $B_1$1.5 , Vitamin $B_2$0.5, Vitamin B_6 2, Vitamin C 8, กรดนิโลทินิก 5,กรดแพนไทซินิค0.2, กรดโฟลิค0.3, Biotin 0.002, Fe0.3, Se0.01

[2] แร่ธาตุรวม (กรัม / กิโลกรัม อาหาร) : Na 140g, Ca 145g, P 70g, Mg 30g, K 25g, S 12g, Fe 1000mg, Zn 900mg, Mn 350mg, Cu 300mg, Co 80mg, I 25mg, Se 20mg

5.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองด้วย ANOVA โดยข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความแปรปรวน (standard error) เมื่อมีความแตกต่างระหว่างกลุ่มจึงนำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างการทดลองด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

6. ผลการทดลอง

การทดลองสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ตอน คือ

6.1 การศึกษาแอคติวิตีของทริปซินในปลากะพงขาว

6.2 การศึกษาแอคติวิตีของไคโมทริปซินในปลากะพงขาว

6.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลากะพงขาว

6.4 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นในหลอดทดลองของปลากะพงขาว

6.5 ศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ

6.1 การศึกษาแอคติวิตีของทริปซินในปลากะพงขาว

การศึกษาแอคติวิตีของทริปซินในปลากะพงขาวที่มีอายุ 20, 30, 60 และ 90 วัน ในการทดลองนี้ศึกษาจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างทริปซินสับสเตรต (1.25 mM benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide ละลายใน 0.2 Tris-HCl buffer pH 8.4) และเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะและลำไส้ของปลากะพงขาวที่อุณหภูมิระหว่าง 30-70 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อชั่วโมง

จากการศึกษาได้แสดงผลในตารางที่ 3 พบว่าที่อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส แอคติวิตีของทริปซินของปลากะพงขาวจะอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อวัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แอคติวิตีของทริปซินก็จะมีระดับสูงขึ้น แอคติวิตีของทริปซินจะมีระดับสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียสแล้วแอคติวิตีของทริปซินของปลากะพงขาวจะลดลง

เมื่อศึกษาแอคติวิตีของทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุแตกต่างกันพบว่าค่าแอคติวิตีของปลากะพงขาวที่มีอายุแตกต่างกันจะมีค่าแอคติวิตีของทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3 แอคติวิตีของทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	20 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
30	19.96 ± 0.45^{al}	20.64 ± 0.54^{al}	22.27 ± 0.51^{al}	20.66 ± 0.29^{al}
35	20.03 ± 0.32^{al}	22.26 ± 1.04^{al}	23.89 ± 0.11^{al}	22.33 ± 0.18^{al}
40	20.75 ± 0.35^{al}	20.40 ± 0.60^{al}	23.15 ± 0.40^{al}	22.35 ± 0.05^{al}
45	22.35 ± 0.25^{al}	21.50 ± 0.58^{al}	23.62 ± 0.21^{al}	22.19 ± 0.15^{al}
50	39.68 ± 0.42^{bcl}	38.86 ± 1.11^{bcl}	33.14 ± 0.13^{bcl}	39.47 ± 0.40^{cl}
55	50.75 ± 0.22^{dl}	41.34 ± 0.97^{dl}	43.86 ± 0.34^{dl}	42.86 ± 0.47^{dl}
60	61.34 ± 0.26^{el}	49.47 ± 1.23^{el}	54.30 ± 0.72^{el}	45.61 ± 0.24^{el}
65	49.82 ± 0.32^{cdl}	37.90 ± 0.33^{cdl}	48.78 ± 0.44^{cdl}	36.49 ± 0.11^{cdi}
70	38.96 ± 0.25^{bl}	34.17 ± 0.24^{bl}	38.45 ± 0.17^{bl}	27.56 ± 0.27^{bl}

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เมื่อนำค่าแอคติวิตีของทริปซินมาคำนวณค่าแอคติวิตีจำเพาะจะโดยนำค่าแอคติวิตี (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) มาหารด้วยปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ (mg ml^{-1}) ซึ่งปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20-90 วันมีปริมาณดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดออกมาจากปลากะพงขาวที่มีอายุต่างๆกัน

อายุ (วัน)	ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร(mg ml^{-1})
20	5.55 ± 0.22^{a}
30	9.37 ± 0.23^{b}
60	15.46 ± 0.26^{c}
90	13.07 ± 0.20^{d}

หมายเหตุ : -ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

การวิเคราะห์หาค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 5 และจากการศึกษาพบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 วันจะสูงกว่าปลากะพงขาวในอายุอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อุณหภูมิที่มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินสูงที่สุดจะอยู่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส รองลงมาจะอยู่ที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียสตามลำดับ แต่ก็ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่จะมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 5 แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} mg $protein^{-1}$) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	20 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
30	3.60 ± 0.08^{a1}	2.20 ± 0.06^{a2}	1.44 ± 0.03^{a2}	1.58 ± 0.02^{a2}
35	3.61 ± 0.05^{a1}	2.37 ± 0.11^{a2}	1.52 ± 0.02^{a2}	1.71 ± 0.01^{a2}
40	3.74 ± 0.06^{a1}	2.18 ± 0.06^{a2}	1.50 ± 0.03^{a2}	1.71 ± 0.00^{a2}
45	4.93 ± 0.04^{a1}	2.29 ± 0.06^{a2}	1.53 ± 0.02^{a2}	1.70 ± 0.01^{a2}
50	7.15 ± 0.08^{a1}	4.15 ± 0.12^{a2}	2.14 ± 0.01^{a2}	3.02 ± 0.03^{a2}
55	9.14 ± 0.04^{a1}	4.41 ± 0.10^{a2}	2.84 ± 0.02^{a2}	3.28 ± 0.03^{a2}
60	11.05 ± 0.05^{a1}	5.28 ± 0.13^{a2}	3.51 ± 0.04^{a2}	3.49 ± 0.01^{a2}
65	8.98 ± 0.05^{a1}	4.04 ± 0.03^{a2}	3.16 ± 0.03^{a2}	2.79 ± 0.01^{a2}
70	7.02 ± 0.05^{a1}	3.64 ± 0.02^{a2}	2.49 ± 0.01^{a2}	2.11 ± 0.02^{a2}

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

6.2 การศึกษาแอคติวิตีของไคโมทริปซินในปลากะพงขาว

ในการศึกษาแอคติวิตีของไคโมทริปซินในปลากะพงขาวที่มีอายุ 20, 30, 60 และ 90 วัน ศึกษาจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไคโมทริปซินสับสเตรต (0.1 mM N-succinyl-Ala-Ala-Pro-phe-nitroanilide ละลายใน 0.2 Tris-HCl buffer pH 8.4) และเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะและลำไส้ของปลากะพงขาวที่อุณหภูมิระหว่าง 20-60 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อชั่วโมง

จากการศึกษาได้แสดงผลในตารางที่ 6 พบว่าที่อุณหภูมิ 20 ถึง 35 องศาเซลเซียส แอคติวิตีของไคโมทริปซินจะอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อวัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แอคติวิตีของไคโมทริปซินก็จะมีระดับสูงขึ้น แอคติวิตีของไคโมทริปซินมีระดับสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียสตามลำดับ แต่ทั้ง 3 อุณหภูมินี้จะมีค่าแอคติวิตีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าแอคติวิตีของทริปซินที่อุณหภูมิ 45,50 และ 55 องศาเซลเซียสมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบแอคติวิตีของปลากะพงขาวที่มีอายุแตกต่างกันพบว่าแอคติวิตีของ
ไคโมทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุต่างๆไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทุกช่วงอายุ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 6 แอคติวิตีของไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	20 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
20	10.65 ± 0.36^{al}	12.27 ± 0.15^{al}	13.87 ± 0.23^{al}	13.02 ± 0.14^{al}
25	12.49 ± 0.28^{al}	13.86 ± 0.11^{al}	14.56 ± 0.16^{al}	13.64 ± 0.15^{al}
30	12.43 ± 0.11^{al}	15.32 ± 0.24^{al}	15.98 ± 0.19^{al}	14.85 ± 0.17^{al}
35	13.64 ± 0.23^{al}	22.60 ± 0.23^{al}	22.98 ± 0.14^{al}	21.83 ± 0.21^{al}
40	27.82 ± 0.24^{bl}	37.21 ± 0.09^{bl}	37.04 ± 0.18^{bl}	33.61 ± 0.13^{bl}
45	49.86 ± 0.50^{cl}	55.58 ± 0.15^{cl}	55.24 ± 0.16^{cl}	44.90 ± 0.23^{cl}
50	59.37 ± 0.29^{cl}	56.72 ± 0.32^{cl}	52.22 ± 0.28^{cl}	42.58 ± 0.18^{cl}
55	48.41 ± 0.14^{cl}	57.88 ± 0.28^{cl}	51.26 ± 0.14^{cl}	37.04 ± 0.20^{cl}
60	45.23 ± 0.30^{cl}	54.28 ± 0.21^{cl}	50.26 ± 0.20^{cl}	35.94 ± 0.18^{cl}

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เมื่อนำค่าแอคติวิตีของไคโมทริปซินมาหาค่าแอคติวิตีจำเพาะโดยนำค่าแอคติวิตี (μmol p-nitroaniline h^{-1} ml^{-1}) มาหารด้วยปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ (mg ml^{-1}) ซึ่งปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20-90 วันมีปริมาณดังตารางที่ 4) จากการศึกษาพบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 วันจะสูงกว่าปลากะพงขาวในช่วงอายุอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อุณหภูมิที่มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินสูงที่สุดอยู่ที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส เมื่อนำค่าแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินมาวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าที่อุณหภูมิ 45,50 และ 55 องศาเซลเซียสจะมีค่าแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อุณหภูมิทั้ง 3 จะมีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตารางที่ 7

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ตารางที่ 7 แอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline h^{-1} mg $protein^{-1}$) ของปลากะพงขาวอายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	20 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
20	1.92 ± 0.06^{a1}	1.31 ± 0.02^{a12}	0.90 ± 0.02^{a2}	1.00 ± 0.01^{a2}
25	2.25 ± 0.05^{a1}	1.47 ± 0.01^{a12}	0.94 ± 0.01^{a2}	1.04 ± 0.01^{a2}
30	2.24 ± 0.02^{a1}	1.63 ± 0.02^{a12}	1.03 ± 0.01^{a2}	1.13 ± 0.01^{a2}
35	2.46 ± 0.04^{ab1}	2.41 ± 0.02^{ab12}	1.49 ± 0.01^{ab2}	1.67 ± 0.02^{ab2}
40	5.01 ± 0.04^{abc1}	3.97 ± 0.01^{abc12}	2.40 ± 0.01^{abc2}	2.57 ± 0.01^{abc2}
45	8.98 ± 0.09^{c1}	5.93 ± 0.02^{c12}	3.57 ± 0.01^{c2}	3.44 ± 0.02^{c2}
50	10.70 ± 0.05^{c1}	6.05 ± 0.04^{c12}	3.38 ± 0.02^{c2}	3.26 ± 0.01^{c2}
55	8.72 ± 0.03^{c1}	6.18 ± 0.02^{c12}	3.32 ± 0.01^{c2}	2.83 ± 0.01^{c2}
60	8.15 ± 0.05^{bc1}	5.79 ± 0.02^{bc12}	3.25 ± 0.01^{bc2}	2.75 ± 0.02^{bc2}

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

6.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลากะพงขาว

จากการนำน้ำย่อยของปลากะพงขาวมาย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำในหลอดทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองคือปลาป่น แป้งมันสำปะหลัง เนื้อและกระดูกป่น เลือดป่น ถั่วเหลืองป่น และถั่วลิสงป่น เมื่อทดลองย่อยในหลอดทดลองเสร็จเรียบร้อยแล้วก็นำมาหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (μmol DL-alanine)

เมื่อย่อยวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองแล้วนำมาหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง จากผลการทดลองในตารางที่ 8 พบว่าหลอดทดลองที่ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 0.66μmol DL-alanine ส่วนกากถั่วเหลืองจะมีค่าอยู่ที่ 0.61μmol DL-alanine ซึ่งมีค่าต่ำกว่าปลา

639.32
ว 82 ว 0
ต.4
25 1553

ป่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อนำไปกากถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับเนื้อกระดูกป่น กากถั่วลิสง เลือดป่นและแป้งมันสำปะหลังพบว่ากากถั่วเหลืองมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ฉะนั้นวัตถุดิบที่เหมาะที่จะนำไปผสมลงในสูตรอาหารเพื่อทดแทนปลาป่นคือกากถั่วเหลือง

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (µmol DL-alanine) ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ

วัตถุดิบอาหารสัตว์	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (µmole DL-alanine)
ปลาป่น	0.66 ± 0.02^{a}
กากถั่วเหลือง	0.61 ± 0.01^{b}
กากถั่วลิสง	0.24 ± 0.00^{c}
เลือดป่น	0.00 ± 0.00^{d}
แป้งมันสำปะหลัง	0.00 ± 0.00^{d}
เนื้อและกระดูกป่น	0.44 ± 0.01^{e}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

6.4 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นในหลอดทดลองของปลากะพงขาว

เมื่อทราบว่ากากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่จะนำมาทดแทนปลาป่น จากนั้นก็นำถั่วเหลืองไปทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร โดยนำกากถั่วเหลืองป่นมาทดแทนปลาป่นในอัตราส่วน 30, 45 และ 60 เปอร์เซนต์ตามลำดับ หลังจากนั้นก็นำไปย่อยในหลอดทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองโดยวัดจากปริมาณของกลุ่มอะมิโนอิสระด้วยวิธี TNBS โดยใช้ DL-alanine เป็นเทียบมาตรฐาน (µmol DL-alanine)

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (µmol DL-alanine) ในอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

ชุดการทดลอง	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (µmole DL-alanine)
ชุดควบคุม	0.55 ± 0.00^{a}
ชุดที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 30 %	0.45 ± 0.01^{b}
ชุดที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 45 %	0.40 ± 0.01^{c}
ชุดที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 60 %	0.31 ± 0.01^{d}

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาดังที่ได้แสดงในตารางที่ 9 พบว่าอาหารชุดควบคุม (สูตรอาหารที่ยังไม่มีการทดแทนปลาป่น) จะถูกย่อยได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ซึ่งจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนอยู่ที่ 0.55µmol DL-alanine ส่วนอาหารที่ถูกย่อยได้ดีรองลงมีคือชุดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนดีกว่าชุดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ที่ 0.45 µmol DL-alanine

6.5 การศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ

การนำอาหารทดสอบมาเลี้ยงลูกปลากะพงขาวด้วยการใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ มาแทนที่ปลาป่น ด้วยการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และข้าวโพดแทนที่ปลาป่น 20% ในสูตรอาหาร โดยทำการเลี้ยงปลากะพงขาว ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 14.28 กรัม ด้วยอาหารทดลอง 6 สูตรที่ระดับโปรตีน 45% และไขมัน 12% เท่ากันทุกสูตร (ตารางที่ 2) เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาดังที่ได้แสดงในตารางที่ 10 - ตารางที่ 15 พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 6 ซึ่งใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับเนื้อกระดูกป่นอัตราส่วน 1:1 ให้น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ไม่แตกต่างทาง

สถิติ (P>0.05) กับสูตรควบคุม แต่ในสูตรที่ 4 และ5 ซึ่งใช้โปรตีนข้าวโพด และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับโปรตีนข้าวโพดอัตราส่วน 1:1 นั้นให้น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ต่ำกว่า สูตรควบคุม (P<0.05) แสดงว่าปลาป่นยังคงเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีที่สุดในอาหารปลากะพงขาว แต่สามารถแทนที่ได้ด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเนื้อกระดูกป่นมากถึง 20% สำหรับการใช้ข้าวโพดเป็นแหล่งโปรตีนสำรอง ซึ่งให้ผลการทดลองทุกค่าต่ำที่สุด จึงไม่ควรใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารปลากะพงขาวเกิน 20%

ตารางที่ 10 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ

อาหารทดลองสูตรที่	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทดลอง (กรัม)				
	สัปดาห์ที่0	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
1	14.73±0.72 ^{a}	25.73±3.43 ^{a}	37.26±1.85 ^{a}	53.48±2.99 ^{a}	71.97±11.42 ^{a}
2	14.42±1.13 ^{a}	23.93±3.36 ^{abc}	33.13±2.61 ^{b}	51.51±1.84 ^{a}	68.52±2.89 ^{ab}
3	14.58±0.59 ^{a}	24.60±1.65 ^{ab}	33.94±3.88 ^{ab}	48.20±1.28 ^{ab}	65.52±4.85 ^{ab}
4	14.28±0.37 ^{a}	21.94±2.11 ^{c}	29.22±2.58 ^{c}	40.94±1.82 ^{b}	53.14±1.44 ^{d}
5	14.38±0.81 ^{a}	23.20±2.54 ^{abc}	31.50±2.70 ^{bc}	45.63±2.20 ^{ab}	57.27±3.19 ^{cd}
6	14.46±0.43 ^{a}	22.99±2.60 ^{bc}	31.44±2.37 ^{bc}	46.85±1.62 ^{ab}	64.05±2.79 ^{bc}

ตารางที่ 11 อัตราแลกเปลี่ยนเนื้อของปลากะพงขาว

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราแลกเปลี่ยนเนื้อ			
	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
1	0.98±0.06 ^{a}	1.05±0.06 ^{a}	1.08±0.03 ^{a}	1.14±0.03 ^{a}
2	1.13±0.01 ^{a}	1.33±0.16 ^{ab}	1.27±0.08 ^{ab}	1.58±0.08 ^{abc}
3	1.06±0.18 ^{a}	1.33±0.04 ^{ab}	1.32±0.12 ^{ab}	1.45±0.06 ^{ab}
4	1.37±0.32 ^{a}	1.53±0.24 ^{b}	1.75±0.15 ^{c}	2.05±0.13 ^{c}
5	1.21±0.07 ^{a}	1.50±0.06 ^{b}	1.44±0.01 ^{b}	1.88±0.43 ^{bc}
6	1.20±0.09 ^{a}	1.56±0.22 ^{b}	1.29±0.09 ^{ab}	1.57±0.27 ^{abc}

ตารางที่ 12 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average daily weight gain) ของปลากะพงขาว

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/วัน)			
	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8
1	0.73±0.05 ^{a}	0.75±0.07 ^{a}	0.86±0.06 ^{a}	0.95±0.02 ^{a}
2	0.63±0.02 ^{ab}	0.62±0.01 ^{bc}	0.82±0.02 ^{a}	0.90±0.05 ^{a}
3	0.67±0.09 ^{ab}	0.65±0.02 ^{ab}	0.75±0.08 ^{ab}	0.85±0.08 ^{a}
4	0.51±0.10 ^{b}	0.50±0.07 ^{c}	0.59±0.03 ^{b}	0.65±0.05 ^{c}
5	0.59±0.04 ^{ab}	0.57±0.04 ^{bc}	0.69±0.09 ^{ab}	0.71±0.03 ^{bc}
6	0.57±0.05 ^{b}	0.57±0.06 ^{bc}	0.72±0.08 ^{ab}	0.83±0.07 ^{ab}

ตารางที่ 13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ (Specific Growth Rate)

อาหารทดลองสูตรที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)			
	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
1	3.72±0.21 ^{a}	3.09±0.18 ^{a}	2.86±0.11 ^{a}	2.64±0.01 ^{a}
2	3.38±0.10 ^{ab}	2.77±0.04 ^{abc}	2.83±0.01 ^{a}	2.60±0.03 ^{a}
3	3.48±0.38 ^{ab}	2.82±0.06 ^{ab}	2.65±0.24 ^{ab}	2.50±0.12 ^{ab}
4	2.86±0.47 ^{b}	2.38±0.25 ^{c}	2.34±0.05 ^{b}	2.19±0.10 ^{c}
5	3.19±0.18 ^{ab}	2.61±0.11 ^{bc}	2.56±0.19 ^{ab}	2.30±0.06 ^{bc}
6	3.09±0.21 ^{ab}	2.59±0.18 ^{bc}	2.61±0.17 ^{ab}	2.48±0.11 ^{ab}

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio) ของปลากะพงขาว

อาหารทดลองสูตรที่	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากะพงขาว			
	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
1	2.25±0.14 ^{a}	2.09±0.13 ^{a}	2.04±0.06 ^{a}	1.94±0.01 ^{a}
2	2.00±0.01 ^{a}	1.71±0.20 ^{ab}	1.78±0.11 ^{ab}	1.43±0.07 ^{bc}
3	2.12±0.36 ^{a}	1.67±0.05 ^{b}	1.69±0.15 ^{b}	1.53±0.07 ^{b}
4	1.67±0.39 ^{a}	1.46±0.23 ^{b}	1.27±0.11 ^{c}	1.08±0.08 ^{c}
5	1.84±0.11 ^{a}	1.49±0.06 ^{b}	1.54±0.01 ^{b}	1.22±0.28 ^{bc}
6	1.84±0.14 ^{a}	1.44±0.20 ^{b}	1.72±0.12 ^{b}	1.43±0.25 ^{bc}

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain) ของปลากะพงขาว

อาหารทดลอง สูตรที่	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลากะพงขาว			
	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
1	74.64±5.44 ^{a}	152.89±13.52 ^{a}	262.98±8.32 ^{a}	388.47±11.68 ^{a}
2	65.92±2.44 ^{ab}	129.67±2.64 ^{abc}	257.14±3.09 ^{a}	375.05±8.60 ^{a}
3	68.74±9.64 ^{ab}	132.78±4.07 ^{ab}	230.56±5.23 ^{ab}	349.38±13.10 ^{ab}
4	53.66±10.88 ^{b}	104.67±15.06 ^{c}	186.77±16.92 ^{b}	272.18±21.74 ^{c}
5	61.34±4.47 ^{ab}	119.13±7.39 ^{bc}	217.41±6.76 ^{ab}	298.35±13.26 ^{bc}
6	59.05±5.09 ^{ab}	117.48±11.57 ^{bc}	224.05±4.98 ^{ab}	343.06±28.58 ^{ab}

7. อภิปรายผลการทดลอง

แอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินในปลากะพงขาว

การหาค่าแอคติวิตีของทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับที่อุณหภูมิ 30-70 องศาเซลเซียส พบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลากะพงขาวทุกช่วงอายุจะมีค่ามากที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่มีค่าแอคติวิตีสูงรองลงมาคือที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียสตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

การหาค่าแอคติวิตีของไคโมทริปซินของปลากะพงขาวที่มีอายุ 20, 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับที่อุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส พบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของปลากะพงขาวทุกช่วงอายุจะมีค่ามากที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยที่ค่าแอคติวิตีของไคโมทริปซินของปลากะพงขาวของทั้ง 3 อุณหภูมินี้จะมีปริมาณสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมของแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินของปลากะพงขาวที่ช่วงอายุต่างๆจะอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 60 และ 50 องศาเซลเซียสตามลำดับ ซึ่งต่างจากรายงานของ Rungruangsak-Torrissen และ Sundby (2000) และ Torrissen และคณะ (1994) ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับแอคติวิตีของปลาแอตแลนติกแซลมอล (*Salmo salar* L.) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินจะอยู่ที่อุณหภูมิ 50 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ จากการที่ผลการทดลองแตกต่างกันอาจจะเนื่องมาจากชนิดของปลาที่แตกต่างกันและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้อาจจะไม่เหมาะสมในการวัดแอคติวิตี ส่วนการทดลองในสัตว์น้ำชนิดอื่นในบางครั้งการวัดแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินก็ไม่ได้มีการวัดที่อุณหภูมิ 50 และ 40 องศาเซลเซียส เช่น Picos-Garcia และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินของหอย Mexican green abalone (*Haliotis fulgens*) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสก็ยังสามารถวัดค่าแอคติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินได้ แต่ค่าที่ได้จะมีค่าไม่สูงมากนัก

ส่วนการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินระหว่างปลากะพงขาวที่มีอายุ 20, 30, 60 และ 90 วันตามลำดับ พบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะของปลากะพงขาวที่อายุ 20 วันจะมีค่าสูงกว่าปลากะพงขาวที่ช่วงอายุอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การที่ปลากะพงขาวอายุ 20 วันมีแอคติวิตีสูงอาจจะเป็นเพราะว่าปลากะพงขาวอายุ 20วันยังมีการให้

อาร์ทีเมียเป็นอาหาร ดังนั้นจึงอาจมีน้ำย่อยจากอาร์ทีเมียมาช่วยในการย่อยอาหารเนื่องจากอาร์ทีเมียมีน้ำย่อยโปรตีนอยู่ในระดับหนึ่ง (วิชัย วัฒนกุล, 2540; Lauff และ Hofer, 1984)

ในการทดลองหาแอคติวิตีจำเพาะของปลากะพงขาวในครั้งนี้แตกต่างจากการทดลองของวิชัย วัฒนกุลและคณะ (2540) ที่ทำการศึกษาการพัฒนาน้ำย่อยในลูกปลากะรัง พบว่าเมื่อปลากะรังมีอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับการทดลองของอัญชลี คงสมบูรณ์ (2530) ที่ทำการศึกษารูปแบบเอนไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลากะพงขาวพบว่าปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารธรรมชาติ (โรติเฟอร์ อาร์ทีเมีย กุ้งเคย และปลาสับ) พบว่าเมื่อปลากะพงขาวอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินสูงขึ้น แต่การที่ในการทดลองนี้มีแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทริปซินสูงสุดที่อายุ 20 วันแล้วหลังจากนั้นก็ลดลง ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่าเมื่อปลามีอายุมากขึ้นจะมีปริมาตรของเหลวและน้ำหนักของทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้นแต่ปริมาณการผลิตเอนไซม์มีเท่าเดิมจึงทำให้ความเข้มข้นของเอนไซม์น้อยลง รายงานฉบับนี้ยังกล่าวว่าแอคติวิตีต่อปริมาตรของเหลวของเอนไซม์ทริปซินในลูกปลากะพงขาวมีแอคติวิตีสูงสุดในระยะแรกๆ โดยเฉพาะเมื่อปลามีอายุ 22-29 วันจะมีค่าแอคติวิตีสูงที่สุด แต่เมื่อปลามีอายุมากขึ้นแอคติวิตีจะค่อยๆลดลง ยิ่งปลามีอายุมากขึ้นก็จะทำให้ปริมาตรของเหลวในทางเดินอาหารมากขึ้น ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์ต่อปริมาตรของเหลวลดลงเรื่อยๆ แสดงว่าปลาน่าจะมีการสังเคราะห์เอนไซม์ได้คงที่หรืออาจน้อยลงเมื่อปลามีอายุมากขึ้น และเมื่อปลามีอายุมากกว่า 104 วันแอคติวิตีต่อปริมาตรของเหลวในทางเดินอาหารจะลดลงอย่างมาก นอกจากนี้รายงานฉบับเดียวกันยังกล่าวว่าค่าแอคติวิตีต่อน้ำหนักทางเดินอาหารของทริปซินจะมีค่าสูงในช่วงอายุ 22-29 วัน หลังจากนั้นก็จะลดลงเรื่อยๆจนสิ้นสุดการทดลอง จากการทดลองนั้นสรุปได้ว่าแอคติวิตีของทริปซินในทางเดินอาหารของปลากะพงขาวจะมีค่าลดลงเมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับเอนไซม์ไคติเนสในการทดลองเดียวกัน

ส่วน Cahu และ Infante (2001) กล่าวในทำนองเดียวกันว่า รูปแบบของแอคติวิตีของเอนไซม์จากตับอ่อนจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโปรตีนภายในร่างกายของสัตว์น้ำวัยอ่อน ซึ่งแอคติวิตีจะเพิ่มขึ้นหลังจากเพาะฟักไปจนกระทั่งมีอายุ 20 วัน หลังจากนั้นจะค่อยๆลดลงไปจนถึงอายุ 25 วัน ซึ่งจะมีระดับคงที่หรือไม่เปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อปลามีอายุมากขึ้น รูปแบบนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำย่อยอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนมีปริมาณสูงมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่ากระบวนการสังเคราะห์น้ำย่อยนี้มีความเกี่ยวเนื่องกับอายุของสัตว์น้ำ

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลากะพงขาว

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในหลอดทดลองของวัตถุดิบอาหารทั้ง 6 ชนิดคือปลาป่น ถั่วเหลืองป่น ถั่วลิสงป่น เลือดป่น เนื้อและกระดูกป่นและแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นวัตถุประสงค์หลักของการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปลากะพงขาวสามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่น กากถั่วเหลืองป่น ได้เป็นอย่างดีโดยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบเหล่านี้จะมีค่าอยู่ที่ 0.66 และ 0.61μmol DL-alanine ตามลำดับ และย่อยได้ดีกว่าโปรตีนจากเนื้อและกระดูกป่น ถั่วลิสงป่น เลือดป่น และแป้งมันสำปะหลังตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบอาหารในสัตว์น้ำชนิดอื่นโดยทวี จินดามัยกุล และคณะ (2545) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในปลาหมอทะเล โดยใช้ปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หวีดกลูเต้น ปลาหมึกป่น ข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่นเป็นวัตถุดิบอาหารในการทดลอง ผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หวีดกลูเต้น ปลาหมึกป่น ข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่น มีค่าเท่ากับ 94.04, 85.95, 95.60, 82.08, 81.28, 84.04 และ 88.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าปลาหมอทะเลสามารถย่อยปลาป่น เนื้อและกระดูกป่นได้ดีกว่ากากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ตรงข้ามกับการทดลองของจูอะดี พงศ์มณีรัตน์และคณะ(2546) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบอาหารในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ผลการศึกษาพบว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยสามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หวีดกลูเต้น และปลาหมึกป่นได้เป็นอย่างดีและมีประสิทธิภาพมากกว่าโปรตีนจากข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่น ส่วนเลือดป่นแม้จะมีโปรตีนสูงแต่ก็พบว่าโปรตีนมีคุณภาพต่ำเนื่องจากมีกรดอะมิโนเมธไธโอนีนและไอโซลิวซีนต่ำมาก ไม่สมดุลกับปริมาณไลซีนทริปโตเฟนที่มีอยู่สูงและเลือดป่นได้ผ่านขั้นตอนการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงจึงทำให้มีโปรตีนที่สัตว์น้ำย่อยได้น้อย กากถั่วลิสงถูกย่อยได้พอสมควรแต่ก็มีถือว่าย่อยได้น้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกากถั่วลิสงมีสารยับยั้งทริปซินซึ่งจะทำให้คุณภาพโปรตีนของถั่วลิสงลดน้อยลงไปอีก สำหรับแป้งมันสำปะหลังนั้นจะไม่พบว่ามีการย่อยโปรตีนได้เลยทั้งนี้เนื่องมาจากเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนต่ำ (บุญชัย กิจสัมฤทธิ์โรจน์, 2532)

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นในหลอดทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในหลอดทดลองของอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นที่ 30 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พบว่าปลากะพงขาวสามารถย่อยโปรตีนในชุดควบคุมซึ่งก็คือปลาป่นได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) มีค่าการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองอยู่ที่ 0.55 µmol DL-alanine รองลงมาคืออาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองอยู่ที่ 0.45 µmol DL-alanine มากกว่าอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่น 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์มีค่าการย่อยโปรตีนต่ำกว่าอาหารเม็ดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองป่นในปริมาณที่มากขึ้นจะทำให้โปรตีนที่ย่อยได้ลดน้อยลง ฉะนั้นการทดลองนี้จึงทำให้เห็นว่าอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองป่น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดแทนปลาป่น แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบอาหาร ($P < 0.05$) จึงอาจจะทำให้ต้องลดปริมาณเปอร์เซ็นต์ของกากถั่วเหลืองให้น้อยลงกว่า 30 เปอร์เซ็นต์เพื่อที่จะได้ให้มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนได้มากขึ้น

Dabrowski และคณะ (1989) ได้ทำการทดลองใช้กากถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่นในอาหารปลาเรนโบว์เทราต์ พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองในการทดแทนปลาป่นได้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับ Alexis และคณะ (1985) ก็ได้ศึกษาในปลาเรนโบว์เทราต์เช่นเดียวกัน ผลการศึกษาพบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนแทนที่ปลาป่นประมาณ 26 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการศึกษาการลดต้นทุนค่าอาหารของปลากะพงขาวก็ได้มีนักวิจัยหลายท่านได้ทำการศึกษา เช่นจูอะดี พงศ์มณีรัตน์และมะลิ บุญรัตนผลิน (2538) พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนข้าวโพดในอาหารปลากะพงขาวได้ 17 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนมะลิ บุณยรัตนผลินและคณะ (2539) ได้ทำการศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองเอกซ์ทรูดและถั่วเหลืองนึ่งแทนที่ปลาป่นได้ 15 เปอร์เซ็นต์

สำหรับกากถั่วเหลืองก็นับได้ว่าเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นได้ดีกว่าโปรตีนจากวัตถุดิบชนิดอื่นเพราะว่ามีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ดีเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนชนิดอื่น นอกจากนี้แล้วกากถั่วเหลืองก็ยังเป็นแหล่งโปรตีนที่หาได้

ง่าย มีราคาถูกและมีปริมาณไม่ขาดแคลนเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนชนิดอื่นๆ ฉะนั้นจึงได้มีการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในการค้นคว้าเพื่อที่จะนำมาศึกษาในการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารของสัตว์น้ำหลายชนิดเนื่องจากในปัจจุบันปลาป่นได้มีราคาแพงขึ้นและมีปริมาณลดน้อยลงอันมีผลสืบเนื่องจากภาวะเศรษฐกิจ ส่วนเนื้อและกระดูกป่นก็เป็นแหล่งโปรตีนสำรองอีกแหล่งหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารสัตว์น้ำหลายๆชนิดได้ เพราะเนื้อและกระดูกป่นเป็นวัตถุดิบที่มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนชนิดอื่น แต่เนื่องจากที่เนื้อและกระดูกป่นมีปริมาณเถ้าค่อนข้างสูงก็อาจจะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนลดลง (จูอะดี พงศ์มณีรัตน์และคณะ, 2546) จึงสามารถนำมาทดแทนปลาป่นได้เพียงระดับหนึ่งเท่านั้น ฉะนั้นจากการทดลองนี้อาจจะกล่าวได้ว่ากากถั่วเหลืองป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารเม็ด โดยที่ไม่ควรใช้ในการทดแทนปลาป่นเกิน 30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากกากถั่วเหลืองแล้วก็ยังมีเนื้อและกระดูกป่นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่น ส่วนกากถั่วลิสง เลือดป่น และแป้งมันสำปะหลังไม่ควรที่จะนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร อย่างไรก็ตามการที่จะใช้วัตถุดิบชนิดใดมาทดแทนปลาป่นนอกจากจะศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยแล้วต้องดูเปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสมที่สามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่นด้วย และควรมีการศึกษาหาวัตถุดิบชนิดอื่นๆที่มีปริมาณโปรตีนสูงมาทดลองย่อยในหลอดทดลองเพื่อเป็นแนวทางในการหาวัตถุดิบในการทดแทนปลาป่น เช่นเนื้อปลาหมึกป่น หรือใช้แหล่งโปรตีนจากพืชชนิดอื่น ๆ ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น

การศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ

จากผลการศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวโดยพิจารณาจาก น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลาทดลอง พบว่าทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยปลาทดลองที่เลี้ยงอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3 ซึ่งมีส่วนประกอบของ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเนื้อกระดูกป่น ให้การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสูตรควบคุม ส่วนอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม พบว่าปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2, 3, และ 6 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันผสมกับเนื้อกระดูกป่นในอัตราส่วน 1:1 เป็นส่วนประกอบ ให้ผลดีเทียบเท่ากับสูตรควบคุม (สูตรที่ 1)

($P>0.05$) แต่ปลาทดลอง ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 และ 5 ซึ่งมีโปรตีนข้าวโพดและโปรตีนข้าวโพดผสมกับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในอัตราส่วน 1:1 ให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ต่ำกว่าปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุม โดยในสูตรที่ 4 ซึ่งมีโปรตีนข้าวโพดเป็นส่วนประกอบนั้น ให้ผลการทดลองที่ต่ำที่สุด ซึ่งแสดงว่าในโปรตีนข้าวโพดน่าจะมีความไม่สมดุลของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตปลากะพงขาว และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยยากในโปรตีนข้าวโพด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจูอะดี และมะลิ (2539) ที่ใช้โปรตีนพืชทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว พบว่าสามารถใช้โปรตีนข้าวโพดในอาหารปลากะพงขาวได้ไม่เกิน 10% (โดยแทนที่ปลาป่น 50%) เมื่ออาหารนั้นมีปลาป่น 20% เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหาร ส่วนในสูตรที่ 2 และ 3 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเนื้อกระดูกป่นเป็นส่วนประกอบนั้น น่าจะมีความสมดุลของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับปลากะพงขาว

อัตราการแลกเนื้อของปลาทดลอง ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2, 3 และ 6 ซึ่งมี กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน, เนื้อกระดูกป่น และเนื้อกระดูกป่นผสมกับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในอัตราส่วน 1:1 เป็นส่วนประกอบ ให้อัตราแลกเนื้อดีเทียบเท่ากับสูตรควบคุม ($P>0.05$) แต่ในสูตรที่ 4 และ5 ซึ่งมีโปรตีนข้าวโพด และโปรตีนข้าวโพดผสมกับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในอัตราส่วน 1:1 นั้น ให้อัตราแลกเนื้อที่มีประสิทธิภาพลดลง ($P<0.05$) ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลมาจากปริมาณคาร์โบไฮเดรตในโปรตีนข้าวโพด และกากถั่วเหลืองที่ย่อยยาก ซึ่งมีปริมาณสูงโดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Watanabe และคณะ (1993) ที่พบว่า สารอาหารจำพวกแป้งในกากถั่วเหลือง สามารถถูกย่อยได้เพียง 54% ในปลาเรนโบว์เทร้าและถูกย่อยได้เพียง 55% ในปลาเยลโล่เทล

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของอาหารสูตรที่ 2, 3, 4, 5 และ6 มีค่าต่ำกว่าสูตรควบคุม ($P<0.05$) โดยในสูตรที่ 4 ซึ่งมีโปรตีนข้าวโพดเป็นองค์ประกอบนั้น มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำสุด ซึ่งแสดงว่าปลาสามารถนำโปรตีนจากปลาป่นไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เนื้อกระดูกป่น และโปรตีนข้าวโพด และอาจขึ้นอยู่กับ enzyme activity ของปลาในช่วงอายุนี้ด้วยว่า อาจมีความสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดได้มากน้อยแตกต่างกัน

8. สรุปผลการทดลอง

1. แอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลากะพงขาวจะมีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 วันจะมีแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินสูงที่สุด เมื่อปลากะพงขาวมีอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีของทริปซินลดต่ำลง

2. แอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของปลากะพงขาวจะมีค่าสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปลากะพงขาวที่มีอายุ 20 วันจะมีแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินสูงที่สุด เมื่อปลากะพงขาวมีอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีของไคโมทริปซินลดต่ำลง

3. เอนไซม์ย่อยโปรตีนของปลากะพงขาวสามารถย่อยปลาป่นได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กากถั่วเหลืองป่นและเนื้อและกระดูกป่นตามลำดับ กากถั่วเหลืองป่นสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนปลาป่นได้ดีที่สุด

4. กากถั่วเหลืองป่นสามารถนำมาทดแทนปลาป่นในปริมาณน้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารเม็ดสำหรับใช้เลี้ยงปลากะพงขาวซึ่งมีส่วนประกอบของปลาป่น 40 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารทดลอง

5. การทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลากะพงขาวขนาด 14 กรัม ขึ้นไปสามารถถูกแทนที่ด้วยการใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และ เนื้อกระดูกป่นได้ 20 เปอร์เซ็นต์

6. สูตรอาหารที่มีโปรตีนข้าวโพดให้อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ต่ำกว่าอาหารทดลองทุกสูตร และต่ำกว่าสูตรควบคุมที่มีปลาป่นเป็นองค์ประกอบ

7. ปลาป่นยังเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีกว่า กากถั่วเหลือง, เนื้อกระดูกป่นและโปรตีนข้าวโพดในอาหารสำหรับปลากะพงขาวขนาด 14 กรัมขึ้นไป

8. เอกสารอ้างอิง

จารุรัตน์ บูรณะพานิชย์กิจ, มะลิ บุญยรัตผลิน, ทะเคชิ วาตานาเบ, ธิดา เพชรมณี และเรณู ยาชิโร. (2532). ความต้องการกรดไขมันที่จำเป็นของปลากะพงขาววัยรุ่น. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2532 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ จังหวัดสงขลา กรมประมง.

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุณยรัตผลิน. (2538). การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2538 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา.

จูอะดี พงษ์มณีรัตน์ และ มะลิ บุญรัตผลิน. (2539). การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว, รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2539. กรมประมง.

จูอะดี พงษ์มณีรัตน์ และ ทะเคชิ วาทานาเบ้ (1993). การใช้โปรตีนสำรองบางชนิดทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับปลาแรนโบว์เทร้า, รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536. กรมประมง.

จูอะดี พงษ์มณีรัตน์, พิชญา ชัยนาค, ทวี จินดามัยสกุล และชูศักดิ์บริสุทธิ์. (2545) ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงแดง, วารสารการประมง, 55(5): 413-421.

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, พิชญา ชัยนาค และทวี จินดามัยกุล. (2546). ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบบางชนิดในอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย. พังงา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2546 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งพังงา จังหวัดพังงา กรมประมง.

ดุสิต ตันวิไลย, พุทธ แซ่ลิ่ม และยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร. (2528). การศึกษาการพัฒนาการของลูกปลากะพงขาววัยอ่อน *Lates calcarifer* (Bloch). สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2528 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา กรมประมง.

ธำมรงค์ ตันภิบาล. (2539). การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและไขมันของอาหารทดลองซึ่งมีถั่วเหลืองที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆในอาหารปลากะพงขาววัยอ่อน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง). คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัช ศรีวีระชัย, ฐานันดร์ ทัตตานนท์ และวิชัย ชัยชนะกสิกรรม (2543). การใช้อาหารเม็ดทดแทนปลาสดในการอนุบาลปลากะพงขาวจากขนาด 1 นิ้วให้มีขนาด 3 นิ้วในกระชัง, เอกสารวิชาการฉบับที่ 50/2543, ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงชายฝั่งนราธิวาส, กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง.

ทวี จินดามัยกุล, พิชยา ชัยนาค และจูอะดี พงศ์มณีรัตน์. (2545). การศึกษาการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบต่างชนิดในอาหารปลาหมอทะเล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 20/2545. กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

บุญชัย กิจสัมฤทธิ์โรจน์. (2532). หลักการใช้และให้อาหารปลา-กุ้ง. นนทบุรี: ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท.

มะลิ บุญรัตผลิน และจูอะดี พงศ์มณีรัตน์. (2533). การศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสในอาหารปลากะพงขาว. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 4 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง.

มะลิ บุญยรัตผลิน, ประวิทย์ สุรนีรนาถและธำมรงค์ ตันภิบาล. (2539). การแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภันท์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว, รายงานการสัมมนาประจำปี 2539 .กรมประมง.

วิชัย วัฒนกุลม สุนิตย์ โรจนพิทยากุล และพูนสิน พานิชสุข. (2540). การพัฒนาน้ำย่อยในลูกปลากะรัง *Epinepphelus coioides* วัยอ่อน. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 22/2540 สถาบันวิจัยสัตว์น้ำชายฝั่ง จ.สงขลา กรมประมง.

วิเชียร สาคเรศ, มะลิ บุณยรัตผลิน, นันทิยา อุ่นประเสริฐ และพรชัย ขำแป้ง. (2531). ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในปลากะพงขาว. ระยอง: เอกสารวิชาการ 7/2531 สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดระยอง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

วิเชียร สาคเรศ ,มะลิ บุญรัตผลิน, นันทิยา อุ่นประเสริฐ. (2532). ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงขาว II. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 8/2532 สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดระยอง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2543). โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพจน์ จึงแย้มปิ่น, มะลิ บุณยรัตผลิน และสุพักตร์ ร่อนรา. (2533). การทดลองใช้ไขมันชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2533 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ จังหวัดสงขลา กรมประมง.

สุนิตย์ โรจนพิทยากุล, เจนจิตต์ คงกำเนิด และอัตรา ชัยมงคล (2547). การเลี้ยงปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (BLOCH) ด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนต่ำสลับกับอาหารที่มีระดับโปรตีนปกติต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร. เอกสารวิชาการ, สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา.

อัญชลี คงสมบูรณ์. (2530). รูปแบบเอ็นไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Alexis, H.N., Papaparaskeva-papoutsoglou, E. and Theochri, V. (1985). Formulations of practical diets for rainbow trout (Salmo gairdneri) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products. Aquaculture 50:61-73.

Boonyaratpalin, M. (1991). Nutritional studies on seabass (*Lates calcarifer*). Fish Nutrition Reserch in Asia. Proceeding of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop. Asian fisheries Society. 33-41.

Cahu, C. and Infate, J. Z. (2001). Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. Aquaculture 200: 161-180.

Cuzon, G. and Fuch, J. (1988). Preliminary nutritional studies of seabass *Lates calcarifer* (Bloch) protein and lipid requirment. Annual Conference and Exposition World Aquaculture Society. Hawii'88 Program and Abstracts. 15-16.

Dabrowski, Poczyczynski, H.P., Kock, G. and Berger, B. (1989). Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) New In vivo test for exocrine pancreatic secretion. Aquaculture 77:29-49.

Kuz'mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzymes activity in some freshwater teleosts. Aquaculture, 148, 25-37.

Moullac, G. L., Klein, B., Sellos, D. and Wormhoudt, A. V. (1997). Adaptation of trypsin, chymotrypsin and –amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapod). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 208 (1-2): 107-125.

Picos-Garcia, C, Garcia-Carreno, F.L. & Serviere-Zaragoza, E. (2000). Digestive protease in juvenile Mexican green abalone, *Haliotis fulgens*. Aquaculture 181: 157-170.

Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S. A., Jensen, H. B., Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T. A., Mundheim, H., Luzzana, U. & Venturini, G. (2002). In vitro digestibility base on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82, 644-654.

Rungruangsak-Torrissen and Sundby, K. A. (2000). Protease activities, plasma free amino acids and insulin at diferent ages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin. Fish Physiology and Biochemistry 22: 337-347.

Sakaras, W., M. Boonyaratpalin, N. Unprasert and P. Kumpang. (1988). Optimumdietary protein energy ratio in seabass feed I. Rayong: Technical paper No. 7. Rayong Brackishwater Fisheries Station, Thailand.

Sakaras, W., M. Boonyaratpalin and N. Unprasert. (1988). Optimum dietary protein energy ratio in seabass feed II. Rayong: Technical paper No. 8. Rayong Brackishwater Fisheries Station, Thailand.

Shiau, S.Y.,C.C.Kwok, J.Y.Hwang, C.M.Cheu and S.L.Lee. (1989). Replacement of fish meal with soybean in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*) fingering diets at a suboptimal protein level .Journal of the World Aquaculture Society 20:230-235.

Torrisen, K.R. (1984). Characterization of proteases in the digestive tract of Atlantic salmon (*Salmo solar*) in comparison with Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comparative Biochemistry and Physiology, 77B, 669-674.

Torrisen, K. R., Leid, E. & Espe, M. (1994). Differences in digestion and absorbtion of dietary protein in Atlandtic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. Journal of Fish Biology, 45, 1087-1104.

Vuthiphandchai, V. (1986). Effect of dietary carbohydrate levels on growth, feed conversion efficiencies and body composition of Nile tilapia. M.Sc. thesis. Asian Institute of Technology. Thailand. 86 pp.

Walford, J and T.J. Lam. (1993). Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. Aquaculture, 109 (2), 187-205.

Watanabe,T., Pongmaneerat, J., Satch, S and Takeuchi,T. (1993). Replacement of fishmeal by alternative protein source in rainbow trout diets. Nippon Suisan Gakkaishi. 59:1573-1579.