รายงานการวิจัย

การพัฒนาการเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูป: ประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปด้วยเอนไซม์

ภายใต้แผนงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงปลาสวยงามน้ำเค็ม
ในกลุ่มปลาการ์ตูนประจำปี 2548

จารุนันท์ ประทุมยศ
ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2548
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

พ.ศ. 2548

ISBN 974-384-257-8

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2548 มหาวิทยาลัยบูรพา คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ ขอบคุณหัวหน้าหน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงที่อนุเคราะห์ปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) ขอบคุณนางจันจรัส วัฒนโชติ ที่ให้คำปรึกษา ให้ความรู้ ให้คำแนะนำ ตลอดจนกระทั่งให้ความช่วยเหลือในการศึกษาและทดลอง และ ขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงลงได้

การพัฒนาการเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว(*Amphiprion ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูป: ประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปด้วยเอนไซม์

โดย

จารุนันท์ ประทุมยศ*

ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ*

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูป 5 สูตร ด้วยเอนไซม์ปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) นำวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน สาหร่ายสไปรูไลนา และสาหร่ายใบเฟิร์นมาทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปสูตรที่ 2-5 อาหารสำเร็จรูปสูตรที่1 เป็นสูตรควบคุมไม่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืช สูตรที่ 2 ประกอบด้วยกากถั่วเหลืองอัดน้ำมันและสาหร่ายสไปรูไลนา 20 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่3-5 ประกอบด้วยกากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน สาหร่ายสไปรูไลนา และ สาหร่ายใบเฟิร์น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยอาหารสำเร็จรูปทุกสูตรมีปริมาณโปรตีน 62.5-64 เปอร์เซ็นต์ สกัดเอนไซม์จากระบบทางเดินอาหารปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน นำเอนไซม์ไปย่อยอาหารสำเร็จรูปที่อุณหภูมิ 25°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ทั้ง 3 อายุ มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ทั้ง 3 อายุมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปสูตรที่ 2 สูตรที่3 และสูตรที่ 5 แตกต่างจากอาหารสำเร็จรูปสูตรที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ในอาหารสำเร็จรูปสูตรควบคุม (สูตรที่1) ไม่แตกต่างจากอาหารสำเร็จรูปสูตรอื่นๆที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชทดแทนปลาป่นทุกสูตร สรุปได้ว่าในอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน สาหร่ายสไปรูไลนา และ สาหร่ายใบเฟิร์น (*Caulerpa* sp.) ทดแทนปลาป่นได้อย่างน้อย 10 เปอร์เซ็นต์

---

* สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลบางแสน มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี

Improvement of Rearing False Clown Anemonefish (*Amphiprion ocellaris*) by Feeding Practical Diets : In vitro Digestibility Efficiency of Practical Diets with Crude Enzyme.

by

Jarunan Pratoomyot *

Piyawan Srivilas *

Abstract

In vitro digestibility efficiency of 5 practical diets of clown anemonefish (*Amphiprion ocellaris*) was determined by using crude enzyme. Three different plant ingredient sources namely soybean meal (SBM), spirulina meal (SM), macroalgae meal (MM, *Caulerpa* sp.) were used as plant ingredient sources substituted fish meal (FM) in diet 2-5. Diet 1 was a control treatment without added plant ingredient while diet 2 contained the mixture of SBM and SM 20 percent and diet 3-5 contained SBM, SM and MM 10 percent replaced fish meal. All practical diets contained protein 62.5-64 percent. Crude enzyme from digestive tract of 3, 5 and 6 month of clown anemonefish (*A. ocellaris*) was extracted and digested the practical diets at 25 °C for 24 hrs. Results showed that clown anemonefish (*A. ocellaris*) of 3 month olds enable to digest the practical diets insignificantly difference ($P>0.05$). They digested diets 2, diet 3 and diet 5 different from diet 4 significantly ($P<0.05$) but insignificantly from diet1 (control) ($P>0.05$). Therefore, it can be concluded that fish meal can be replaced by soybean meal, spirulina meal and macroalgae meal in practical diets of clown anemonefish (*A. ocellaris*) at least 10 percent.

---

*Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Muang District , Chonburi Province

สารบัญ

สารบัญภาพ

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

สารบัญภาพภาคผนวก

สารบัญตารางภาคผนวก

บทนำ

ปลาทะเลสวยงามกลุ่มปลาการ์ตูน (*Amphiprion spp.*) เป็นปลาทะเลสวยงามที่นิยมเลี้ยงกันทั่วไปในกลุ่มผู้เลี้ยงปลาตู้ทะลสวยงาม เนื่องจากมีสีสันสวยงาม ปลาการ์ตูนในประเทศไทยมีทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ ปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนอานม้า ปลาการ์ตูนอินเดียนแดง ปลาการ์ตูนอินเดียนแดงท้องเหลือง ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนดำแดง และปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (Allen, 1991)

ในปัจจุบันมีการศึกษาเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนกันมากขึ้น ปลาการ์ตูนจากการเพาะพันธุ์มีข้อดีที่เห็นชัดเจนคือปลาสามารถปรับตัวอยู่ในที่กักขังได้ดีกว่าปลาธรรมชาติ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลบางแสน ม.บูรพา ประสบผลสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) มาเป็นระยะเวลานาน อย่างไรก็ตามการเลี้ยงปลาการ์ตูนโดยทั่วไปให้ปลาการ์ตูนกินอาหารสด อาหารมีชีวิต และอาหารแช่เย็น เช่น ปลา หอยลาย กุ้ง เคย และ อาร์ทีเมีย เป็นต้น แต่การให้ปลากินอาหารเหล่านี้ทำให้คุณภาพน้ำเสียเร็ว และถ้าให้อาหารชนิดเดียวติดต่อกันเป็นเวลานานก็ทำให้ปลาขาดสารอาหาร และเสี่ยงต่อโรคที่อาจติดมากับอาหาร

การเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูป ปลาจะได้รับสารอาหารหลากหลายจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ จากการศึกษาการย่อยอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) พบว่ามีประสิทธิภาพการย่อยอาหารประเภทเนื้อสัตว์ได้ดี (จารุนันท์ และ ปิยะวรรณ, 2547) แต่วัตถุดิบประเภทเนื้อสัตว์มีราคาแพงซึ่งเป็นข้อจำกัดในด้านวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Tuan, 1986) และในธรรมชาติปลาการ์ตูนกินอาหารทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous fish) (Ailen, 1980) ดังนั้น เพื่อให้ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A.ocellaris*) กินอาหารใกล้เคียงอาหารธรรมชาติและปลาสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารสำเร็จรูปได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A.ocellaris*) ที่มีแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์จากสัตว์จากพืชเพื่อใช้ทดแทนปลาป่นบางส่วน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษากิจกรรมการย่อยอาหารของเอนไซม์ที่สกัดจากระบบทางเดินอาหารปลาการ์ตูนส้มขาว (*A .ocellaris*) ในการย่อยอาหารสำเร็จรูป 5 สูตร โดยใช้เทคนิคการศึกษาในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่าการทดลองกับสัตว์ทดลองซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาการ์ตูนต่อไป

วัตถุประสงค์การศึกษา

ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชชนิดต่างๆ เพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นบางส่วนของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)

ความสำคัญของการศึกษา

ทราบถึงประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชชนิดต่างๆ เพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นบางส่วนของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษา

1. ได้แนวทางในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อนำมาเป็นส่วนประกอบอาหารสำเร็จรูปของปลาทะเลสวยงามกลุ่มปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris.*)
2. ได้ข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาคุณค่าทางอาหารของปลาทะเลสวยงามกลุ่มปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris.*)

ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ในอาหารที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชเพื่อทดแทนปลาป่นที่เป็นวัตถุดิบอาหารที่มีราคาแพง เช่น กากถั่วเหลือง สาหร่ายใบเฟิร์น สาหร่ายสไปรูไลนาในระดับ 10 % โดยวิธีการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (in vitro) ด้วยเอนไซม์สกัดจากระบบทางเดินอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) และนำเอนไซม์ที่ได้มาย่อยอาหารสำเร็จรูปขึ้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดปริมาณ DL-alanine ที่เอนไซม์ผลิตมาด้วยเครื่อง UV-visible spectrometer, UV300

สำรวจเอกสาร

1. อนุกรมวิธานปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*)

ปลาการ์ตูนส้มขาวมีสีลำตัวเป็นสีส้มสลับกับแถบสีขาว 3 แถบคาดอยู่บริเวณส่วนหัวหลัง ส่วนกลางลำตัวและ ส่วนโคนหาง ชนิดปลาการ์ตูนส้มขาวสามารถจำแนกได้ดังนี้ (Nelson ,1994; Allen ,1991)

Phylum : Chlodata

Subphylum : Vertebrata

Class : Actinopterygii

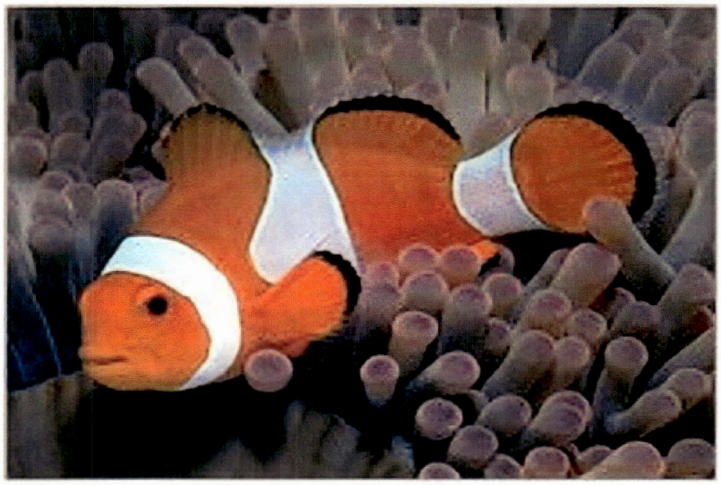
Order : Perciformes

Suborder : Acanthopterygii

Family : Pomacentridae

Genus : Amphiprion

Species : *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830



ภาพที่ 2.1 แสดงปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*)

2. การแพร่กระจายของปลาการ์ตูนส้มขาว

การแพร่กระจายของปลาการ์ตูนส้มขาวพบได้ใน มหาสมุทรอินเดีย มหาสมุทรแปซิฟิก รวมถึงทะเลอันดามัน แถบประเทศไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย ออสเตรเลียและฟิลิปปินส์ ปลาการ์ตูนส้มขาวอาศัยอยู่ร่วมกับดอกไม้ทะเลชนิด *Stichodactyla gagantea*, *S. mertensii*, and *Heteractis magnific* ปลาการ์ตูนส้มขาวอาศัยอยู่ในทะเลระดับความลึก 1-15 เมตร มีขนาดใหญ่สุด 80 มิลลิเมตร มีกระโดงครีบหลัง 11 อัน ส่วนครีบอกมีกระโดง 17 อัน (Allen,1991)

3. การกินอาหารและการเจริญเติบโต

ปลาการ์ตูนกินแพลงก์ตอนชนิดต่างๆเป็นอาหาร โคพีพอด และตัวอ่อนเพรียงเป็นสัตว์ที่พบมากที่สุดในกระเพาะอาหาร ปลาการ์ตูนบางชนิดกินสาหร่ายเป็นอาหารด้วย เช่น ปลาการ์ตูนอินเดียนแดง (*A. perideraion*) (Allen, 1980)

ปลาการ์ตูนที่มีขนาดเล็กไม่ใช่ลูกปลาเสมอไปอาจเป็นปลาที่โตเต็มวัยแต่มีขนาดเล็ก อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากการแคระแกรน ปลาที่มีขนาดเล็กใช้เวลาและพลังงานส่วนใหญ่ไปกับการต่อสู้หลบหลีกปลาตัวใหญ่ ปลาขนาดเล็กจึงมีเวลาในการหากินอาหารน้อย ถ้ามีพื้นที่ในการหากินมีจำกัด พลังงานส่วนมากจึงสูญเสียไปกับการต่อสู้ กลุ่มปลาการ์ตูนที่มีขนาดใหญ่สามารถออกหากินในพื้นที่กว้างขึ้น (Fautin and Allen, 1992 อ้างโดย Naeem, 2004)

4. ประเภทอาหารของปลาตู้

4.1 อาหารธรรมชาติ ลูกปลาทุกชนิดกินแพลงก์ตอนขนาดเล็กเป็นอาหาร เช่น ตัวอ่อนสัตว์น้ำชนิดต่างๆ (Axelrod, 1989)

4.2 อาหารมีชีวิต อาหารมีชีวิตหลายชนิดที่สามารถนำมาเลี้ยงปลาได้ เช่น อาร์ทีเมีย หนอน ลูกปลา ตัวอ่อนแมลง ไรน้ำ เป็นต้น (Axelrod, 1989) ข้อดีของการเลี้ยงปลาด้วยอาหารมีชีวิตคือปลาได้รับสารอาหารธรรมชาติจริง ข้อเสียของอาหารมีชีวิต คืออาจเป็นพาหะนำโรคมาสู่ปลา อย่างไรก็ตาม ในการเลี้ยงปลาตู้ควรจะต้องเสริมอาหารมีชีวิตอย่างน้อย 1 ครั้ง/สัปดาห์

4.3 อาหารสดและอาหารแช่แข็ง เนื่องจากอาหารมีชีวิตไม่สามารถหาได้ตลอดปี อาหารสด และอาหารแช่แข็งจึงเป็นอาหารอีกประเภทหนึ่งที่สะดวกและหาได้ง่ายกว่าอาหารมีชีวิต อาหารประเภทนี้ได้แก่ กุ้ง หอย ปลา เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีพืชหลายชนิดที่สามารถเป็นอาหาร เสริมสำหรับปลากินพืชและปลากินพืชและกินสัตว์ เช่น สาหร่าย ผักกาดหอม และ ผักโขม เป็นต้น ซึ่งอาหารเหล่านี้สามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลาหลายเดือนในอุณหภูมิต่ำ (Blasiola, 1991)

4.4 อาหารแห้งที่จัดทำขึ้น ประกอบด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์หลายๆชนิด แล้วผ่านขบวนการต่างให้อยู่ในรูปอาหารแผ่น อาหารเม็ดและอาหารแห้ง

4.4.1 อาหารแผ่น อาหารแผ่นที่ดีไม่ควรทำให้น้ำขุ่นและแตกตัวเป็นชิ้นเล็กๆจมลงสู่ก้นตู้เร็วเกินไป ข้อดีของอาหารแผ่นคือมีองค์ประกอบอาหารที่ปลาต้องการ สะดวกในการให้อาหารและการเก็บรักษา (Blasiola, 1991)

4.4.2 อาหารเม็ด อาหารเม็ดมีทั้งอาหารจมน้ำและอาหารลอยน้ำ อาหารจมน้ำเป็นการอัดวัตถุดิบอาหารสัตว์รวมกันให้แน่นผ่านแม่พิมพ์ออกมา ในขณะที่กระบวนในการทำอาหารลอยน้ำจะต้องอาศัยความดันสูง ความร้อนและความชื้น จนกระทั่งคาร์โบไฮเดรตกลายเป็นเจลาติน จับกับอากาศภายในอาหารซึ่งทำให้อาหารลอยน้ำได้ (Blasiola, 1991)

4.4.3 อาหารแห้ง ประกอบด้วย แพลงก์ตอนสัตว์ เคย หนอนขาว หนอนแดง ที่แช่แข็งจากนั้นนำไปผ่านกระบวนการเอาน้ำออก ขบวนการนี้ลดการสูญเสียสารอาหารได้ (Blasiola, 1991;Vollkart, 1991)

5.วัตถุดิบอาหารสัตว์

วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่สามารถนำมาประกอบอาหารเลี้ยงสัตว์เพื่อเป็นแหล่งสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมีมากมายหลายชนิด วัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดมีลักษณะและคุณสมบัติทางโภชนาการแตกต่างกัน การนำไปใช้ประโยชน์ในการประกอบสูตรอาหารจึงแตกต่างกันออกไป สามารถแบ่งประเภทวัตถุดิบได้ดังนี้

5.1 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทที่ให้พลังงานสูง หมายถึงวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานในระดับสูงแต่มีโปรตีนต่ำเพียง 6-12 เปอร์เซ็นต์ และเป็นโปรตีนที่คุณภาพไม่ดีนัก วัตถุดิบประเภทนี้ได้แก่ ปลายข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง รำละเอียด รำสกัดน้ำมัน กากปาล์ม กากถั่วเขียว เป็นต้น (สุกัญญา,2539)

5.2 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทที่ให้แร่ธาตุสูง ได้แก่ กระดูกป่น ไดแคลเซียมฟอสเฟต หินฝุ่นและเปลือกหอย เกลือ เป็นต้น (สุกัญญา,2539)

5.3 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทที่ให้โปรตีนสูง ได้แก่ ถั่วเหลือง กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากเมล็ดนุ่น กากเมล็ดยางพารา ส่าเหล้า ใบกระถินป่น กากถั่วเขียว กากเมล็ดงา กากเมล็ดทานตะวัน ปลาป่น แกลบกุ้ง เนื้อและกระดูกป่น ขนไก่ป่น เป็นต้น

การย่อยอาหาร

การย่อยอาหารคือการทำให้อาหารมีขนาดเล็กลงจนเป็นสารละลายและอาหารคายสารอาหารก่อนถูกดูดซึมจากระบบทางเดินอาหาร การย่อยอาหารในสัตว์น้ำประกอบด้วยกระบวนการย่อย 3 กระบวนการคือ การย่อยขนาดของอาหารให้เล็กลงด้วยวิธีกล (mechanical degradation) กระบวนการละลายอาหารด้วยน้ำย่อย (enzyme solubilization) และกระบวนการทำให้อาหารเป็นของเหลวและไขมันแตกตัว(emulsification) (เวียง, 2543)

ตารางที่ 2.1 แสดงการย่อยโปรตีนในอวัยวะทางเดินอาหารโดยเอนไซม์จากแหล่งต่างๆ

อวัยวะและเอนไซม์	การทำงาน
กระเพาะอาหาร	
เปปซิโนเจน	ถูกกรดเกลือกระตุ้นเป็นเปปซิน
เปปซิน	ย่อยสายกรดอะมิโนหรือพันธะเปปไทด์โดยเฉพาะตรงส่วนที่เป็นกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีลหรือไทโรซีน โมเลกุลขนาดเล็กลงเรียกว่า โปรตีเอส
ลำไส้	
ทริปซิโนเจน	ถูกเอนเตอโรไคเนสกระตุ้นเป็นทริปซิน
ทริปซิน	ย่อยสายกรดอะมิโนให้สั้นลงอีก โดยเฉพาะตรงส่วนที่มีกรดอะมิโนไลซีนหรืออาร์จินีน ถูกทริปซินกระตุ้นให้เป็นไคโมทริปซิโนเจน
ไคโมทริปซิโนเจน	ย่อยสายกรดอะมิโนให้สั้นลงอีก โดยเฉพาะตรงส่วนที่มีกรดอะมิโนทริปโตเฟน
ไคโมทริปซิน	เมไทโอนีน ไทโรซีน หรือฟีนิลอะลานีน โมเลกุลของโปรตีนมีขนาดเล็กลงเรียกว่า เปปโตนหรือโพลีเปปไทด์
ผนังลำไส้	
อะมิโนเปปติเดส	ย่อยโพลีเปปไทด์เป็นไตรเปปไทด์ ไดเปปไทด์ และกรดอะมิโน

ตารางที่ 2.2 แสดงการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยเอนไซม์จากแหล่งต่างๆ

แหล่งผลิตเอนไซม์	สิ่งกระตุ้น	ชนิดของเอนไซม์ที่ผลิต	คาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อย	ผลผลิตจากการย่อย
ตับอ่อน	ฮอร์โมนซีครีตินและแพนครีโอซินจากผนังเยื่อเมือกในลำไส้	อะไมเลส	แป้ง ไกลโคเจน	โอลิโกแซคคาไรด์ มอลโตไตรโอส มอลโตส
ลำไส้	ฮอร์โมนเอนเตอโรครินินจากผนังเยื่อเมือกในลำไส้	ซูเครส แลคเตส มอลเตส ไอโซมอลเตส	ซูโครส แลกโตส มอลโตส ไอโซมอลโตส โอลิโกแซคคาไรด์	กลูโคสและฟรุคโตส กลูโคสและกาแลคโตส กลูโคส กลูโคส

ตารางที่ 2.3 แสดงการย่อยไขมันโดยเอนไซม์จากแหล่งต่างๆ

แหล่งผลิตเอนไซม์	ชนิดของน้ำย่อยและเอนไซม์	ผลผลิตจากการย่อย
ตับอ่อน	น้ำดี	ไขมันโมเลกุลเล็กๆ เกิดเป็นสารละลายอิมัลชัน
ตับอ่อนและผนังลำไส้	แพนครีเอติคไลเปสและอินเทสตินัลไลเปส	ไตรกรีเซอไรด์ ไดกรีเซอไรด์ โมโนกรีเซอไรด์ กรีเซอรอล กรดไขมันอิสระ

การวัดการย่อยอาหารและสารอาหาร

อาหารที่ให้สัตว์น้ำกินอาจวัดค่าการย่อยได้ 2 กรณี คือ การวัดอัตราการย่อยอาหาร และการวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

อัตราการย่อยอาหารคือระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยและเคลื่อนย้ายอาหารภายในท่อทางเดินอาหารตั้งแต่ปากจนถึงช่องขับถ่าย ค่าอัตราการย่อยอาหารมีวิธีการวัดหลายวิธี แต่ค่านี้บอกให้ทราบว่าอาหารถูกย่อยเร็วหรือช้าเท่านั้น

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารเป็นการวัดความสามารถในการย่อยอาหารหรือสารอาหารของสัตว์น้ำว่าย่อยได้มากน้อยเพียงใด ในการวัดประสิทธิภาพการย่อย ถ้าทราบปริมาณของอาหารส่วนที่ไม่ถูกย่อยแล้วนำไปหาผลต่างจากปริมาณของอาหารที่สัตว์น้ำกิน ผลต่างที่ได้จะเป็นปริมาณของอาหารส่วนที่ถูกย่อยหรือส่วนที่ย่อยได้ อาหารส่วนที่ไม่ถูกย่อยหรือเหลือจากการย่อยถูกขับถ่ายออกมาเป็นมูล (เวียง, 2543)

Ribeiro *et at*, 1999 ศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารของลูกปลา sole ระยะวัยอ่อน ที่เลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิต จากแรกเกิดจนถึงระยะ 1 เดือน นำลูกปลาอายุ 21 วันมาบดทั้งตัว แต่ปลาอายุมากกว่านี้ตัดเฉพาะส่วนตับอ่อนและส่วนของลำไส้ พบว่าลูกปลาอายุ 2 ถึง 18 วันมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทั้งในตับอ่อนและลำไส้ แสดงให้เห็นถึงพัฒนาการของลูกปลา โดยกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นในระยะ 10 วันแรกหลังจากเกิด หลังจากนั้นกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะลดลง

การประเมินคุณค่าทางอาหาร

การประเมินคุณค่าทางอาหารมีจุดมุ่งหมายเพื่อทราบประสิทธิภาพของอาหารต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำที่เลี้ยงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อาหารซึ่งมีประสิทธิภาพสูง นอกจากนั้นยังมีประโยชน์ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารแต่ละชนิดอีกด้วย ในการประเมินคุณค่าของอาหารจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลเกี่ยงกับปริมาณและคุณภาพของสารอาหารกับข้อมูลเกี่ยวกับการพัฒนาการของร่างกายสัตว์น้ำที่เกิดจากการทดลองเลี้ยง (เวียง, 2543)

การย่อยอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ประสิทธิภาพการย่อยอาหารจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้มากน้อยเพียงใดขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารนั้น นอกจากนี้ยังขึ้นกับความสามารถในการย่อยอาหารของสัตว์แต่ละชนิดด้วย

ตารางที่ 2.4 แสดงการย่อยอาหารและประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาชนิดต่างๆที่ให้กินอาหารที่มีโปรตีนจากแหล่งต่างๆ

แหล่งโปรตีน	ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร(เปอร์เซ็นต์)	แหล่งอ้างอิง
ปลาคาร์พ (common carp)		
ปลาป่น	95	Shirota (1989)
เคซีน	98.6	Yang (1974a)
ถั่วเหลือง	81	Yang(1988)
ข้าวโพด	66	ditto
แป้งวีท	64-84	ditto
ถั่วลิสงอัดแผ่น	85	ditto
ปลาคาร์พ (grass carp)		
ปลาป่น	86.1	Liao (1988)
ปลาป่น	90.8	Law (1986)
ถั่วเหลืองอัดแผ่น	96.2	Law (1986)
ถั่วเหลืองอัดแผ่น	95.5	Yang(1988)
ถั่วลิสงอัดแผ่น	92	Yang(1988)
ข้าวโพด	50.6	Law (1986)
ปลานิล (*Oreochromis niloticus*)		
ปลาป่น	78.2	Liao(1988)
ถั่วเขียวอัดแผ่น	76.0	ditto
รำข้าว	62.2	ditto

แหล่งที่มา : Song,1994

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วันเพ็ญ และ กาญจนา 2547 ศึกษาการเลี้ยงปลาทองสายพันธุ์รันชูด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูไลนาในปริมาณ 0, 8, 10, 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาความเข้มของสีปลาโดยวิธีการเทียบสีของ Roach ของ Yolk Color Fan เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่าปลารันชูที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูไลนาเป็นส่วนผสมจะมีสีเข้ากว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีสาหร่ายเป็นส่วนผสม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณของสาหร่ายเป็นส่วนผสมในปริมาณ 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์จะมีความเข้มของสีมากที่สุดแต่อาหารทดลองที่มีส่วนผสมของสาหร่ายในปริมาณแตกต่างกันนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงว่าสาหร่ายสไปรูไลนานอกจากจะใช้เป็นแหล่งโปรตีนแล้วยังเป็นแหล่งรงควัตถุในการปรับปรุงสีของปลารันชูด้วย

ปิยาลัย และคณะ, 2547 ทดลองใช้สาหร่ายสไปรูไลนาผสมในอาหารลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) ในอัตราส่วน 0, 0.5 เปอร์เซ็นต์, 1 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในการอนุบาลลูกกุ้งระยะโพสท์ลาร์วา 10 ปีนเวลา 10 วัน พบว่าลูกกุ้งแชบ๊วยมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูไลนาผสม 1เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุมและชุดที่ผสมสาหร่ายสไปรูไลนา 0.5 เปอร์เซ็นต์ แต่ลูกกุ้งชุดควบคุมมีความยาวมากกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูไลนาทุกสูตร

Amerio *et al*, 1991 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและกากถั่วเหลืองไม่สกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นในปลา European seabass (*Dicentrachus labrax*)ขนาด 169 กรัม ในระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ และ 28 เปอร์เซ็นต์ และในอาหารทุกสูตรเสริม methionine 0.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่กินอาหารที่มีปลาป่นไม่สกัดน้ำมันมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาที่กินอาหารที่ควบคุม (ไม่มีกากถั่วเหลือง) ส่วนปลาที่กินอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าปลาที่กินอาหารควบคุม

Boonyaratpalin *et al*, 1998 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน กากถั่วเหลืองไม่สกัดน้ำมัน กากถั่วเหลืองอบ และกากถั่วเหลืองแช่น้ำทดแทนปลาป่นในปลา Asian seabass (*Lates calcarifer)* ในระดับ 37.5เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน มีการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากอาหารที่ไม่ได้ทดแทนปลาป่น ปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองไม่สกัดน้ำมันและกากถั่วเหลืองอบ มีการเจริญเติบโต 83.7เปอร์เซ็นต์ และ 83.3เปอร์เซ็นต์ ของปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้ทดแทนปลาป่น ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองแช่น้ำมีการเจริญเติบโตไม่ดี

Chong *et al*, 2002 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ การย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ของปลาปอมปาดัวโดยวิธีทดลองกับสัตว์และทดลองในห้องปฏิบัติการ (digestion method) ผลกสนทดลองพบว่าวิธีการทดลองกับสัตว์ ปลาปอมปาดัวย่อยปลาป่นได้

78.15เปอร์เซ็นต์ ย่อยโปรตีนในปลาป่นได้ 91.18เปอร์เซ็นต์ วิธีทดลองในห้องปฏิบัติการ ปลาปอมปาดัวย่อยปลาป่นได้ 67.22-87.52 เปอร์เซ็นต์ และย่อยโปรตีนในปลาป่นได้ 76.8-88.0 เปอร์เซ็นต์ โดยย่อยโปรตีนในเคซีน>ปลาป่น>กากถั่งเหลือง>หัวใจสัตว์> อวัยวะสัตว์ปีกที่เหลือใช้> แป้งวีท

Day and Gonzalez, 2000 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลาTurbot (*Scopthaimus maximus*) ในระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ 25 เปอร์เซ็นต์ 50 เปอร์เซ็นต์ 75 เปอร์เซ็นต์ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อน้ำหนักสิ้นสุดการทดลองและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทุกระดับมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารไม่แตกต่างกัน

Degani *et al*, 1997 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิล(*Oreochromis aureus* ×*O. nilitocus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปประกอบด้วยแหล่งโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารมาตรฐาน 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลานิลย่อยโปรตีนจากปลาป่นได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ย่อยถั่วเหลืองได้ 95 เปอร์เซ็นต์

El-sayed 1994 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองเอาเปลือกออก กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและกากถั่วเหลืองอบทดแทนปลาป่นเป็นระยะเวลา 60 วัน ในปลา Silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) ในระดับ 0เปอร์เซ็นต์ 25เปอร์เซ็นต์ 50เปอร์เซ็นต์ 75เปอร์เซ็นต์ และ 100เปอร์เซ็นต์ และอาหารทุกสูตรเสริม methionine พบว่า ปลา Silver seabream ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหารไม่แตกต่างจากปลาป่น

Gomes, *et..al*, 1995 ได้ทดลองใช้ rape seed, pea, กากถั่วเหลืองอบ, Colozapro, maize gluten full-fat micronized soybean เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชในอาหารสำเร็จรูป พบว่าปลา เรนโบว์เทร้า สามารถกินอาหารที่มีแหล่งวัตถุดิบจากพืชได้ถึง 66 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต

Hossain *et al*, 1997 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาจีน Rohu (*Labeo rohita*) พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนปลาป่นเท่ากับ 80.23เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการย่อยถั่วเหลืองเท่ากับ 86.6 เปอร์เซ็นต์

Kikuchi, 1999 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลา Japanese flounder (*Paralicthys olivaceus*) สามารถทดแทนปลาป่นได้ถึง 45เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเสริมกรดอะมิโนในอาหารจะสามารถทดแทนปลาป่นได้ 50เปอร์เซ็นต์

Lanari *et al*, 1998 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและกากถั่วเหลืองไม่สกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นในปลา European seabass (*Dicentrachus labrax*) ขนาด 100 กรัม พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง ถึง 25เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้ทดแทนปลาป่น นอกจากนี้ปลามีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างจากปลาป่น

Lusas and Rhu, 1995 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลา Atlantic halibut (*Hippoglosus hippoglosus*) พบว่าที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองในระดับ 28เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีโปรตีน 44 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและไขมันไม่แตกต่างจากปลาป่น

Mustafa and Nakagawa, 1995 รายงานว่าสาหร่ายที่มีรายงานการศึกษาเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีน ได้แก่ *Ulva pertusa*, *Ascophyllum nodos,* และ *Porphyra yezoensis* การใส่สาหร่ายในอาหารเพียง 3-5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การดูดซับสารอาหารช้าลง มีผลให้สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนเพิ่มขึ้น

McGoogan และ Reigh, 1996 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ของปลา Red drum (*Sciaenops ecellatus*) ในเลือดป่น ข้าวโพดป่น เมล็ดฝ้าย ข้าวฟ่าง เนื้อและกระดูกป่น ปลาเมนฮาเดนป่น (Menhaden meal) รำข้าว กากถั่วเหลือง พบว่าปลามีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบอาหารสัตว์ทุกชนิดอยู่ในช่วง 74-100 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงที่สุดในอาหารสัตว์ที่มีองค์ประกอบโปรตีนสูง (> 60เปอร์เซ็นต์) และมีปริมาณไฟเบอร์ต่ำ (<2 เปอร์เซ็นต์) มีประสิทธิภาพการย่อยพลังงานค่อนข้างต่ำในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นสัตว์ (54-60 เปอร์เซ็นต์) แต่มีประสิทธิภาพการย่อยพลังงานในวัตถุดิบอาหารที่เป็นพืชต่ำกว่า (12-52เปอร์เซ็นต์) โดยปลา Red drumมีประสิทธิภาพการย่อยปลาป่น โปรตีนและพลังงานในปลาป่น เท่ากับ 76.79 เปอร์เซ็นต์, 95.87เปอร์เซ็นต์ และ 60.14 เปอร์เซ็นต์

Nengas *et al*, 1996 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลา Gillhead seabass (*Sparus aurata*) พบว่า ปลาสามารถใช้กากถั่วเหลืองได้ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างจากปลาป่น

Robaina *et al*, 1995 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลา Gillhead seabass (*Sparus aurata*) เป็นระยะเวลา 60 วัน ในระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ 10 เปอร์เซ็นต์ 20 เปอร์เซ็นต์ และ30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารถึงระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาป่น แต่ที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารที่ระดับ10-20เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากปลาป่น

Shian *et al*, 1988 ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ 33 เปอร์เซ็นต์ 67 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในอาหารปลา Milkfish (*Chanos chanos*) ขนาด 4 กรัม ที่มีโปรตีน 30เปอร์เซ็นต์ และ 40เปอร์เซ็นต์ และในอาหารทุกสูตรเสริม methionine พบว่าปลาที่กินอาหารที่มีกากถั่วเหลืองมากกว่า 33 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง (feed efficiency) ในอาหารที่มีโปรตีนทั้งสองระดับ

Sullivan และ Reigh, 1995 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ของปลา hybrid striped bass (*Morone saxatilis* female x *M. Chrysops male*) ประกอบด้วยปลาเมนฮาเดนป่น (menhaden meai) เนื้อและกระดูกป่น เลือดป่น และวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืช พบว่าปลา hybrid

striped bass ย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ทุกชนิดอยู่ในช่วง 71-93 เปอร์เซ็นต์ ย่อยปลาป่น โปรตีนและพลังงานในปลาป่นได้ 83.74เปอร์เซ็นต์, 88.23 เปอร์เซ็นต์และ 86.56 เปอร์เซ็นต์

Tulli *et al*, 2000 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในปลา Asian seabass (*Lates calcarifer*) ขนาด 11.7 กรัม เป็นระยะเวลา 90 วัน ในระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ 20 เปอร์เซ็นต์ 40 เปอร์เซ็นต์ 60 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาสามารถย่อยกากถั่วเหลืองที่ใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และปัจจัยอื่นๆ แต่มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน(88.9เปอร์เซ็นต์)และไขมัน(69.3เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่าในอาหารที่มีปลาป่นอย่างเดียว (97.3เปอร์เซ็นต์)

Watanabe *et al*, 1992 ; Viyakarn *et al*, 1992 ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นในปลาYellowtail (*Seriola quinquerdiata*) ในระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ 10 เปอร์เซ็นต์ 20 เปอร์เซ็นต์ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับสูตรอาหารถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างในการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารจากปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้ทดแทนปลาป่น แต่ถ้าปลาได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง แต่ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทุกระดับมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้ทดแทนปลาป่น

Wikerson, 1998 รายงานว่า ความต้องการปริมาณโปรตีนสำหรับปลาการ์ตูนที่แท้จริงนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาหารที่ใช้กับปลาการ์ตูนของ Instant Ocean hatchery มีโปรตีน 50-60 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมัน 5-15เปอร์เซ็นต์ แหล่งอาหารธรรมชาติ ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ลูกกุ้ง เคย อาหารมีชีวิต ได้แก่ อาร์ทีเมีย ตัวอ่อนแมลง อาหารสดและอาหารแช่แข็ง ได้แก่ กุ้ง หอยลาย เป็นต้น

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีดำเนินการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต
Automatic pipette	Gilson, France
Dialyzer tubing	Spectrum, USA.
Drying oven	Yamato, Japan
pH meter	Metter Toledo, Switzerland
UV-visible spectrometer, UV300	Unicam, United Kingdom
Deep Freezer, -40°C	
ตู้อบ (Hot air oven)	Yamato, Japan
เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน (Kjeltec System)	Kjeltec System 1002, Tecator,Sweden
หลอดย่อยสลายตัวอย่าง	Tecator,Sweden
ชุดย่อยสลายตัวอย่าง	Tecator,Sweden
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง(analytical balance)	A&D, Japan
Shaker	-
Centrifuge, high speed refrigerated	
Cuvette	
Freeze Dryer	
Thimble	
Magnetic stirrer	
Magnetic	
Ice box	
Pasteur pipette	
เครื่องทำความเย็น	
ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet)	
เตาเผา (Muffle Fernance)	
โหลดูดความชื้น(Desiccators)	
ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)	
ที่บดต่อมใต้สมองปลา	
กระดาษฟอล์ย	
กรรไกรผ่าตัด	

นาฬิกาจับเวลา

ตู้เย็น

เครื่องแก้วต่างๆ เช่น ขวดสารเคมี ฟลาสก์ ไปเปต บิวเร็ต บีกเกอร์ กระบอกตวง และหลอดทดลอง เป็นต้น

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีวิเคราะห์โปรตีน	บริษัทผู้ผลิต
Bovine serum albumin	Sigma, USA.
Commassie brilliant blue G-250	Merk, Germany
1.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ เอนไซม์ แอคติวิตี้	บริษัทผู้ผลิต
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	BDH, England
Benzoeyl-L-arginine-p-nitroaniline	Merk, Germany
0.1 mM N-succunyl-ala-ala-pro-phe-p-nitroaniline	Merk, Germany
5%Dimethylformamide	Merk, Germany
1.2.3 สารเคมีวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร	บริษัทผู้ผลิต
Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)	Merk, Germany
DL-alanine	Merk, Germany
P-nitroanililine	Merk, Germany
0.2%Chloramphenical	Merk, Germany
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4 . H_2O$)	BDH, England
โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 . 2H_2O$)	BDH, England
1.2.4 สารเคมีวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร	บริษัทผู้ผลิต
ปิโตเลียม อีเทอร์	Labscan, England
กรดซัลฟุริค	Merk, Germany
กรดไฮโดรคลอริค	BDH, England
โซเดียมไฮดรอกไซด์	Merk, Germany
Kjeltab	FOSS, Sweden
เมทธิลเรด	Merk, Germany
โบรโมกรีซอลกรีน	Merk, Germany
โซเดียมคาร์บอเนต	Merk, Germany
กรดบอริก	Merk, Germany
อะซิโตน	Merk, Germany

1.3 วัตถุดิบอาหารได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน สาหร่ายสไปรูไลนา สาหร่ายใบเฟิร์น น้ำมันปลา อัลจีเนท วิตามิน และแร่ธาตุ

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมอาหารสำเร็จรูป นำวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดไปวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (proximate analysis) และ นำมาคำนวณปริมาณที่ใช้ด้วยโปรแกรม Microsoft excel ให้อาหารทุกสูตรมีปริมาณโปรตีน63-64 เปอร์เซ็นต์ โดยมีพลังงานที่ย่อยได้ของอาหารทุกสูตรมากกว่า 350 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 100 กรัม เติมน้ำลงไปในอัตราส่วน1:0.75 ผสมวัตถุดิบอาหารตามสูตร นำไปอัดเม็ดผ่านผ้าไนล่อนขนาดตาข่ายประมาณ 2 ม.ม. นำอาหารที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บไว้ในโหลดูดความชื้นเพื่อใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 3.1 ชนิดและปริมาณวัตถุดิบอาหารในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

อาหารสำเร็จรูป / วัตถุดิบอาหารสัตว์	สูตรที่1	สูตรที่2	สูตรที่3	สูตรที่4	สูตรที่5
ปลาป่น	88	72	80	84	79
กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน	-	10	10	-	-
สาหร่ายสไปรูไลนา	-	10	-	-	10
สาหร่ายใบเฟิร์น	-	-	-	10	-
น้ำมันปลาเมนฮาเดน	3	3	3	3	3
อัลจีเนท	7	3	5	1	6
วิตามิน*	1	1	1	1	1
แร่ธาตุ*	1	1	1	1	1

** อะความิน ส่วนประกอบสำคัญใน 1 กก. ประกอบด้วย แมงกานีส 5.07 กรัม เหล็ก 6.00 กรัม สังกะสี 10.64 กรัม ทองแดง 1.00 กรัม โคบอลต์ 0.03 กรัม ไอโอดีน 0.023 กรัม ฟอสฟอรัส 27.00 กรัม แคลเซี่ยม 234.00กรัม

* ซริมพ์มิกซ์ ส่วนประกอบสำคัญใน 1 กก. ประกอบด้วย วิตามินเอ 3,400,000 IU วิตามินดี3 800,000 IU วิตามินบี2 700 มก. วิตามินบี6 440 มก. วิตามินซี 3,400 มก. วิตามินบี12 2 มก. วิตามินอี 2,000 มก. ไนอะซิน 3,600 มก. วิตามินเค 340 มก. วิตามินบี1, 200 มก. กรดแพนโททีนิค 2,000 มก. กรดโฟลิค 140 มก. แมกนีเซี่ยม 1,380 มก. โปแตสเซียม 2,130 มก. โซเดียม 5,760 มก. คลอไรด์ 10,610 มก. ไบโอติน 4.2 มก.

2.2 การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ได้แก่ ปริมาณโปรตีน (micro-Kjeldahl) ไขมัน (Ether extract) ไฟเบอร์ (acid-alkali digestion) เถ้า (muffle furnance combustion) และ ความชื้น (hot air oven) ในวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิด และในอาหารสำเร็จรูป ตามวิธี AOAC,1990 วิเคราะห์กรดอะมิโน ตามวิธี Waters AccQ• Tag Instruction Manual, 1993 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ (NFE) และพลังงานที่ย่อยได้ (digestible energy, DE) คำนวณตามวิธี NRC, 1993 ดังนี้

2.2.1 การวิเคราะห์โปรตีน

<u>ขั้นตอนการย่อย</u>

-ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในหลอดย่อย

-ใส่Kjeltab 2 เม็ด (K_2SO_4: $CuSO_4$) ใส่ลูกแก้ว 2-3 เม็ด เพื่อป้องกันการเดือดรุนแรง

-เติม กรดซัลฟุริคเข้มข้น ประมาณ 15 มิลลิลิตร

-ตั้งหลอดย่อยบนStand ปิดฝาครอบหลอด สวม Exhaust Manifold ลงที่ส่วนบนของหลอดย่อย เปิดสวิทช์ของ Exhaust

-ใส่ Stand พร้อมหลอดและ Exhaust ลงในเครื่องย่อยที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่420 °C

-ตั้งอัตราการไหลของอากาศของ Exhaust Manifold เต็มที่ ย่อยเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นลดอัตราการดูดอากาศลงเพื่อให้ไอกรดไหลวนเวียนอยู่ในระบบ ย่อยต่อจนกระทั่งได้สารละลายใส

-ยกStand พร้อมหลอด และ Exhaust มาตั้ง ทิ้งไว้ให้เย็น

<u>ขั้นตอนการกลั่น</u>

-เปิดก๊อกน้ำหล่อเย็นที่เครื่องกลั่น และ เปิดสวิทช์เครื่องกลั่น

-ใส่หลอดเปล่าในตำแหน่งรอรับด่าง โยกคันโยกโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ ลงมา2-3 ครั้งให้แน่ใจว่าไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่ในท่อโซเดียมไฮดรอกไซด์

-อุ่นเครื่องโดยใช้ ฟลาสก์เปล่ารองรับและใส่หลอดที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณครึ่งหลอด โดยเปิดให้ไอน้ำกลั่นเป็นเวลาประมาณ 5 นาที

-ปิดวาล์วไอน้ำ นำหลอดและฟลาสก์ออกจากเครื่องกลั่น

-หยด อินดิเคเตอร์(โบรโมกรีซอล กรีนและเมทธิลเรด) จำนวน 3 หยดลงฟลาสที่มี กรดบอริค 4% ปริมาณ 25 มิลลิลิตร นำไปตั้งที่ตำแหน่งและเลื่อนฐานขึ้น ให้ปลายแท่งแก้วจุ่มอยู่ในสารละลาย

-นำหลอดย่อยที่เตรียมไว้มาเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร นำไปวางไว้ในตำแหน่ง ปิดหน้าต่างป้องกันลงมา

-โยกคันโยกโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงมา เปิด Steam ตั้งเวลาที่ใช้ในการกลั่นและดูปริมาตรในฟลาสก์รองรับให้ได้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

-เมื่อกลั่นเสร็จแล้ว ปิด Steam เลื่อนหน้าต่างป้องกันขึ้น ถอดหลอดย่อยออกและนำฟลาสมาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริค จนได้สารละลายสีส้มแดง (จุดยุติ)

$$\%N = \frac{14.01 \times \text{ความเข้มข้นHCL} \times (\text{ปริมาตรHCLไตเตรทตัวอย่าง} - \text{ปริมาตรHCLไตเตรทBlank})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)} \times 10}$$

$$\%P = \%N \times 6.25$$

2.2.2 การหาปริมาณไขมัน

- อบฟลาสก์ก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ 110 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก นำไปอบอีกและชั่งน้ำหนักจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่
- ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) ใส่ลงในกระดาษกรอง พับกระดาษกรองใส่ในThimble และ ใส่ Thimble ลงในExtraction Tube
- ใส่ฟลาสก์ก้นกลมลงในเตาหลุม เปิดสวิชท์ไฟตั้งอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 40-60 °C และเปิดก๊อกน้ำหล่อเย็น ทำการสกัดโดยใช้ Petroleum Ether
- สกัดตัวอย่างเป็นเวลา 36 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งตัวอย่างใส นำเอาฟลาสก์ก้นกลมที่บรรจุ Petroleum Ether ออกมาระเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Evaporator และนำไปอบที่ 110 °C เป็นระยะเวลาครึ่งชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดโความชื้น
- ชั่งน้ำหนักฟลาสก์และไขมัน น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักไขมัน

$$\%\text{ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2.2.3 การหาปริมาณไฟเบอร์

- ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้วประมาณ 2 กรัม ใส่ในฟลาสก์ก้นกลม
- เติมกรดซัลฟุริค 1.25 % ลงในบีกเกอร์ 200 มล. ต้มให้เดือด 30 นาที
- กรองสารละลายที่ต้มเดือดด้วยผ้ากรองที่มีขนาด 100 ไมครอน ล้างส่วนที่เหลือด้วยน้ำร้อน
- นำตัวอย่างที่อยู่บนผ้ากรองใส่กลับในฟลาสก์เดิม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25% ลงไป 200 มล. ต้มให้เดือด 30 นาที
- กรองสารละลายที่ต้มเดือดด้วยผ้ากรองที่มีขนาด 100 ไมครอน ล้างส่วนที่เหลือด้วยน้ำร้อนและอะซิโตน
- ใส่ตัวอย่างที่เหลือบนผ้ากรองลงในกระเบื้องที่ผ่านการชั่งน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และใส่ในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก
- เผาตัวอย่างในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักและคำนวณดังนี้

$$\%\ \text{ไฟเบอร์} = \frac{(\text{น.น.ตัวอย่างหลังอบ-น.น. เถ้า})}{\text{น.น.ตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

2.2.4 การหาปริมาณเถ้า

- อบถ้วยกระเบื้องที่สะอาดอุณหภูมิ 180 °C ชั่งน้ำหนัก นำไปอบอีกและชั่งน้ำหนักจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

- ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแน่นอน)ใส่ในถ้วยกระเบื้องที่อบแล้ว นำไปเผาที่ อุณหภูมิ 500 °C 12 ช.ม.

-ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักเถ้า

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2.2.5 การหาปริมาณความชื้น

-อบถ้วยกระเบื้องที่อุณหภูมิ 135 °C เวลา 2 ชั่วโมงปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก นำไปอบอีกและชั่วน้ำหนักจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

-ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม(น้ำหนักแน่นอน) ใส่ถ้วยกระเบื้องที่อบไว้ นำไปอบที่อุณหภูมิ 135 °C ประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในโหลดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2.2.6 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

% คาร์โบไฮเดรต(NFE) = 100- %โปรตีน -%ไขมัน- %เถ้า-%ไฟเบอร์

2.5.7 การคำนวณพลังงานที่ย่อยได้ (DE)

DE (กิโลแคลอรี/100 กรัมอาหาร)= (%โปรตีนx 3.5)+(%ไขมันx8.1)+(%NFEx2.5)

ตารางที่ 3.2 คุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

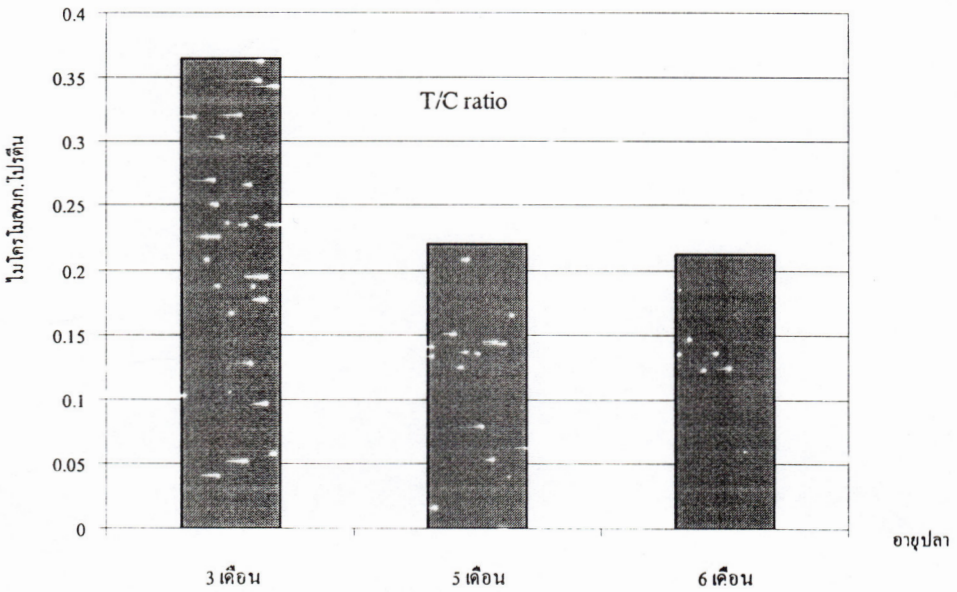
อาหารสำเร็จรูป / คุณค่าทางอาหาร	อาหารสูตรที่1	อาหารสูตรที่2	อาหารสูตรที่3	อาหารสูตรที่4	อาหารสูตรที่5
โปรตีน	63.43	63.31	63.66	62.59	64.10
ไขมัน	14.06	12.05	14.09	13.10	13.01
ไฟเบอร์	0.18	0.66	0.51	0.13	0.05
เถ้า	12.84	11.43	11.33	13.33	10.70
NFE	9.49	12.55	10.40	10.85	12.13
DE (กิโลแคลอรี/100 กรัมอาหาร)	359.62	350.57	362.94	352.30	360.06

ผลการทดลอง

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*)

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลามีความเกี่ยวข้องกับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์หลักในลำไส้ที่ย่อยโปรตีนได้แก่ เอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน ปลาย่อยอาหารได้มีประสิทธิภาพต้องมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดี ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินแตกต่างกัน ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)อายุ 3 เดือน มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินเท่ากับ 27.60 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม., 78.37 ไมโครโมล p-nitroaniline/มก.โปรตีน ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)อายุ 5 เดือนมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินเท่ากับ 41.80 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม.,156.56 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน และปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)อายุ 6 เดือนมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินเท่ากับ 11.80 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม., 34.89 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน (ตารางที่ 4.1,ภาพที่ 4.1)

ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือนมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินเท่ากับ 75.40 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม.,215.95 ไมโครโมล p-nitroaniline/มก.โปรตีน ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)อายุ 5 เดือนมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินเท่ากับ 187.50 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม., 715.66 ไมโครโมล p-nitroaniline/มก.โปรตีน และปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)อายุ 6 เดือนมีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินเท่ากับ 55.80 ไมโครโมล p-nitroaniline/มล./ชม., 160.37 ไมโครโมล p-nitroaniline / มก.โปรตีน (ตารางที่ 4.1,ภาพที่ 4.1)



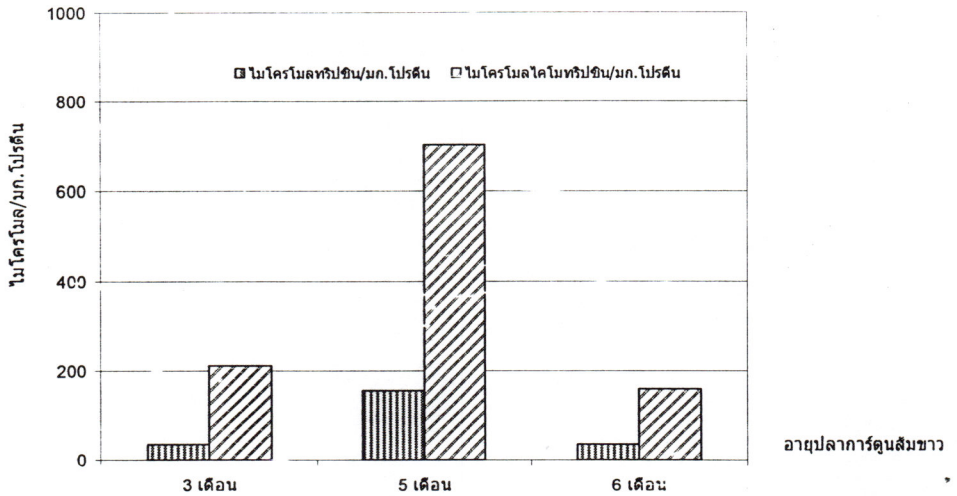
ภาพที่ 4.1 กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซิน(ไมโครโมล//มก.โปรตีน) ของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือนและ 6 เดือน

ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) มีอัตราส่วนกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน (T/C ratio) แตกต่างกัน ปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 3 เดือนมีอัตราส่วนกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินเท่ากับ 0.37 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน ปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 5 เดือนมีอัตราส่วนการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินเท่ากับ 0.22 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน และปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 6 เดือนมีอัตราส่วนกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินเท่ากับ 0.21 ไมโครโมล p-nitroaniline / มก.โปรตีน (ตารางที่ 4.1,ภาพที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณโปรตีน (มก./มล.) ปริมาณและอัตราส่วนเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน (μmol *p*-nitroaniline /mg โปรตีน, μmol *p*-nitroaniline /ml/h. ของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)

อายุ (เดือน)	โปรตีน (mg/ml)	ทริปซิน (μmol p-nitroaniline /ml/h.)	ไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline /ml/h.)	ทริปซิน (μmol p-nitroaniline /mg protein)	ไคโมทริปซิน (μmol p-nitroaniline /mg protein)	T/C ratio
3 เดือน	0.35±0.14	27.60±2.51	75.40±1.22	78.37±3.65	215.95±3.0	0.37
5 เดือน	0.27±0.07	41.80±2.24	187.50±2.69	156.56±4.09	715.66±5.94	0.22
6 เดือน	0.35±0.16	11.80±1.35	55.80±1.82	34.09±2.58	160.37±3.32	0.21

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย+SE, T/C = ทริปซิน/ไคโมทริปซิน



ภาพที่ 4.2 อัตราส่วนกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน(ไมโครโมล/ / มก.โปรตีน)ในปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน

ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปด้วยเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากระบบทางเดินอาหารและผลิต DL alanine ออกมาหลังจากย่อยอาหารสำเร็จรูปทั้ง 5 สูตรในระยะเวลา 24 ชั่วโมงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) แต่มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชทดแทนปลาป่นได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสูตรที่ 1(ปลาป่น) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(P>0.05) จากประสิทธิภาพการย่อยอาหารสูตรอื่นๆทุกสูตร (ตารางที่ 4.2) แต่ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) มีประสิทธิภาพการย่อยอาหาร สูตรที่ 2 (กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันทดแทนปลาป่น10 % และสาหร่ายสไปรูไลนาทดแทนปลาป่น 10%) สูตรที่ 3 (กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันทดแทนปลาป่น10%) และ สูตรที่5 (สาหร่ายสไปรูไลนาทดแทนปลาป่น 10%) แตกต่างจากสูตรที่ 4 (สาหร่ายใบเฟิร์น, *Caulerpa* sp.) อย่างมีนัยสำคัญ(P<0.05)

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพการย่อยอาหารด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบทางเดินอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)ในอาหารสำเร็จรูป 5 ชนิด (μmol DL alanine/ 100μg อาหาร)

อาหารสำเร็จรูป / อายุปลาการ์ตูน	อาหาร สูตรที่1	อาหาร สูตรที่2	อาหาร สูตรที่3	อาหาร สูตรที่4	อาหาร สูตรที่5
3 เดือน	0.45±0.49 [ab]	0.45±0.38 [b]	0.56±0.42 [b]	0.34±0.33 [a]	0.54±0.25 [b]
5 เดือน	0.45±0.46 [ab]	0.54±0.49 [b]	0.52±.38 [b]	0.38±0.41 [a]	0.41±0.35 [b]
6 เดือน	0.46±0.42 [ab]	0.49±.31 [b]	0.52±.26 [b]	0.28±0.34 [a]	0.51±0.32 [b]

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย± SE ตัวอักษรอังกฤษที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P0.<05)

อาหารสูตรที่1 ประกอบด้วยปลาป่น 80% กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันอบแห้ง 10% น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10% อัลจีเนท 5% วิตามินและแร่ธาตุ 2%

อาหารสูตรที่ 2 ประกอบด้วยปลาป่น 72% กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันอบแห้ง 10% สาหร่ายสไปรูไลน่า 10% น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10% อัลจีเนท 3% วิตามินและแร่ธาตุ 2%

อาหารสูตรที่3 ประกอบด้วยปลาป่น 88น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10% อัลจีเนท 7% น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10%วิตามินและแร่ธาตุ 2%

อาหารสูตรที่4 ประกอบด้วยปลาป่น 84% สาหร่ายใบเฟิร์น (*Caulerpa* sp.) 10% น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10 %อัลจีเนท1%วิตามินและแร่ธาตุ 2%

อาหารสูตรที่ 5 ประกอบด้วยปลาป่น 79% สาหร่ายสไปรูไลน่า10% น้ำมันปลาเมนฮาเดน 10% อัลจีเนท 6% วิตามินและแร่ธาตุ 2%

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*)

ปลาสามารถย่อยอาหารได้มากน้อยเพียงใดขึ้นกับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ สำหรับในการทดลองครั้งนี้ ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 5 เดือน มีปริมาณเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินสูงสุดเท่ากับ 156.56 และ 715.66 ไมโครโมล p-nitroaniline/มก.โปรตีน และปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 6 เดือนมีปริมาณเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์ไคโมทริปซินน้อยที่สุดเท่ากับ 34.89 และ 160.37ไมโครโมล p-nitroaniline/มก.โปรตีน (ตารางที่ 4.1, ภาพที่4.1) กฤษณา-Torrisen, 2003 รายงานความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินต่อระยะการเจริญเติบโตของปลา ปลาในระยะอดอาหาร (reduced growth rate) เอนไซม์ทริปซินจะลดลงแต่ไคโมทริปซินเพิ่มขึ้น ปลาในระยะการปรับตัว (limited growth rate) เอนไซม์ทริปซินไม่เปลี่ยนแปลงแต่ไคโมทริปซินเพิ่มขึ้น ปลาในระยะการเจริญเติบโตช้า (slow growth rate) เอนไซม์ทริปซินเพิ่มขึ้นแต่ไคโมทริป ซิน ลดลง ปลาในระยะการเจริญเติบโตรวดเร็ว (high growth rate) เอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินเพิ่มขึ้น ปลาในระยะการเจริญเติบโตหลังจากระยะการเจริญเติบโตรวดเร็ว (growth reduction after high growth) เอนไซม์ทริปซินลดลง แต่ไคโมทริปซินเพิ่มขึ้น และปลาในระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stable gtowth rate) เอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินลดลง จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณทริปซินและไคโมทริปซินของปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 3 เดือนเพิ่มขึ้นถึงอายุ 5 เดือน และมีปริมาณทริปซินและไคโมทริปซินลดลงเมื่ออายุ 6 เดือน สรุปว่าปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุระหว่าง 3 เดือนถึง 5 เดือนมีการเจริญเติบโตรวดเร็วและการเจริญเติบโตช้าลงหรือมีการเจริญเติบโตคงที่หลังจากปลามีอายุหลังจาก 5 เดือน ซึ่งการเจริญเติบโตของปลาโดยทั่วไป ปลาอายุน้อยจะมีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่าปลาขนาดใหญ่ (เวียง, 2543 วีระพงศ์, 2537)

จากการศึกษาครั้งนี้ ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือนมีอัตราส่วนของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินสูงกว่าปลาการ์ตูนอายุ 5 เดือนและ 6 เดือน ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือนมีอัตราส่วนทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินสูงสุดเท่ากับ 0.36 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน ปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 5 เดือน และ 6 เดือนมีอัตราส่วนทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินสูงสุดใกล้เคียงกัน เท่ากับ 0.22 และ 0.21 ไมโครโมล p-nitroaniline /มก.โปรตีน (ภาพที่ 4.2) กฤษณา-Torrisen, 2003 รายงานว่าปลาที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตรวดเร็วจะมีอัตราส่วนการทำงานของเอนไซม์ทริปซินต่อเอนไซม์ไคโมทริปซินสูงกว่าปลาที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตช้าหรือไม่มีการเจริญเติบโต ซึ่งอัตราส่วนการทำงานระหว่างเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินต่อการเจริญเติบโตของปลาจะลดลงเมื่อปลาอยู่ในระยะอดอาหาร (reduced growth) ในระยะการปรับตัว (limited growth rate) ในระยะการเจริญเติบโตหลังจากระยะการเจริญเติบโตรวดเร็ว (growth reduction after high growth) และในระยะการ

เจริญเติบโตคงที่ (stable gtowth rate) แต่อัตราส่วนการทำงานระหว่างเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินเพิ่มขึ้นเมื่อปลาอยู่ในระยะการเจริญเติบโตช้า (slow growth rate) หรือในระยะการเจริญเติบโตรวดเร็ว (high growth rate) สรุปได้ว่าปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) อายุ 3 เดือน มีการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่าปลาอายุ 5 เดือน และ 6 เดือน

ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ทั้ง 3 เดือน มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบทางเดินอาหารและผลิต DL alanine ออกมาหลังจากย่อยอาหารสำเร็จรูปทั้ง 5 สูตรในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) แต่มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชชนิดต่างๆทดแทนปลาป่น 10-20 เปอร์เซ็นต์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) สูตรที่1 (ปลาป่น) เท่ากับ 0.45-0.46 µmol DL-alanine/100µgอาหาร ไม่แตกต่างกับอาหารสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) (ตารางที่ 4.2) c9jปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปสูตรที่ 2 (กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันทดแทนปลาป่น10 เปอร์เซ็นต์ และสาหร่ายสไปรูไลนาทดแทนปลาป่น 10เปอร์เซ็นต์) เท่ากับ 0.49-0.54 µmol DL-alanine /100µgอาหาร สูตรที่ 3 (กากถั่วเหลืองอัดน้ำมันทดแทนปลาป่น10เปอร์เซ็นต์) เท่ากับ 0.52-0.56 µmol DL-alanine /100µgอาหาร และสูตรที่5 (สาหร่าย สไปรูไลนา 10เปอร์เซ็นต์) 0.41-0.54 µmol DL-alanine/100µg อาหาร ซึ่งมีความแตกต่างจากประสิทธิภาพการย่อยอาหารสูตรที่ 4 (สาหร่ายใบเฟิร์น, *Caulerpa* sp. 10 เปอร์เซ็นต์) เท่ากับ 0.28-0.38 µmol DL-alanine /100µgอาหาร อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) จึงสรุปได้ว่าปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*) สามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีวัตถุดิบจากพืชทดแทนปลาป่นชนิดละ 10 เปอร์เซ็นต์ได้ดี ถึงแม้ว่าจะสามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีกากถั่วเหลืองอัดน้ำมันและสาหร่ายสไปรูไลน่าได้ดีกว่าสาหร่ายใบเฟิร์น(*Caulerpa* sp.) แต่ก็ไม่แตกต่างจากการอาหารสำเร็จรูปที่มีปลาป่นอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับ Allen(1972) รายงานองค์ประกอบอาหารในกระเพาะอาหารของปลาการ์ตูนอินเดียนแดง (*Amphiprion perideraion*) พบว่ามีทั้งพืชและสัตว์ในกระเพาะอาหาร

จากผลการทดลองนี้พบว่าปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีวัตถุดิบจากพืชทดแทนปลาป่นคล้ายคลึงกับปลาชนิดอื่นๆ ซึ่งประสิทธิภาพ การย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นกับปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาได้แก่ กรรมวิธีการผลิตวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Chong *et al*, 1982; Johnson and Parsons, 1997; Bureau *et al*, 1999) ดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (Morale *et al*, 1999) ชนิดของสัตว์ วิธีการให้อาหาร(McGoogan and Reigh, 1996, Stone *et al*, 2000) องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ เช่น ปริมาณไฟเบอร์ แป้ง และเถ้า (Falge *et al*, 1978; Spannhof and Plantikow, 1983; Hilton *et al*, 1983; Steffens, 1983; De silva *et al*, 1990; Sullivan and Reigh, 1995 ; Catacutan *et al*, 2003; Kitamikado *et al*, 1964, Takeuchi *et al*, 1979) ปริมาณไขมันในอาหาร(Buddington *et al*,

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Bradford

2.3.1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.02% (Bovine serum Albumin, BSA)

ชั่ง Bovine serum albumin หนัก 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จนได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย 1.0 % BSA ปิเปต สารละลาย 1.0 % BSA ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติม 0.05 โมลาร์ tris buffer saline (TBS) จนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บในอุณหภูมิ 4 °C

2.3.2 การเตรียมสารละลาย Coomassie (Bradford, 1976)

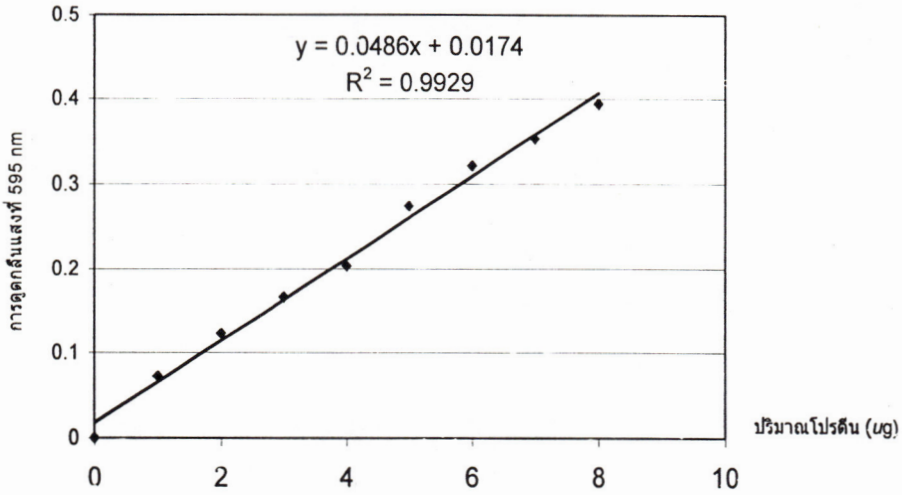
ชั่ง Coomassie Brilliant Blue G-250 หนัก 0.025 กรัม ละลายใน 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสโฟริคความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

2.3.3. การทำกราฟปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 0.02 % BSA ในปริมาตรต่างๆ (ตารางที่3.3) เติม 0.05 โมลาร์ TBS จนได้สารละลายโปรตีนปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Coomassie ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-visible spectrometer, UV300 นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟเทียบกับปริมาณความเข้มข้นโปรตีนที่เติมลงไป จะได้กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ตารางที่ 3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

หลอดที่	0.02%BSA (ไมโครลิตร)	0.05 M. TBS (ไมโครลิตร)	สารละลาย Coomassie (ม.ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง (595 มาโนเมตร)	ปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัม)
Blank	-	500	5.0	0.000	0
1	50	450	5.0	0.0726	10
1	100	400	5.0	0.1231	20
3	150	350	5.0	0.1665	30
4	200	300	5.0	0.2032	40
5	250	250	5.0	0.2743	50
6	300	200	5.0	0.3207	60
7	350	150	5.0	0.3522	70
8	400	100	5.0	0.3938	80



ภาพที่ 3.1 กราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน

2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์

ปิเปตเอนไซม์ 500 ไมโครลิตร และ เติมสารละลาย Coomassie 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible spectormeter, UV300 ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปอ่านปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานและคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ต่อมิลลิลิตร

2.4 การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) (ดัดแปลงวิธี Rungruansak-Torrissen, 2000; Rungruansak-Torrissen *et al*, 2002)

2.4.1 การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินเริ่มต้น

2.4.1.1 การเตรียม Trypsin specific substrate 1.25 mM Benzoeyl-L-arginine-*p*-nitroaniline (BAPNA) ใน 0.2 M Tris- HCl buffer (TBS) pH 8.4 และมี dimethylformamide (DMFM) ความเข้มข้นสุดท้าย 5 %

- การเตรียม 0.2 M Tris- HCl Buffer pH 8.4 ชั่ง Tris (Hydroxymethyl) – aminomethane buffer substrate หนัก 6.0670 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตรจนกระทั่งได้ค่า pH 8.4

-การเตรียม 1.25 mM BAPNA ชั่ง BAPNA หนัก 0.0543 กรัม/dimethylformamide (DMFM) 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายเข้มข้น 125 mM ปิเปตสารละลาย BAPNA 0.1 มิลลิลิตร และ ปิเปต DMFM 0.4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วย TBS 9.5 มิลลิลิตร

-เติม เอนไซม์สกัดจากระบบทางเดินอาหาร (crude enzyme extract) 10 µl ลงในcuvette ที่มี trypsin specific substrate 1 ml

-วัดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินโดยการวัดปริมาณ p-nitroaniline ที่เอนไซม์ผลิตขึ้นในระยะเวลา 60 วินาที ในอุณหภูมิ 40 °C ด้วยเครื่อง UV-visible spectrometerและ เปรียบเทียบผลกับกราฟมาตรฐาน p-nitroaniline ที่ความยาวคลื่น 410 nm.

2.4.2 การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินเริ่มต้น

2.4.2.1 การเตรียม Chymotrypsin specific substrate การเตรียม 0.1 mM N-succunyl-ala-ala-pro-phe-p-nitroaniline ใน 0.2 M Tris-HCl buffer (TBS) pH 8.4 ใน dimethylformamide (DMFM) ความเข้มข้นสุดท้าย 5 %

ชั่ง N-succunyl-ala-ala-pro-phe-p-nitroaniline หนัก 0.025 กรัม/dimethylformamide (DMFM) 1 มิลลิลิตร ได้สารมีความเข้มข้น 40 mM เจือจางด้วย DMFM ให้ได้สารละลาย 4 mM จากนั้นปิเปตสารละลาย 0.25 มิลลิลิตร และ ปิเปต DMFM 0.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วย TBS 9.5 มิลลิลิตร

2.4.2.2 การเตรียม 0.2 M Tris- HCl Buffer pH 8.4

- การเตรียม 0.2 M Tris- HCl Buffer pH 8.4 ชั่ง Tris (Hydroxymethyl) – aminomethane buffer substrate หนัก 6.0670 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตรจนกระทั่งได้ค่า pH 8.4

- เติม เอนไซม์สกัดจากระบบทางเดินอาหาร (crude enzyme extract) 10 µl ลงในcuvette ที่มี chymotrypsin specific substrate 1 ml

- วัดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินโดยการวัดปริมาณ p-nitroaniline ที่เอนไซม์ผลิตขึ้นในระยะเวลา 60 วินาที ในอุณหภูมิ 40 °C ด้วยเครื่อง UV-visible spectrometer และเปรียบเทียบผลกับกราฟมาตรฐานโดยใช้ p-nitroanilineเป็นสารมาตรฐาน ที่ความยาวคลื่น 410 nm.

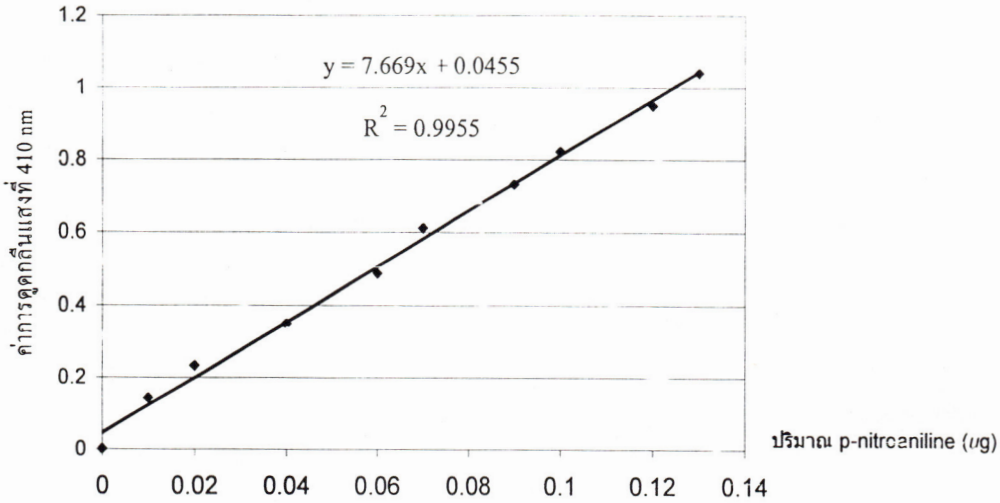
2.4.3 การทำกราฟ p-nitroaniiine มาตรฐาน

-เตรียม stock p-nitroaniline ความเข้มข้น 0.1 M ชั่งสารหนัก 0.0138 กรัม/มิลลิลิตร

- เตรียม stock p-nitroaniline ความเข้มข้น 0.1 mM ปิเปตสารสะลาย 10 ไมโครลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิเปตสาร 0.15 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ p-nitroaniline

หลอดที่	0.15 umole/ml p-nitoraniline (ul)	TBS Buffer pH 8.4 (ul)	Abs 410 nm	p-nitoraniline (umole)
Blank	0	1010	0	0.00
1	100	910	0.1413	0.01
2	200	810	0.232	0.02
3	300	710	0.3477	0.04
4	400	610	0.4865	0.06
5	500	510	0.6109	0.07
6	600	410	0.733	0.08
7	700	310	0.8216	0.10
8	800	210	0.9501	0.11
9	900	110	1.040	0.13
10	ตัวอย่างเอนไซม์10 ul	1000		

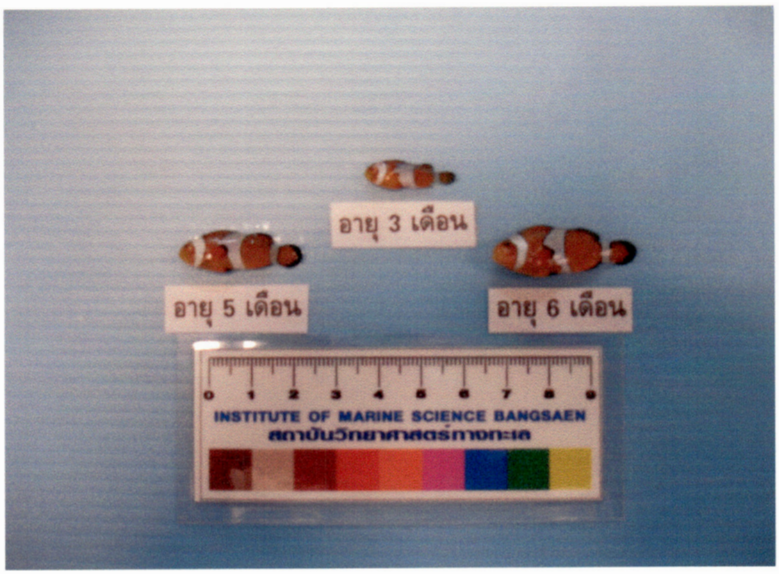


ภาพที่ 3.2 กราฟมาตรฐานปริมาณ p- nitroaniline

ภาพที่ 3.3 เครื่อง UV-visible spectrometer, UV300 และชุดควบคุมอุณภูมิสำหรับวัดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์

ภาพที่ 3.4 ตัวอย่างอาหารสำเร็จรูปสำหรับวัดค่าDL-alanine ด้วยเครื่อง UV-visible spectrometer, UV300

3. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)
(ดัดแปลง วิธี Rungruansak-Torrissen *et al*, 2002)



ภาพที่ 3.5 ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. oecllaris*) อายุ 3 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน

3.1 การเตรียมสารไดอะไลซิส (Dialysis)

3.1.1 การเตรียม 50 mM ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ที่มี 0.15 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์

- การเตรียม 0.1 โมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอตเฟต ชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4. H_2O) 6.90 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บในอุณหภูมิ 4 ^{0}C

- การเตรียม 1.5 โมลาร์โซเดียมคลอไรด์ ชั่งโซเดียมคลอไรด์หนัก 21. 91 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

- การเตรียม 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ชั่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4. $2H_2O$) 17.91 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 เก็บในอุณหภูมิ 4 ^{0}C

- การเตรียม 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.8 เติม 0.1 โมลาร์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จนกระทั่งได้ค่า pH 7.8เก็บในอุณหภูมิ 4 ^{0}C

- การเตรียม 0.1 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 เติม 0.1 โมลาร์โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ลงใน0.1 โมลาร์ ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่มีปริมาตร 300 มิลลิลิตร จนกระทั่งได้ค่า pH 8.2 เก็บในอุณหภูมิ 4 ^{0}C

- ตวง 0.1 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และตวง 0.15 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ในอุณหภูมิ 4 °C

3.1.2 การเตรียม 0.01 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.8 ที่มี 0.15 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์

- ตวง 0.1 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และตวง 1.5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร

3.1.3 การเตรียม 0.01 โมลาร์ Tris- HCl Buffer pH 8.0 ที่มี 0.15 โมลาร์โซเดียมครอไรด์

-เตรียม 0.1 โมลาร์ Tris- HCl Buffer pH 8.0 ชั่ง Tris (Hydroxymethyl) – aminomethane buffer substabce หนัก 6.0670 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร และปรับ pH ด้วย HCl จนกระทั่งได้ค่า 8.0

- การเตรียม 1.5 โมลาร์โซเดียมคลอไรด์ ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 21. 91 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

- ตวง 0.1 โมลาร์ Tris- HCl Buffer pH 8.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และตวง 1.5 โมลาร์ โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

3.2. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

3.2.1 การเตรียมสารและการทำกราฟ DL-analine มาตรฐาน

3.2.1.1 การเตรียมสารสะลาย DL-analine ความเข้มข้น 0.1 mole

ชั่ง DL-analine หนัก 0.0089 กรัม/ มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1 umole/ml (1 mM)

3.2.1.2การเตรียม 0.1% trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)

ปีเปตสาร TNBS 0.25 มิลลิลิตร ละลายใน 50 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 25 มิลลิลิตร

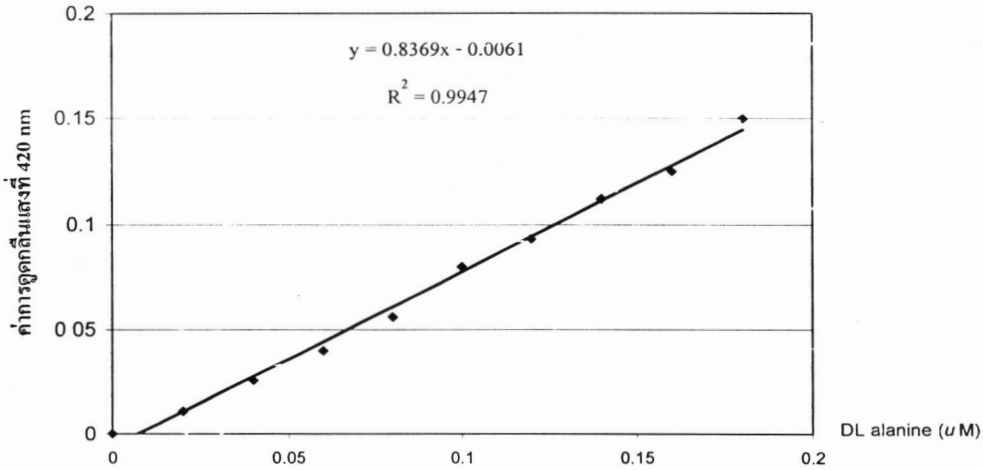
3.2.1.3 การเตรียม 1 N กรดHCl

ตวง กรด HCl 82.81 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

3.2.1.4 การทำกราฟ DL-analine มาตรฐาน

ตารางที่ 3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณ DL-analine

หลอดที่	1 umole/ml DL-alanine (ul)	50 mM PBS. (ul)	0.1 %TNBS in 50 mM PBS (ml)	Incubated 60 °C (hr)	1 N HCl (ml)	Abs. 420 nm	DL-alanine (umole)
Blank	0	2200	1	1	1	0.000	0.00
1	20	2190	1	1	1	0.011	0.02
2	40	2180	1	1	1	0.026	0.04
3	60	2160	1	1	1	0.040	0.06
4	80	2140	1	1	1	0.056	0.08
5	100	2120	1	1	1	0.080	0.10
6	120	2100	1	1	1	0.093	0.12
7	140	2080	1	1	1	0.112	0.14
8	160	2060	1	1	1	0.125	0.16
9	180	2040	1	1	1	0.150	0.18



ภาพที่ 3.6 กราฟมาตรฐานปริมาณ DL alanine

3.2.2 การสกัดเอนไซม์

3.2.2.1 ตัดระบบทางเดินอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาวอายุ 3 เดือน 5 เดือนและ 6 เดือน ใส่ในที่บดต่อมใต้สมองปลาที่แช่อยู่ในน้ำแข็งอุณหภูมิประมาณ 4 °C

3.2.2.2 เติม 50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 ที่มี NaCl 200 mM ในอัตราส่วน 1:3 น้ำหนัก/ปริมาตร บดให้ละเอียด

3.2.2.3 ทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 15,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

3.2.2.4 นำเอนไซม์ส่วนใสปริมาตร 3 มิลลิลิตรใส่ในถุงไดอะไลซ์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.4 มิลลิเมตร และมีน้ำหนักโมเลกุลคัดเลือก 12, 000 – 14,000 ใช้คลิปหนีบปิดถุงให้แน่น จากนั้นไปไดอะไลซ์ ใน 10 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.8 ปริมาตร 2.5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 4 °C คนเบาๆเพื่อเร่งการกระจายตัวของสารโมเลกุลเล็ก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.2.5 นำเอนไซม์ที่อยู่ในถุงไปเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง และนำส่วนใสเก็บไว้ในอุณหภูมิ-40 °C เพื่อใช้ในการศึกษา กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ และ ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (in vitro digestibility)

3.3.1 นำอาหารสำเร็จรูปชั่งน้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม ใส่ลงในฟลาสก์

3.3.2 ใส่ 50 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์pH 8.2 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

3.3.3 ใส่ 0.5 % กรอแรมเฟนนิคอลที่ละลายในแอลกอฮอล์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

3.3.4 ปิเปตตัวอย่างในฟลาสก์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน micro tube นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นระยะเวลา 5 นาทีเพื่อหยุดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ นำไปใส่ในอุณหภูมิ – 40 °C ทันที (control)

3.3.5 นำฟลาสก์ตัวอย่างใส่ใน shaker ปิเปตเอนไซม์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน ฟลาสก์ บันทึกเวลาที่เติมเอนไซม์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.6 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ปิเปตตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรไปต้มที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นระยะเวลา 5 นาทีเพื่อหยุดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ นำไปใส่ในอุณหภูมิ – 40 °C ทันที

3.3.7 ปิเปตตัวอย่าง control และ ตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

3.3.8 ปิเปต 50 m M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง

3.3.9 ปิเปต 1มิลลิลิตร 0.1% trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) ที่ละลายใน50 mM ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 หุ้มด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

3.3.10 เติม 1N HCl ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.3.11วัดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โดยนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง UV-visible spectrometerเพื่อวัดปริมาณ DL-alanine และเปรียบเทียบผลกับกราฟ DL-alanine มาตรฐาน ที่ความยาวคลื่น 420 nm.

3.3.12 คำนวณประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (μmole DL-alanine)ในอาหาร 100 μg.

$$= \frac{\text{ปริมาณเอนไซม์ทริปซิน(ไมโครโมล/ชม/มล.)x 40 มล.}}{\text{ปริมาณอาหารอาหารสำเร็จรูป (ไมโครกรัม)}}$$

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางสถิติ(ANOVA) $P<0.05$ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ SPSS for windows version 10.0 (ศิริชัย, 2543)

6 ระยะเวลาในการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลองเริ่มตั้งแต่เดือน มีนาคม 2548 – สิงหาคม 2548

1997 ; Sullivan และ Reigh, 1995) สุขภาพปลา วิธีการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ (Allan *et al*, 1999; Smith, 1979; Smith และ Lovell, 1971; Smith และ Lovell, 1973; Windell *et al*, 1978; Henken *et al*, 1985)

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารชนิดต่างๆ (in vitro digestibility) สามารถใช้เป็นดัชนีคาดคะเนการเจริญเติบโตล่วงหน้าของปลาได้ (Rungruangsak-Torrissen *et al*, 2002) ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) สามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชทดแทนปลาป่นได้ดีไม่แตกต่างจากปลาป่น (สูตรที่1) แต่สามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปสูตรที่ 2 3 และ 5 แตกต่างจากอาหารสูตรที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยอื่นๆที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 10-40 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร เช่น ปลา grass carp มีประสิทธิภาพการย่อยได้ใกล้เคียงกับกากถั่วเหลืองอัดแผ่น(Yang,1988; Law,1986) Shian et al, 1988 รายงานว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Milkfish (*Chanos chanos*) ได้ถึงระดับ 33เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed efficiency) El-sayed 1994 รายงานว่าปลา Silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 25เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร Robaina *et al*, 1995 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา Gillhead seabass (*Sparus aurata*) ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาป่นและมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารที่มีกากถั่วเหลืองระดับ10-20เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากปลาป่น Nengas *et al*, 1996 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา Gillhead seabass (*Sparus aurata*) พบว่าปลาสามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมในอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างจากปลาป่น Tulli *et al*, 2000 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา Asian seabass (*Lates calcarifer*) ขนาด 11.7 กรัม พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปได้ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต Amerio *et al*, 1991 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา European seabass (*Dicentrachus labrax*) ขนาด 169 กรัม ที่กินอาหารสำเร็จรูปที่เสริม methionine 0.8 เปอร์เซ็นต์ในอาหารทุกสูตร พบว่าปลาที่กินอาหารที่ได้รับกากถั่วเหลืองไม่สกัดน้ำมันมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาที่กินปลาป่น Lanari *et al*, 1998 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา European seabass *(Dicentrachus labrax)* ขนาด 100 กรัม พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างจากปลาป่น Boonyaratpalin *et al*, 1998 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา Asian seabass (*Lates calcarifer)* ในระดับ 37.5เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน มีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างปลาที่ได้รับอาหารควบคุม (ปลาป่น) อัตรา และคณะ 2546 รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดง

30 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน Lusas and Rhu, 1995 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา Atlantic halubut (*Hippoglosus hippoglosus*) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 28 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่มีโปรตีน 44 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างจากปลาป่น Watanabe *et al*, 1992; Viyakarn *et al*, 1992 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลาYellowtail (*Seriola quinquerdiata*) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 20 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างในการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น Day and Gonzalez, 2000 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลาTurbot (*Scopthalmus maximus*) พบว่าสามารถทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารสำเร็จรูปได้ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อน้ำหนัก ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารและประสิทธิภาพการย่อยอาหาร Kikuchi, 1999 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา Japanese flounder (*Paralicthys olivaceus*) พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปได้ 45 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเสริมกรดอะมิโนในอาหารจะสามารถทดแทนปลาป่นได้ 50 เปอร์เซ็นต์ Gomes, *et .al.*, 1995 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา เรนโบว์เทร้า พบว่าปลากินอาหารที่มีแหล่งวัตถุดิบจากพืชได้ถึง 66 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต

ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) สามารถย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีสาหร่ายสไปรูไลนาทดแทนปลาป่นได้ 10เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากปลาป่น ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Mustafa และ Nakagawa, 1995 รายงานว่าการใส่ *Ascophyllum* sp.และ *Spirulina* sp. 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารปลา Red Sea Bream ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหารดีขึ้น El-sayed, 1994 ศึกษาการใช้สาหร่ายสไปรูไลนาทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Silver Seabream (*Rhabdosargus sarba*) พบว่า สามารถใช้สาหร่าย สไปรูไลนา ทดแทนปลาป่นได้ 50เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต วันเพ็ญ และ กาญจนา, 2547 ศึกษาการเลี้ยงปลาทองสายพันธุ์รันชูด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายสไปรูไลนาในอาหารปริมาณ 8 10 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์พบว่าอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากอาหารควบคุมในด้านการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลารันชู ปิยาลัย และคณะ, 2547 ศึกษาการใช้สาหร่ายสไปรูไลนาผสมในอาหารลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus mergguiensis*)ระยะโพสท์ลาร์วา 10 เป็นเวลา 10 วัน พบว่าลูกกุ้งแชบ๊วยที่กินอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูไลนาในอาหารปริมาณ 1เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูไลนาผสม 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุมแต่ลูกกุ้งชุดควบคุมมีความยาวมากกว่าลูกกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูไลนา

ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้สาหร่าย *Caulerpa* sp. 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชในอาหารสำเร็จรูป ซึ่งปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ย่อยได้น้อยกว่าอาหารสำเร็จรูปที่มี

กากถั่วเหลืองและสาหร่ายสไปรูไลนา 10 เปอร์เซ็นต์ มีรายงานการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดใหญ่เป็นส่วนผสมอาหารปลา สาหร่ายที่มีรายงานการศึกษาเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้แก่ *Ulva pertusa*, *Ascophyllum nodosu,* และ *Porphyra yezoensis* ซึ่งการใส่สาหร่ายเหล่านี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตโดยตรง แต่มีประโยชน์ในด้านการดูดซับอาหาร และ การใส่ในอาหารปริมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปลาใช้ประโยชน์จากโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น (Mustafa *et al*, 1995)

จากผลการศึกษา สรุปได้ว่าสามารถใช้กากถั่วเหลือง สาหร่ายสไปรูไลนาเป็นส่วนผสมในอาหารสำเร็จรูปปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ทดแทนปลาป่นได้ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสาหร่ายใบเฟิร์น (*Caulerpa* sp.) ก็สามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้แต่ควรลดปริมาณการลงน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพการย่อยอาหารชนิดต่างๆ (in vitro digestibility) สามารถใช้เป็นดัชนีคาดคะเนการเจริญเติบโตล่วงหน้าของปลาได้ ((Rungruangsak-Torrissen *et al*, 2002) แต่ปลาแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารและการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อแตกต่างกัน จึงควรทำการทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูปควบคู่ไปกับการศึกษาในห้องปฏิบัติการด้วยเพื่อให้การศึกษามีความสมบูรณ์มากขึ้น

ข้อแสนอแนะ

1. ควรทำการทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูป เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต(SGR) อัตราการย่อยอาหาร (FCR) ประสิทธิภาพอาหาร(FCE) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน(PER)ของปลาการ์ตูนส้มขาวควบคู่กับการศึกษาในห้องปฏิบัติการ
2. ควรทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีกากถั่วเหลืองอัดน้ำมันในปริมาณสูงสุดที่ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) สามารถย่อยได้ดีโดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)
3. ควรทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับสาหร่ายทะเลหรือพืชทะเลชนิดอื่นๆในปริมาณสูงสุดที่ปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*) สามารถย่อยได้ดีโดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของ ปลาการ์ตูนส้มขาว(*A. ocellaris*)
4. ควรทำการศึกษาวิธีการทำให้สาหร่ายใบเฟิร์นใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่เจริญเติบโตรวดเร็วและเพาะขยายได้ง่าย

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา รุ่งเรืองศักดิ์- Torrisen. 2003. เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง เทคนิคการประเมินคุณภาพอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และ การเจริญเติบโตของสัตว์ 13-16 ตุลาคม 2546 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน 104 หน้า

จารุนันท์ ประทุมยศ และ ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ 2547 การพัฒนาการเลี้ยงปลาการ์ตูนด้วยอาหารสำเร็จรูป: ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร รายงานฉบับสมบูรณ์ 47 หน้า

ปิยาลัย เหมทานนท์ มณีย์ กรรณรงค์ ศุภรา ตรีเภรี และ อิทธิกร เหมทานนท์ 2547. ผลของการใช้สาหร่ายสไปรูไลนา *(Spirulina platensis)* ในการอนุบาลลูกกุ้งแชบ๊วย *(Penaeus merguinsis)* ระยะโพสท์ลาร์วา (พี10-พี20) เอกสารวิชาการฉบับที่ 43/2547 กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 10 หน้า

วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2537. อาหารปลา สำนักพิมพ์โอเอส กรุงเทพ ฯ 216 หน้า

วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และกาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ 2547 การปรับปรุงคุณภาพปลารันชูโดยใช้รงควัตถุคาโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูไลนา เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2547 กรมประมง กระทรวง เกษตรและสหกรณ์ 26 หน้า

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ 2539 การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์ เอกสารเผยแพร่ของศูนย์วิจัยและฝึกอบรม การเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน 194 หน้า

ศิริชัย พงศ์วิชัย 2543 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 477 หน้า

เวียง เชื้อโพธิ์หัก 2543 โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 255 หน้า

อัตรา ชัยมงคล มะลิ บุญยรัตผลิน ชูศักดิ์ บริสุทธิ์ และ สุจินต์ บุญช่วย 2546. การใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดง. http://www.fisheries.go.th

Allan, G.L., Rowland, S.J., Parkinson, S., Stone, D.A.J.and jantrarotai, W. 1999. Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* : development of methods. Aquaculture, 170 : 131-145

Allen,G.R. 1980. *The Anemone fishes of the world.* Species, Care and Breeding. Mergus press. Melle. Germany. 104 p.

Allen, G.R. 1991. *Damselfishes of the world.* Mergus Publishers. Melle. Germany. 271 p.

Amerio,M., Vignali, D., Castelli, L. and Tibaldi,E. 1991. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf /marinemishmechmeview.pdf

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA,684 p.

Aoki, H., Furuichi,M. Watanabe,K., Satoh, S. Yamagata, Y. and Watanabe, T. 2000. Use of low or non-fish meal diets for red sea bream. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Axelrod, H.R. 1989. A most welcome new fishfood from Dupla. Tropical Fish Hobbyist, March. 26-28

Berge, G.E., Grisdale-Helland, B., and Helland, S.J. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut. (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture. 178: 139-148.

Blassiola ,G.C.1991. The New Salowater Aqurium Handbook. Hongkong 134 p.

Boonyaratpalin, M., Suraneiranat, P. and Tunpibal, T. 1998. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Aasian seabass, *Lates calcarifer*. Aquaculture. 161: 67-78

Buddington, R., Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. 1997. The intestines of carnivorous fish: structure and function and the relations with diet. Acta Physiol. Scand. 161: 67-80

Bureau, D.P., Harris, A.M. and Cho, C.Y. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 180 : 345-358

Catacutan, M.R., Eusebio, P.S. and Teshima, S. 2003. Apparent digestibility of selected feedstuffs by mud crab, *Scylla serrata*. Aquaculture, 216: 253-261

Cho, C.Y., Slinger, S.J., Bayley, H.S., 1982. Bioenergetic of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. Comp. Biochem. Physiol., 73B, 25-41

Chong, A.S.C., Hashim, R. and Ali, A.B. 2002. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) using *in vivo* and *in vitro* methods. 8: 229-238

Davis, D.A., Jirsa, D. and Arnold, C.R. 1995. Evalution of soybean proteins as replacements for menhaden fish meal in practical diets for the red drum Sciaenops ocellatus. J. World Aquacult. Soc. 26: 48-58

Day, O.J. and Gonzalez, H.G. 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot Scophthalmua maximus L. Aquacult. Nutri., 6: 221-228.

Degani, G., Viola,S. and Yehuda, Y. 1997. Apparent digestibility of protein and carbohydrate in feed ingredients for adult tilapia (*Oreochromis aureus* x *O. niloticus*). Israeli Journal of Aquaculture-Bamideh. 49 (3): 115-123

De silva, S.S., Shim, K.F., Ong, A.K.,1990. An evalution of the methods used in digestibility estimations of a dietary ingredient and comparisons on external and internal markers, and time of digesta collection in digestibility studies in the fish, *Ooreochromis aureus* (Steindachner). Reprod. Nutri. Dev.,30: 215-226

El-sayed, A.M. 1994. Evaluation of soybean meal, spirulina meal and chicken offal meal as protein sources for silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) fingerlings. Aquaculture. 127, 169-176

Fautin, D.G. and Allen, G.R. 1992. Field guide to anemonefishes and their host sea anemones, western Australia Museum. Retrieved January 3, 2004 from http://biodiversity.bio.uno.edu/ebooks/ch34.html

Gilani, S., Cockell, K.A. and Sepehr, E. 2005. Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. J. AOAC international. 88: 967-987. http:www.extenza-eps.com.

Gomes, E., Dias, J. and Kaushik,S.J. 1997. Improvement of feed intake through supplementation with an attractant mix in European seabass fed plant-protein rich diets. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/ pdf/marinemishmechmeview.pdf

Gomes, E. F., Rema P. and Kaushik, S.J. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. Aquaculture 130,177-186

Henkken, A.M. Kleingeld, D.W. and Tijssen,P.A.T. 1985. The effect of feeding level on apparent digestibility of dietary dry matter, crude pritein and gross energy in the African catfish (*Clarius gariepinus*). Aquaculture. 51:1-11

Hilton, J.W., Atkinson, J.L. and Slinger, S.J.1983. Effects of increased dietary fiber on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquatic Sci., 40: 81-85

Kikuchi, K., Furuta, T. and Honda, H. 1994. Utilization of soybean meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder (*Paralicthys oliveaceus*) Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf /marinemishmechmeview.pdf

Kikuchi, K. 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralicthys oliveaceus*) Aquaculture. 179: 3-11.

Kissil, G.W., Lupatsch, I., Higgs, D.A. and Hardy, R.W. 2000. Dietary substitution of soy and rapeseed protein concentrates for fish meal, and their effects on growth and nutrient utilization in gilthead seabream, *Sparus aurata* L. Aquacult. Res. 31: 595-601.

Kissil, G.W. and Pupatsch, I. 2004. Successful replacement of fishmeal by plant protein in diets for the gilthead seabream, *Sparus aurata* L. The Israeli J. Aquacult.-Bamid. 56(3): 188-199.

Lanari, D. Yones, M. Ballestrazzi, R., E. and D'Agro. 1998. Alternative dietary protein sources (soybean, rapeseed, amd potato) in diets for seabrem. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Luparsch, I., Kissel, G.W., Sklan, D. and Pfeffer, E. 1997. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their predictability in compound diets for glithead seabream *Sparus aurata* L. Aquacult. Nutr. 3:81-89.

Lusas, E.W. and Rhee, K.C. 1995. Soybean protein processing and utilization *in*: Erickson, D.R. (ed.), Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Mambrini, M., Roem, A.J., Carvedi, J.P., Lalles, J.P. and Kaushik, S.J. 1999. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Animal Science.. 77: 2990-2999. http:jas.fass.org.

Masumoto, T., Taura, B. and Shimeno, S. 2001. Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Fisheries Science 67: 1075-1080.

McGoogan, B.B. and D.M. Gatlin III. 1997. Effects of replaceing fish meal with soybean in diets for red drum *Sciaenops ocellatus* and potential for palatability enhancement. J. World Aqua. Soc. 28 (4): 374-385.

McGoogan, B.B., and Reigh, R.C. 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenpos ocellatus*) diets. Aquaculture. 141:233-244.

Mutafa , M.D. and Nakagawa, H. 1995. A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed. Israeli Journal of Aquaculture-Bamideh. 47 (3-4):155-162

Naeem Abrahim. 2004. Effect of vitamin C on growth and survival of the False Crown Anemonefish. Special problem in Aquatic Science, Burapha University. 66 p.

Nandeesha, M.C., Gangadhara, B., Manissery, J.K. and Venkataraman, L.V. 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. Bioresour Technol. Nov. 80(2). 117-120. http://www.ncbi.nlm.nih.gov.

Nengas, I., Alexis, M.N. and Davies, S.J. 1996. Partial substitution of fish meal with soybean meal products and derivatives in diets for the gilthead seabream *Sparus aurata* (L). Aquacult. Res. 27: 147-156.

Nelson, J.S. 1994. *Fishes of the world.* 3 rd ed. John&Sons, Inc. New York.

Nengas, I., Alexis, M.N., Davies, S.J., Petichakis, G., 1995. Investigation to determine digestibility coefficientss of various raw materials in diets for gilthead sea bream, *Sparus auratus,* L. Aquacult. Res. 26: 185-194

NRC (National Research Council). 1993. Nutrient Requirements of Warmwater Fished and Shellfishes. National Academy Press, Washington, DC. 102 pp.

Quartararo, N., Bell, J.D. and Allan, G.L. 1997. Substitution of fishmeal in a diet for the carnivorous marine fish *Paragrus auratus* (Bloch and Schneider) from southeastern Australia. Asian Fisheries. Society. http://www.asianfisheriessociety.org.

Reigh, R.C. and Ellis,S.C. 1992. Effects of dietary soybean and fish-protein ratios on growth and Body composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed isonitrogenous diets. Aquaculture. 104: 279-292.

Ribeiro, L. Zambonino-Infante, J.L., Cahu,C. And Dinus, M.T. 1999. Development of digestive enzymes in larvae of Solea senegalensis, Kaup 1858. Aquaculture 179: 465-743

Riche, M., Trottier, N.L., Ku., P.K. and Garling, D.L. 2001. Apparent digestibility of crude protein and apparent availability of individual amino acids in tilapia (*Orechromis niloticus*) fed phytase pretreated soybean meal diets. Fish Physiol. Biochem. 25: 181-194.

Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D. and Fernandez-Palacios, H. 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. Aquaculture. 130: 219-233.

Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H., Luzzana, U. and Venturini, G. 2002. In vitro digestibility base on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. J. Sci. food. Agricult. 82: 644-654.

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

Schneider, O., Amirkolaie, A.K., Vera-Cartas, J., Eding, E.P., Schrama, J.W. and Verreth, A.J. 2004. Digestibility, faeces recovery, and related carbon, nitorgen and phosphorus balances of feed ingredients evaluated as fishmeal alternatives in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquacult. Res. 35(14):1370. http://www.blackwell-synergy.com.

Shiau, S-Y., Pan, B.S., Chen, S., Yu, H-L. and Lin, S-L.1988. Successful use of soybean meal with a metionine supplement in diets for milkfish *Chanos chanos* Forskal. J. World Aquacult. Soc. 19: 14-19.

Shimeno, S., Hosokawa, H., Kumon, M., Masumoto, T. and Ukawa, M. 1992a. Inclusion of defatted soybean meal in diets for fingerling yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Shimeno, S., Hosokawa, H., Yamane, R., Masumoto, T. and Ueno, M. 1992b. Change in nutritive value of defatted soybean meal with duration of heating time for young yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Shimeno,S. Kumon,.M., Ando, H. and Ukawa,M. 1993a. The growth performance and body composition of young yollowtail fed with diets containing defatted soybean meal for a long period. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Shimeno, S. Mima, T., Yamamoto, O. and Ando, Y. 1993c. Effects of fermented defatted soybean meal in diet on the growth, feed conversion, and body composition of juvenile yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Shimeno S., Hosokawa, H., Masumoto, T., Ruchimat, T. and Kishi, S. 1996. Addition of combined soybean meal malt protein flour, and meal meal to yellowtail diet. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Smith, B.W. and Lovell, R.T. 1973. Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish, Trans. Am. Fish. Soc., 102: 831-835

Smith,R.R., 1979. Methods for determination of digestibility and metabolisable energy of feedstuffs for finfish. From Proc. World Symp. On finfish Nutrition and fishfeed Technology, Vol. II, Hamburg 20-23 June, 1978. Heenemann Verlagsgessellschaft, Berlin, 453-459 pp.

Song,T. Feeding and nutrition. Chapter 3 *in* Li, S, and Mathais, J. Edition. 1994. Freshwater fish culture in China principles and practice. Developments in aquaculture and fisheries science Vol. 28. Elsevier. Amsterdum. 443 p.

Spannhof, L. and Plantikow, H., 1983. Stufies on carbohydrate digestion in rainbow trout. Aquaculture. 30: 95-108

Stone, D.A.J., Allan, G.L., Parkinson, S. and Rowland, S.J. 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus* III. Digestibility and growth using meat meal products. Aquaculture. 18:311-326

Sugiura, S.H., Dong, F.M., Rathbone, C.K. and Hardy, R.W. 1998. Apparent protein digestibility and Mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. Aquaculture. 159 : 177-202

Sullivan, J.A. and Reigh, R.C. 1995. Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* female *x Morone chrysops* male). Aquaculture. 138: 313-322

Takagi,S. Hosokawa, H., Shimeno, S., Maita, M., Ukawa, M. and Ueno, S. 1999. Utilization of protein concentrate in a diet for red sea bream *Pagrus major*. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Takagi,S. Shimeno, S., Hosokawa, H. and Ukawa, M.2001. Effects of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. Fisheries Science. 67: 1088-1096.

Tulli, F., Ramelli, M., Tibaldi, E., Manetti, F., Volpatti, D. and Galeotti, M.2000. Feeding seabass (*Dicentrachus labrax*) juveniles with soybean products:effects on growth, feed utilization, serological response and non-specific defense. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/ marinemishmechmeview.pdf

Tulli, F. and Tibaldi, E. 2001. Apparent nutrient digestibility of different protein sources for sea bass (*D. labrax*) Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Tuan, N,A., 1986. Effects of dietary protein levels on growth and reproduction of Nile Tilapia (*Oreochromis noliticus,* Linnaeus). M.sc. thesis. NO. AE.86-30. Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand

Viyakarn, V. Watanabe, T., Aoki, H., Tsuda, H., Sakamoto, H., Okamoto, N., Iso, N., Satoh, S. And Takeuchi, T. 1992. Use of soybean meal as a substitute for fish meal in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Volkart, B. 1991. Live Food. Freshwater and marine magazine. 14(2) : 22-24

Watanabe, T., Sakamoto, H., Abiru, M. and Yamashita, J. 1991. Development of a new type of dry pellet for yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

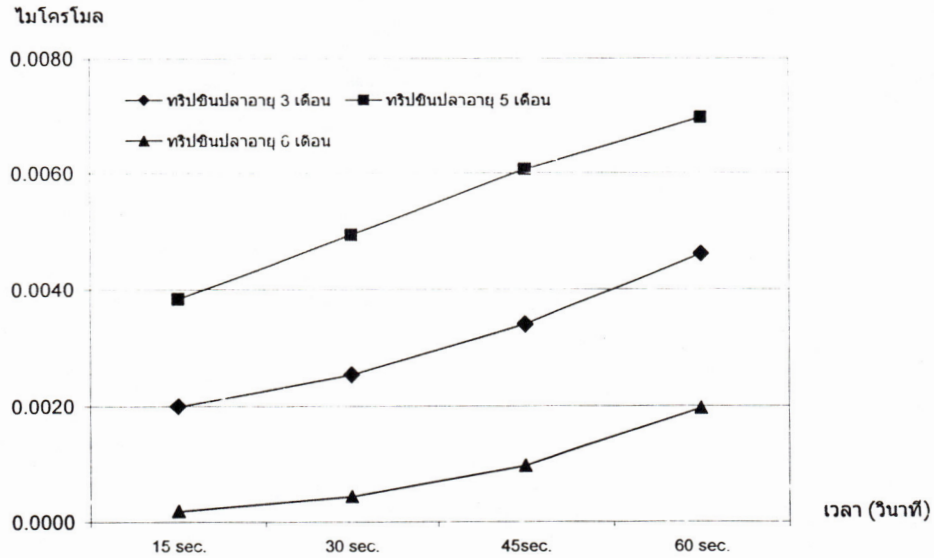
Watanabe, T., Viyakarn, V. Kimura, H., Ogawa, K., Okamoto, N. and Iso, N. 1992. Utilization of soybean meal as a protein source in a newly developed soft-dry pellet for yellowtail. Cited by Foster, I. Use of soybean meal in the diets of non-salmonid marine fish. http://www. soybean.org/pdf/marinemishmechmeview.pdf

Wikerson, J.D., 1998. Clownfishes. A guide to their Captive Care, Breeding and Natural History. Microcosm, Shelburn, Vermont, U.S.A. 240 p.

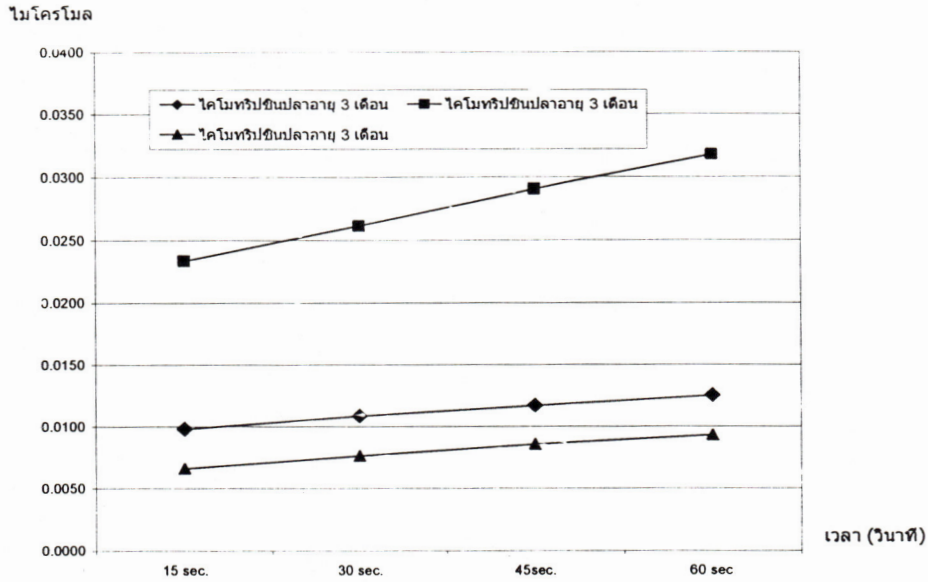
Windell, J.T., Folz, J.W. and Sarokon, J.A. 1978. Methods of fecal collcetion and nutrient leaching in digestibility studies. Prog. Fish. Cult., 40 p.

Zhou, Q.C., Mai, K.S., Tan, B.P. and Liu, Y.J. 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquqcult. Nutri. 11(3):175. Http://www.blackwell-synergy.com.

ภาคผนวก



ภาพภาคผนวกที่ 1 กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)ในระยะเวลา 60 วินาที



ภาพภาคผนวกที่ 2 กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)ในระยะเวลา 60 วินาที

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่าง+ภาชนะ	น.น ความชื้น	% ความชื้น
อาหารสูตรที่1	19.4617	1.0274	20.4189	0.0702	6.8327
อาหารสูตรที่1	21.9056	1.0589	22.8948	0.0697	6.5823
ค่าเฉลี่ย					6.7075
อาหารสูตรที่2	15.9608	1.0312	16.8963	0.0957	9.2804
อาหารสูตรที่2	16.3343	1.0134	17.2536	0.0941	9.2855
ค่าเฉลี่ย				0.0949	9.2830
อาหารสูตรที่3	23.963	1.0273	24.9315	0.0588	5.7237
อาหารสูตรที่3	17.627	1.0604	18.6244	0.063	5.9411
ค่าเฉลี่ย				0.0609	5.8324
อาหารสูตรที่4	20.5068	1.0835	21.4650	0.1253	11.5643
อาหารสูตรที่4	16.4729	1.1666	17.5029	0.1366	11.7092
ค่าเฉลี่ย				0.1309	11.6368
อาหารสูตรที่5	27.8354	1.0024	28.7179	0.1199	11.9612
อาหารสูตรที่5	20.2383	1.0136	21.1292	0.1227	12.1053
ค่าเฉลี่ย				0.1213	12.0333

ตารางภาคผนวกที่ 2 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่าง	ปริมาณกรด-แบลงค์	ความเข้มข้นกรด	% ไนโตรเจน	% โปรตีน
อาหารสูตรที่1	1.0122	71.6	0.0959	9.50	63.6703
อาหารสูตรที่1	1.0196	72.1	0.0959	9.50	63.6496
ค่าเฉลี่ย					63.6599
อาหารสูตรที่2	1.0090	68.9	0.0959	9.17	63.2086
อาหารสูตรที่2	0.5429	41.3	0.0864	9.21	63.4194
ค่าเฉลี่ย					63.3140
อาหารสูตรที่3	0.5515	43.4	0.0864	9.52	63.2010
อาหารสูตรที่3	0.5563	44.1	0.0864	9.59	63.6662
ค่าเฉลี่ย					63.4336
อาหารสูตรที่4	0.5230	37.4	0.0864	8.65	61.2039
อาหารสูตรที่4	0.4615	34.5	0.0864	9.05	63.9818
ค่าเฉลี่ย					62.5929
อาหารสูตรที่5	0.353	26.3	0.0864	9.02	64.0536
อาหารสูตรที่5	0.331	24.7	0.0864	9.03	64.1552
ค่าเฉลี่ย					64.1044

ตารางภาคผนวกที่ 3 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ภาชนะ	น.น.ภาชนะและไขมัน	น.น.ไขมัน	%ไขมัน
อาหารสูตรที่1	1.1256	98.0135	98.1746	0.1611	14.31
อาหารสูตรที่1	1.4263	106.9637	107.1615	0.1978	13.87
ค่าเฉลี่ย					14.09
อาหารสูตรที่2	1.1832	109.4794	109.6198	0.1404	11.87
อาหารสูตรที่2	1.4752	108.8633	109.0439	0.1806	12.24
ค่าเฉลี่ย					12.05
อาหารสูตรที่3	1.2576	105.816	105.9923	0.1763	14.02
อาหารสูตรที่3	1.4703	102.2631	102.4705	0.2074	14.11
ค่าเฉลี่ย					14.06
อาหารสูตรที่4	1.5154	94.7073	94.9041	0.1968	12.99
อาหารสูตรที่4	1.7491	104.4953	104.7264	0.2311	13.21
ค่าเฉลี่ย					13.60
อาหารสูตรที่5	1.117	105.9534	106.0986	0.1452	13.00
อาหารสูตรที่5	1.1824	107.1581	107.312	0.1539	13.02
ค่าเฉลี่ย					13.01

ตารางภาคผนวกที่ 4 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณไฟเบอร์ในอาหารสูตรสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	นน ภาชนะ	นน ตัวอย่าง	นน หลังอบ	นน หลังเผา	นน ไฟเบอร์	%ไฟเบอร์
อาหารสูตรที่1	21.162	0.9372	21.1674	21.1625	0.0049	0.5228
อาหารสูตรที่1	20.436	1.1847	20.4423	20.4363	0.006	0.5064
ค่าเฉลี่ย						0.5146
อาหารสูตรที่2	22.4576	0.9965	22.4650	22.4581	0.0069	0.6924
อาหารสูตรที่2	20.5084	1.2462	20.5165	20.5087	0.0078	0.6259
ค่าเฉลี่ย						0.6591
อาหารสูตรที่3	19.5119	1.0711	19.5146	19.5123	0.0023	0.2147
อาหารสูตรที่3	20.2395	1.2555	20.2419	20.2401	0.0018	0.1433
ค่าเฉลี่ย						0.1790
อาหารสูตรที่4	30.0115	1.2246	30.0142	30.0126	0.0016	0.1306
อาหารสูตรที่4	26.4199	1.4161	26.4255	26.4236	0.0019	0.1341
ค่าเฉลี่ย						0.1324
อาหารสูตรที่5	16.4736	0.8901	16.4755	16.475	0.0005	0.0561
อาหารสูตรที่5	21.9064	0.9444	21.9077	21.9072	0.0005	0.0529
ค่าเฉลี่ย						0.0545

ตารางภาคผนวกที่ 5 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่างและภาชนะ	น.น.หลังเผา	น.น.เถ้า	% เถ้า
อาหารสูตรที่1	19.4617	1.0274	20.4189	19.5789	0.1172	11.40744
อาหารสูตรที่1	21.9056	1.0589	22.8948	22.0248	0.1192	11.25696
ค่าเฉลี่ย	20.68365	1.04315			0.1182	11.3322
อาหารสูตรที่2	15.9608	1.0312	16.8963	16.0802	0.1194	11.57874
อาหารสูตรที่2	16.3343	1.0134	17.2536	16.4486	0.1143	11.27886
ค่าเฉลี่ย						11.4288
อาหารสูตรที่3	23.963	1.0273	24.9315	24.0957	0.1327	12.91736
อาหารสูตรที่3	17.627	1.0604	18.6244	17.7623	0.1353	12.75934
ค่าเฉลี่ย						12.83835
อาหารสูตรที่4	20.5068	1.0835	21.465	20.6527	0.1459	13.46562
อาหารสูตรที่4	16.4729	1.1666	17.5029	16.6268	0.1539	13.19218
ค่าเฉลี่ย						13.3289
อาหารสูตรที่5	27.8354	1.0024	28.7179	27.9428	0.1074	10.71429
อาหารสูตรที่5	20.2383	1.0136	21.1292	20.3466	0.1083	10.68469
ค่าเฉลี่ย						10.69949

ตารางภาคผนวกที่ 6ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่างและภาชนะ	น.นความชื้น	% ความชื้น
สาหร่ายใบเฟิร์น	23.0721	1.0063	24.0159	0.0625	6.210872
สาหร่ายใบเฟิร์น	19.5111	1.0689	20.514	0.066	6.174572
ค่าเฉลี่ย					6.192722
กากถั่วเหลือง	21.161	1.9801	23.1342	0.0069	0.348467
กากถั่วเหลือง	28.5679	1.7307	30.2942	0.0044	0.254232
ค่าเฉลี่ย					0.30135
สไปรูไลนา	19.2014	0.8817	20.0709	0.0122	1.383691
สไปรูไลนา	22.4566	0.8496	23.2951	0.0111	1.306497
ค่าเฉลี่ย					1.345094
ปลาป่น	26.4186	1.0182	27.3868	0.05	4.910627
ปลาป่น	19.2004	1.043	20.1894	0.054	5.177373
ค่าเฉลี่ย					5.044

ตารางภาคผนวกที่ 7 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่าง	ปริมาณกรด-แบลงค์	ความเข้มข้นกรด	% ไนโตรเจน	% โปรตีน
สาหร่ายใบเฟิร์น	0.7182	17	0.0959	3.18	19.88
สาหร่ายใบเฟิร์น	0.7182	16.5	0.0959	3.09	19.29
ค่าเฉลี่ย					19.58
กากถั่วเหลือง	0.9717	55.9	0.0959	7.73	48.31
กากถั่วเหลือง	0.8515	49.7	0.0959	7.84	49.01
ค่าเฉลี่ย					48.66
สไปรูไลนา	0.5171	33.4	0.0959	9.98	62.36
สไปรูไลนา	0.5146	39.7	0.0959	10.37	64.78
ค่าเฉลี่ย					63.57
ปลาป่น	0.3908	32.3	0.0959	11.10	69.40
ปลาป่น	0.3766	31.15	0.0959	11.11	69.46
ค่าเฉลี่ย					69.43

ตารางภาคผนวกที่ 8 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่าง+ภาชนะ	น.นไขมัน	% ไขมัน
สาหร่ายใบเฟิร์น	98.0727	0.9976	98.0879	0.0152	1.524
สาหร่ายใบเฟิร์น	109.5166	0.9972	109.5345	0.0179	1.795
ค่าเฉลี่ย					1.659
กากถั่วเหลือง	105.8229	1.3514	105.8331	0.0102	0.755
กากถั่วเหลือง	105.9734	1.2199	105.9819	0.0085	0.697
ค่าเฉลี่ย					0.726
สไปรูไลนา	101.6899	1.1791	101.6957	0.0058	0.492
สไปรูไลนา	107.1417	1.0872	107.1452	0.0035	0.322
ค่าเฉลี่ย					0.407
ปลาป่น	105.4725	1.036	105.5977	0.1252	12.085
ปลาป่น	105.855	1.1118	105.991	0.136	12.232
ค่าเฉลี่ย					12.232

ตารางภาคผนวกที่ 9 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณไฟเบอร์ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น. หลังอบ	น.น.หลังเผา	น.น.ไฟเบอร์	% ไฟเบอร์
สาหร่ายใบเฟิร์น	20.2389	0.8524	20.24	20.2385	0.0015	0.176
สาหร่ายใบเฟิร์น	20.5676	0.8721	20.5077	20.5071	0.0006	0.069
ค่าเฉลี่ย						0.122
กากถั่วเหลือง	29.7498	1.1227	29.7953	29.7525	0.0428	3.812
กากถั่วเหลือง	16.3348	1.0098	16.3804	16.3357	0.0447	4.427
ค่าเฉลี่ย						4.119
สไปรูไลนา	20.2375	0.891	20.2398	20.2375	0.0023	0.258
สไปรูไลนา	16.4722	0.9907	16.4747	16.4722	0.0025	0.252
ค่าเฉลี่ย						0.255
ปลาป่น	26.4171	1.2128	26.4186	26.4173	0.0013	0.107
ปลาป่น	19.1984	1.4498	19.2002	19.1985	0.0017	0.117
ค่าเฉลี่ย						0.112

ตารางภาคผนวกที่ 10 ข้อมูลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อตัวอย่าง	น.น. ภาชนะ	น.น. ตัวอย่าง	น.น.ตัวอย่าง+ภาชนะ	น.น.หลังเผา	น.น.เถ้า	% เถ้า
สาหร่ายใบเฟิร์น	23.0721	1.0063	24.0159	23.4161	0.344	34.18464
สาหร่ายใบเฟิร์น	19.5111	1.0689	20.514	19.8783	0.3672	34.35307
ค่าเฉลี่ย	21.2916	1.0376	22.26495	21.6472	0.3556	34.26886
กากถั่วเหลือง	21.161	1.9801	23.1342	21.32	0.159	8.029897
กากถั่วเหลือง	28.5679	1.7307	30.2942	28.7049	0.137	7.915872
ค่าเฉลี่ย						7.972885
สไปรูไลนา	19.2014	0.8817	20.0709	19.2723	0.0709	8.041284
สไปรูไลนา	22.4566	0.8496	23.2951	22.5253	0.0687	8.086158
ค่าเฉลี่ย						8.063721
ปลาป่น	26.4186	1.0182	27.3868	26.5215	0.1029	10.10607
ปลาป่น	19.2004	1.043	20.1894	19.306	0.1056	10.12464
ค่าเฉลี่ย						10.11535

ตารางภาคผนวกที่ 11 ข้อมูลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว (*A. ocellaris*)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIGEST

	(I) FEEDTYPE	(J) FEEDTYPE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
LSD	1.00	2.00	.0422	.07063	.554	-.1020	.1865
		3.00	.0808	.07063	.262	-.0635	.2250
		4.00	.2002*	.07063	.008	.0560	.3445
		5.00	.0214	.07063	.764	-.1228	.1657
	2.00	1.00	-.0422	.07063	.554	-.1865	.1020
		3.00	.0386	.07063	.589	-.1057	.1828
		4.00	.1580*	.07063	.033	.0138	.3022
		5.00	-.0208	.07063	.771	-.1650	.1235
	3.00	1.00	-.0808	.07063	.262	-.2250	.0635
		2.00	-.0386	.07063	.589	-.1828	.1057
		4.00	.1194	.07063	.101	-.0248	.2637
		5.00	-.0593	.07063	.408	-.2036	.0849
	4.00	1.00	-.2002*	.07063	.008	-.3445	-.0560
		2.00	-.1580*	.07063	.033	-.3022	-.0138
		3.00	-.1194	.07063	.101	-.2637	.0248
		5.00	-.1788*	.07063	.017	-.3230	-.0345
	5.00	1.00	-.0214	.07063	.764	-.1657	.1228
		2.00	.0208	.07063	.771	-.1235	.1650
		3.00	.0593	.07063	.408	-.0849	.2036
		4.00	.1788*	.07063	.017	.0345	.3230

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DIGEST

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	9.733	1	9.733	115227.9	.000
	Error	1.689E-04	2	8.447E-05[a]		
FEEDTYPE	Hypothesis	.226	4	5.647E-02	5.477	.020
	Error	8.249E-02	8	1.031E-02[b]		
AGE	Hypothesis	1.689E-04	2	8.447E-05	.008	.992
	Error	8.249E-02	8	1.031E-02[b]		
FEEDTYPE * AGE	Hypothesis	8.249E-02	8	1.031E-02	.459	.875
	Error	.673	30	2.245E-02[c]		

a. MS(AGE)

b. MS(FEEDTYPE * AGE)

c. MS(Error)

Homogeneous Subsets

DIGEST

	FEEDTYPE	N	Subset 1	Subset 2
Duncan[a,b]	4.00	9	.3338	
	3.00	9	.4532	.4532
	2.00	9		.4918
	5.00	9		.5126
	1.00	9		.5340
	Sig.		.101	.306

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 2.245E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.