

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การผลิตอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลาดุกอุย
ด้วยแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

Formulation of catfish (*Clarias macrocephalus*) pellet by digestibility approach

โดย

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย¹
สุบัณฑิต นิมรัตน์²

- 1 พ.ย. 2550

226846

๒๕๕๐๗๐๗

เริ่มบริการ

๒๕๕๐ ๒๕๕๑

¹ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลาดุกอุยจากแนวทางการประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองของเอนไซม์ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) เริ่มทำโดยสกัดเอนไซม์จากกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาดุกอุยเพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์และช่วงอายุที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ แล้วนำเอนไซม์สกัดมาย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองเพื่อผลิตสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาดุกอุย เอนไซม์ทริปซินและไลโมทริปซินจากกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาดุกอุยที่อายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน เมื่อนำไปทำการวัดแอกติวิตีที่ระดับอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถึง 70 องศาเซลเซียส โดยเพิ่มระดับอุณหภูมิครั้งละ 5 องศาเซลเซียส โดยใช้ Benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide และ N-succinyl-ala-ala-pro-phe-p-nitroanilide เป็น สับสเตรทตามลำดับ พบว่า แอกติวิตีของเอนไซม์ทริปซินมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส หรือเมื่อปลาดุกอุยมีอายุ 90 วัน ส่วนแอกติวิตีของเอนไซม์ไลโมทริปซินมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หรือเมื่อปลาดุกอุยมีอายุ 60 วัน

—การย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองของเอนไซม์ปลาดุกอุย พบว่าปลาดุกอุยสามารถย่อยปลาป่นได้ดีที่สุด รองลงมาคือกากถั่วเหลือง ดังนั้นกากถั่วเหลืองจึงเป็นวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมในการนำมาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาดุกอุย จากนั้นจึงนำกากถั่วเหลืองมาแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาดุกอุย 4 สูตรที่ 0 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยทุกสูตรมีโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน เลี้ยงปลาดุกอุยน้ำหนักเฉลี่ย 5.32 ± 0.47 กรัม เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ อัตราการรอด และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับสูตรควบคุม แต่ในสูตรที่ 4 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 40 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารต่ำกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงว่ากากถั่วเหลืองสามารถทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารได้ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์

Abstract

Production of catfish (*Clarias macrocephalus*) diet was developed based on evaluation of trypsin and chymotrypsin activities and *in vitro* enzyme digestibility of crude enzyme extract from catfish. Stomach and intestine were collected from fish at 45, 60, 75, 90, 105 and 120 day-old for assessment of enzyme activity at 20-70 °C using Benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide and N-succinyl-alala-pro-phe-p-nitroanilide as substrates for trypsin and chymotrypsin, respectively. The optimum temperature for activity of trypsin and chymotrypsin was 55 °C and 40 °C, respectively. Highest level of trypsin and chymotrypsin activity was observed from catfish at the age of 90 and 60 days, respectively.

In vitro digestibility of feedstuff showed that extracted enzyme digested fishmeal more efficiently than other feedstuffs ($P < 0.05$). Soybean meal was shown to be the most suitable feedstuffs for replacement of fishmeal in diet. Four experimental diets containing 35% protein and 10% lipid were formulated at 0%, 20%, 30% and 40% of fish meal replacement with soybean meal. Catfish with an initial weight of 5.32 ± 0.47 gm was reared for 10 weeks with pellets to compare feed utilization and growth performance. There was no significant difference ($p > 0.05$) in average daily weight gain (ADG), specific growth rate (SGR), food conversion efficiency ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER) and survival rate between diets 2 and 3 (fish meal replacement by soybean meal at 20% and 30%, respectively), as compared to the control. Fish fed with diet 4 (fish meal replacement by soybean meal at 40%) had significantly reduced performance ($p < 0.05$) in average weight, percentage weight gain, ADG, FCR, SGR and PER, compared to the control. Incorporation of soybean meal in catfish diet for replacement of fish meal can be achieved at the level less than 30%.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การผลิตอาหารเม็ดสำหรับการเลี้ยงปลาคุณด้วยแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสำเร็จเรียบร้อยแล้ว โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2549 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวราภรณ์ โพธิ์ทอง และคุณพรณนภา ศรีเคลือบ ที่ได้ช่วยเตรียมสถานที่ทดลอง คุณแปลลาทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลการทดลอง ภาควิชาวริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ และอุปกรณ์ต่างๆระหว่างการศึกษาวิจัย และภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบควบคุมอุณหภูมิภายในเซลล์ (UV-Visible NIR Spectrophotometer) ทำให้การวิจัยดำเนินการสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และ สุบันจิต นิมรัตน์

มีนาคม 2550

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	i
Abstract.....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญตาราง.....	v

บทที่

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์ของโครงการ.....	4
3. ประโยชน์ที่ได้รับ.....	4
4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
5. วิธีดำเนินการทดลอง.....	8
6. ผลการทดลอง.....	18
7. อภิปรายผลการทดลอง.....	43
8. สรุปผลการทดลอง.....	48
9. เอกสารอ้างอิง.....	49

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ส่วนประกอบวัตถุดิบอาหารสัตว์ของอาหารทั้ง 4 สูตร.....	14
2 ระดับโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต (NFE) ที่ได้จากการวิเคราะห์ และ พลังงานในอาหารทดลอง.....	14
3 Proximate composition ที่ได้จากการวิเคราะห์ ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ที่ใช้ในการทดลอง (%น้ำหนักแห้ง).....	15
4 แอคติวิตีของทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$) ของปลาอุกอุย ที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....	19
5 ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดออกมาจากปลาอุกอุยที่มีอายุต่างๆ	20
6 แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/mg protein}$) ของปลาอุกอุย ที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....	21
7 แอคติวิตีของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$) ของปลาอุกอุย ที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....	23
8 แอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/mg protein}$) ของปลาอุกอุย ที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน.....	24
9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ในหลอดทดลอง โดยเอนไซม์สกัดของปลาอุกอุย.....	25
10 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ.....	26
11 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Weight Gain) ของปลาอุกอุย.....	29
12 อัตราการรอดของปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างๆ.....	31
13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate) ของปลาอุกอุย ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ.....	33
14 อัตราแลกเนื้อ (Food Conversion Ratio) ของปลาอุกอุย เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ.....	36
15 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio) ของปลาอุกอุย.....	39
16 เปอร์เซนต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain) ของปลาอุกอุย.....	41

1. ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทยประสบความสำเร็จ และเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวาง มีผลผลิตต่อไร่สูงขึ้น เนื่องจากสามารถจัดสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทำให้สามารถควบคุมคุณภาพ และผลผลิตของสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นการช่วยธรรมชาติผลิตอาหารโปรตีนตามความต้องการของมนุษย์ และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนับวันจะยังมีความสำคัญมากขึ้นเพื่อผลิตโปรตีนทดแทนการจับสัตว์น้ำจากธรรมชาติที่มีปริมาณลดลงตลอดเวลา แต่อย่างไรก็ตามอาหารเป็นปัจจัยหลักของการผลิตสัตว์น้ำ ซึ่งการลดการใช้ปลาป่นบางส่วนในสูตรอาหารเม็ดจะช่วยให้การเลี้ยงสัตว์น้ำมีความยั่งยืน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Lovell, 1989)

ปลาคูกอุยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias macrocephalus* ชื่อสามัญคือ Walking catfish เป็นปลาน้ำจืดที่พบมากในประเทศเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบได้ทั่วไปในทุกภาค ปลาคูกอุยจัดเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีลักษณะรูปร่างเรียวยาว เคลื่อนไหวปราดเปรียวว่องไว ไม่มีเกล็ด ผิวหนังสีน้ำตาล มีเนื้อสีเหลืองนวล กินอาหารจำพวกพืช เนื้อสัตว์หรือเนื้อสัตว์ที่เน่าเปื่อย เนื่องจากปลาคูกอุยมีการเจริญเติบโตช้า ทำให้มีต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสูง ซึ่งหากเปรียบเทียบต้นทุนดำเนินการอื่นๆ แล้ว ต้นทุนอาหารเป็นต้นทุนที่สูงกว่าต้นทุนอื่นๆ รวมกัน โดยเฉพาะโปรตีนซึ่งเป็นสารอาหารที่มีราคาแพง อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงปลาคูกอุยตั้งแต่การอนุบาลไปจนถึงการจับขายจะมีการให้อาหารต่าง ๆ กัน โดยในการอนุบาลลูกปลาคูกอุยจะใช้อาหารที่มีชีวิต (living diets) เช่น ไรแดง เป็นต้น แล้วเปลี่ยนมาให้ปลาป่นผสมรำ หรือกากถั่วเหลือง เมื่อลูกปลาโตขึ้นเป็นปลาน้ำ โดยเกษตรกรจะให้อาหารแตกต่างกันในระหว่างการเลี้ยงจนปลาคูกอุยเป็นปลาเนื้อ เช่น อาหารเม็ด ซีโครงไก่บด ไล่ไก่ เป็นต้น และก็มีหลากหลายในการให้อาหารเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร เช่น เลี้ยงด้วยซีโครงไก่บดผสมรำ เป็นต้น ด้วยเหตุที่ปลาคูกอุยเป็นสัตว์น้ำที่เกษตรกรสามารถเลี้ยงได้ง่าย มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลาย ลงทุนไม่มากเหมือนสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ แต่เกษตรกรส่วนมากยังต้องใช้อาหารสำเร็จรูปเป็นหลักในการเลี้ยง ซึ่งถ้าเกษตรกรสามารถนำวัตถุดิบอาหารสัตว์ในท้องถิ่นที่มีอยู่มากมาย และราคาถูก มาผสมอาหารได้ผลิตอาหารสำเร็จรูปได้เองก็จะช่วยลดต้นทุนการผลิต แต่ทั้งนี้จะต้องทราบความสามารถที่สัตว์น้ำสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด เนื่องจากการนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาผสมในสูตรอาหาร แต่ผสมในอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสม จะทำให้สัตว์น้ำโตช้า แม้ว่าจะใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น แต่ถ้าสัตว์น้ำย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์เหล่านั้นได้ไม่ดี ก็ส่งผลให้สัตว์น้ำโตช้าเช่นกัน

โดยทั่วไปอาหารเม็ดประกอบด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์หลายอย่างเป็นองค์ประกอบ เช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง รำข้าว แป้งสาลี ฯลฯ ซึ่งเป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าปลาป่นเป็นองค์ประกอบหลัก

ที่สำคัญและมีความจำเป็นที่ต้องนำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากสัตว์น้ำส่วนมากมีความต้องการ โปรตีนมากกว่าสัตว์บก ทำให้ต้องได้รับโปรตีนจากปลาป่น เนื่องจากปลาป่นมีโปรตีนคุณภาพสูงมากประมาณ 55-60 เปอร์เซ็นต์ มีกรดอะมิโนครบถ้วน และยังมีกลิ่นที่ดีช่วยกระตุ้นให้ปลากินอาหารได้มากขึ้น แม้ว่าคุณภาพปลาป่นเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของปลา วิธีการผลิต ฤดูกาล แหล่งของปลา อย่างไรก็ตามในขณะที่เดียวกันราคาของปลาป่นในปัจจุบันกลับมีราคาสูงขึ้น และบางครั้งก็เริ่มหาได้ยากขึ้นอันเป็นผลมาจากการจับปลาทะเลหรือปลาเป็ดจากธรรมชาติที่นำมาใช้ในการผลิตปลาป่นนั้นจับได้ในปริมาณที่ลดลง ทำให้ปลาป่นราคาแพงขึ้น ด้วยเหตุที่ราคาของปลาป่นมีราคาสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ จึงทำให้มีแนวคิดในการหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ มาทดแทนการใช้ปลาป่นบางส่วนเพื่อผลิตอาหารสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางอาหารเท่าเดิม ทำให้สัตว์น้ำโตปกติ แต่ราคาต้นทุนอาหารถูกลง โดยจะใช้แหล่งโปรตีนจากพืชหรือแหล่งอื่นๆ ซึ่งมีราคาถูก และหาได้ง่ายในท้องถิ่นมาแทนที่ปลาป่นบางส่วนในสูตรอาหาร (Vuthiphandchai, 1986) แนวคิดดังกล่าวได้เริ่มมีการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศเพื่อหาวัตถุดิบอาหารสัตว์มาทดแทนปลาป่น โดยการลดปริมาณปลาป่นที่ใช้ในการผลิตอาหารปลาสำเร็จรูปลง โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต เช่นในการใช้โปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นในอาหารในปลา silver perch (*Bidyanus bidyanus*) ของประเทศออสเตรเลีย (Allan, 2000) อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของการพัฒนาสูตรอาหารแนวทางการดังกล่าวจำเป็นต้องทราบว่าสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ มีความสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดที่จะนำไปแทนที่ปลาป่นได้มากน้อยเพียงไร เพราะสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความแตกต่างในเรื่องของความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยอาหารที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นที่จะต้องสกัดเอนไซม์จากกระเพาะอาหารหรือลำไส้ของสัตว์น้ำออกมาก่อน แล้วนำเอนไซม์เหล่านั้นไปย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลอง เพื่อทราบความสามารถที่สัตว์น้ำชนิดนั้นๆ จะย่อยวัตถุดิบแต่ละชนิดได้มากน้อยเท่าไร การที่ทราบว่าสัตว์น้ำย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดได้มากน้อยเท่าไร ทำให้สามารถผลิตสูตรอาหารเลี้ยงสัตว์ได้อย่างเหมาะสม และมั่นใจได้ว่าสัตว์น้ำโตเร็ว

ในปัจจุบันการผลิตสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์น้ำ ผู้เลี้ยงจะกำหนดสูตรอาหารโดยไม่ทราบข้อมูลความสามารถในการย่อยวัตถุดิบเหล่านั้น ทำให้ต้องใช้เวลานานหลายเดือนเพื่อให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตกว่าจะทราบว่าอาหารสูตรไหนดีหรือเหมาะสมที่สุด นอกจากนี้อัตราส่วนของชนิดวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมใส่ลงไปทดแทนปลาป่นส่วนมากก็มักใส่ลงไปสูตรอาหารแบบก้าวกระโดดเช่น 10%, 20%, 30% หรือ 15%, 30%, 45% เป็นต้น ซึ่งถ้าพิจารณาในด้านของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาชนิดใดชนิดหนึ่งก็อาจเป็นไปได้ว่าการใส่แหล่งโปรตีนจากพืชโดยไม่ทราบแท้จริงว่าปลาชนิดนั้นมีความสามารถในการย่อยโปรตีนนั้นได้มากน้อยเพียงไร

โดยเฉพาะปลากินเนื้อ ก็จะมีผลทำให้เสียเวลาในการเลี้ยงโดยที่ปลาเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร ยกตัวอย่างเช่นความสามารถแท้จริงของปลากินเนื้อชนิดหนึ่งในการย่อยกากถั่วเหลืองมีค่า 30% แต่ถ้าผลิตสูตรอาหารเม็ดเลี้ยงปลาชนิดนั้นโดยใช้กากถั่วเหลือง 45% ซึ่งมากกว่าความสามารถที่ปลาชนิดนั้นจะย่อยได้ก็จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารต่ำ และโศก ดังนั้นการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมแนวทางใหม่จึงจำเป็นที่ต้องทราบว่าชนิดสัตว์น้ำที่ศึกษานั้นมีความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้แท้จริงมากน้อยเพียงใดก่อนผลิตเพื่อนำมาทำนายหรือคำนวณสูตรอาหารเม็ดที่จะทำให้สัตว์น้ำโตดี (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002)

จากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นนั้นทำให้การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่จะใช้นำมาทดแทนปลาป่นสำหรับสูตรอาหารปลาคูกลุยนั้นจึงจำเป็นต้องเริ่มจากศึกษาหาชนิดของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาคูกลุยที่พบในช่วงอายุต่างๆเพื่อที่จะได้รู้ชนิดของเอนไซม์ย่อยอาหารที่มีในท้องทางเดินอาหาร หลังจากนั้นจึงสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารออกมาเพื่อนำมาเป็นน้ำย่อยในการทดลองย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ต้องการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) จะได้ทราบถึงชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาคูกลุย เพื่อคัดเลือกนำมาเป็นวัตถุดิบแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาคูกลุย ในอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อไป หลังจากนั้นจึงนำเอาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่คัดเลือกว่าดีที่สุดมาผสมแทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารเลี้ยงปลาคูกลุย เพื่อที่จะดูการเจริญเติบโตเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐานที่ใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบ (standard diet)

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าการผลิตอาหารเม็ดเพื่อการเลี้ยงปลาจำเป็นต้องมีสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี โดยคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมมาใช้เป็นองค์ประกอบในการผลิตอาหาร อย่างไรก็ตามสูตรอาหารสัตว์น้ำที่พัฒนาใช้ในประเทศไทยส่วนมากยังเป็นการนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาใช้ในอัตราส่วนต่างๆกันโดยพยายามลดต้นทุนอาหารโดยการใช้แหล่งโปรตีนจากพืชมาทดแทนปลาป่นและยังต้องทดลองนำอาหารมาเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะเวลา นานกว่าจะทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการนำมาเลี้ยงสัตว์น้ำ การสร้างสูตรอาหารสัตว์น้ำที่เหมาะสมแนวทางใหม่ที่ทำให้มั่นใจได้ว่าสัตว์น้ำจะเจริญเติบโตได้ดีแม้ว่าจะยังไม่นำสูตรอาหารนั้นมาเลี้ยงสัตว์น้ำก็ตามซึ่งสามารถที่จะพัฒนาขึ้นมาได้โดยแนวทางการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำย่อยหรือเอนไซม์ (enzyme) ของสัตว์น้ำในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) เนื่องจากน้ำย่อยหรือเอนไซม์จะถูกสกัดจากลำไส้ของปลาแล้วนำไปย่อยวัตถุดิบที่ต้องการทดสอบในหลอดทดลองโดยตรง ทำให้ทราบ database ว่าน้ำย่อยหรือเอนไซม์สกัดของสัตว์น้ำชนิดหนึ่งชนิดใดสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดได้มากน้อยเพียงไร ซึ่งเมื่อนำชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมไปใช้ในการสร้างสูตรอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำก็จะใช้ในปริมาณที่ไม่เกินความสามารถที่น้ำย่อย

สามารถย่อยได้ดี จึงทำให้สัตว์นำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีและมั่นใจได้ว่าสัตว์น้ำจะโตดีแม้ว่าขณะนั้นยังไม่เอาอาหารไปเลี้ยงสัตว์น้ำก็ตาม ด้วยเหตุที่ปลาดุกอุยซึ่งเป็นปลากินเนื้อ ซึ่งมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนในระบบทางเดินอาหาร และมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายทั่วไป อีกทั้งสามารถกินอาหารเม็ดได้ดี จึงมีความเหมาะสมในการนำมาเป็น model ศึกษาวิธีการประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชหรือแหล่งอื่นๆที่หาง่ายและราคาถูกก่อนผลิตสูตรอาหารเพื่อทราบถึงความสามารถแท้จริงของเอนไซม์ trypsin (ทริปซิน) และ chymotrypsin (ไคโมทริปซิน) ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์เหล่านั้นเพื่อการทดแทนการใช้ปลาป่น

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาในขั้นเริ่มต้นของการศึกษาทางด้านเอนไซม์ย่อยอาหารในประเทศไทย ซึ่งยังขาดการศึกษาทางด้านกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ในปลา โดยเฉพาะเอนไซม์ย่อยโปรตีนเพื่อการพัฒนาเทคโนโลยีการสร้างสูตรอาหารปลา ดังนั้นการที่ทราบความสามารถหรือกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารปลาดุกอุย จึงเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ในการพัฒนาสูตรอาหารปลาปลาดุกอุย และยังเป็นประโยชน์ต่อการจัดการด้านโภชนาการในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หาง่ายและมีราคาถูกเพื่อที่จะใช้เป็นแนวทางใหม่ในการสร้างสูตรอาหารที่มีคุณค่าสูงต่อการเพาะเลี้ยงปลาดุกอุย เพื่อสร้างประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาดุกอุยต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ของปลาดุกอุยในช่วงที่มีอายุต่าง ๆ กัน

2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) ของปลาดุกอุยโดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่แตกต่างกัน

2.3 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม

3. ประโยชน์ที่ได้รับ

3.1 ทราบความสามารถหรือกิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาดุกอุยเมื่อปลาดุกอุยมีอายุแตกต่างกัน

3.2 ทราบถึงชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์และปริมาณที่เหมาะสมที่นำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในการผลิตอาหารเลี้ยงปลาดุกอุย

3.3 ได้พัฒนาเทคโนโลยีการศึกษากิจกรรมหรือความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองเพื่อผลิตสูตรอาหารในการเลี้ยงปลาดุกอุย ซึ่งสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการผลิตสูตรอาหารเลี้ยงปลาชนิดอื่นๆของประเทศไทยต่อไป

4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความต้องการอาหารของสัตว์น้ำ และการศึกษาด้าน enzyme activity และ *in vitro* digestibility ในอาหารสัตว์น้ำได้มีการศึกษาในประเทศและต่างประเทศมีพอสรุปได้ดังนี้

Walford and Lam (1993) ศึกษาพัฒนาการของทางเดินอาหารและแอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยโปรตีนของปลาดุกอุยระยะ larval และระยะ juvenile พบว่ากระเพาะอาหารและกล้ามเนื้อหูรูด (pyloric sphincter) ยังไม่ก่อตัวจนกระทั่งอายุ 13 วันหลังจากฟักออกจากไข่ และจะสมบูรณ์เมื่ออายุได้ 17 วัน เช่นเดียวกันกับคัสติตันวิลัยและคณะ (2528) ได้ทำการศึกษการพัฒนาการของลูกปลากะพงขาววัยอ่อนพบว่าเมื่อลูกปลาดุกอุยเข้าสู่ระยะ flexure ทางเดินอาหารจะพัฒนาควบคู่ไปกับอวัยวะอื่นๆ การพัฒนาของทางเดินอาหารจะเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ

ในการศึกษาขั้นต่อมาคือการศึกษาด้านการทำงานและคุณสมบัติของเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดย Bassompierre *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองและการเจริญเติบโตของปลา Atlantic salmon ที่มีความแตกต่างกันของ trypsin isozyme พบว่ามีรูปแบบของ iso-trypsin 3 รูปแบบคือ รูปแบบ 1, รูปแบบ 2 และ รูปแบบ 2' ซึ่งปลา salmon ที่มีรูปแบบเป็น 2' จะมีอัตราการเติบโตจำเพาะน้อยกว่าแบบที่ 1 และ 2 ส่วนการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองโดยใช้เนื้อปลาลิ้น 3 คุณภาพ คือ คุณภาพสูง กลาง และต่ำตามลำดับพบว่าในรูปแบบที่ 1 สามารถย่อยเนื้อปลาลิ้นที่มีคุณภาพสูงมากที่สุด รองลงมาที่เป็นเนื้อปลาลิ้นคุณภาพกลางและเล็กน้อยตามลำดับส่วนในรูปแบบ 2 และ 2' ไม่สามารถแบ่งได้อย่างชัดเจน

ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำพบว่าที่อวัยวะต่างกันจะมีสัดส่วนของเอนไซม์ย่อยอาหารคล้ายๆกัน โดย Torrisen (1984) ได้ทำการศึกษางานและคุณสมบัติของโปรติเอสในทางเดินอาหารของปลา Atlantic salmon และปลา rainbow trout พบว่าคุณสมบัติของเอนไซม์ที่แยกได้จากกระเพาะอาหารของปลา 2 ชนิดจะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และจากลำไส้เล็กก็จะคล้ายคลึงกันด้วยแต่คุณสมบัติของเอนไซม์ในปลาชนิดเดียวกันที่สกัดได้จากกระเพาะอาหารจะแตกต่างกันไปจากที่สกัดได้จากลำไส้เล็ก สอดคล้องกับการศึกษาของอัญชลี คงสมบูรณ์ (2530) ซึ่งได้ศึกษารูปแบบเอนไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลาดุกอุยซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกันโดยศึกษารูปแบบการพัฒนาการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหาร(ไคตินเนส ทริปซิน เปปซิน และอะไมเลส) ในทางเดินอาหาร 3 ส่วน คือ กระเพาะ

อาหาร(หลอดอาหาร-กระเพาะอาหาร) ลำไส้(ไส้ติ่ง-ทวารหนัก) และส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมด (หลอดอาหาร-ทวารหนัก) พบว่าเอนไซม์โคติเนสทำงานได้ดีที่สุดในที่ pH 4.5-5.5 และมีรูปแบบการสังเคราะห์เอนไซม์คล้ายคลึงกันในทุกส่วนของทางเดินอาหารและไม่สัมพันธ์กับอายุของลูกปลา ส่วนทรูปซินจะตรวจพบแอกติวิตี้ได้ในส่วนของลำไส้เท่านั้นและทำงานได้ดีที่ pH 8-9 โดยมีรูปแบบการพัฒนาของเอนไซม์สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและความเข้มข้นของโปรตีนในทางเดินอาหาร จะพบเปปซินแอกติวิตี้ได้ทั้ง 2 ส่วนของทางเดินอาหาร แต่จะมีค่าสูงที่บริเวณกระเพาะอาหาร ส่วนเอนไซม์อะไมเลสไม่สามารถตรวจพบแอกติวิตี้ได้เลยในทุกส่วนของทางเดินอาหารตลอดระยะเวลาทำการทดลอง

ปัจจัยต่างๆทั้งจากอายุ อิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมและพฤติกรรมการกินอาหาร จะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารของสัตว์น้ำดังเช่น Kuz'mina (1996) ทำการศึกษาอิทธิพลของอายุต่อแอกติวิตี้ของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาน้ำจืด พบว่าคาร์โบไฮเดรสแอกติวิตี้จะมีความผันแปรมากกว่าแอกติวิตี้ของโปรติเอส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ตามอายุที่เปลี่ยนไป การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการกินอาหารของปลา โดยปลาที่ล่าเหยื่อจะมีแอกติวิตี้ของ amylase และ sucrase ลดลงแต่จะมีแอกติวิตี้ของ protease เพิ่มขึ้น และมีการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ย่อยอาหารในลูกปลาระยะ larvae และระยะ juvenile การเปลี่ยนระดับของโปรตีนในอาหารก็มีผลต่อแอกติวิตี้ของเอนไซม์ย่อยอาหารในสัตว์น้ำ เช่นในกุ้ง *Penaeus vannamei* ซึ่ง Moullac et al. (1997) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ย่อยอาหารจำพวกโปรตีน โดยดูจากระดับของแอกติวิตี้ของเอนไซม์ โดยการเพิ่มระดับเคซีนจาก 25 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 48 เปอร์เซ็นต์ส่วนแป้งและส่วนประกอบอื่นๆจะไม่เพิ่มขึ้น พบว่าแอกติวิตี้ของไคโมทรูปซินจะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น แอกติวิตี้ของอะไมเลสจะลดลงเมื่อปริมาณเคซีนเพิ่มขึ้น ในการทดลองชุดเดียวกันนี้ยังมีการเปรียบเทียบแอกติวิตี้ของไคโมทรูปซินโดยใช้โปรตีนจากเจลาติน เนื้อปลาหมึกและเนื้อปลาพบว่าแอกติวิตี้สูงสุดของไคโมทรูปซินจะอยู่ที่ปลาหมึกและน้อยสุดในเจลาติน วิชัย วัฒนกุลและคณะ (2540) ได้ทำการศึกษากการพัฒนาเอนไซม์ย่อยในลูกปลากระังวัยอ่อน *Epinephelus coioides* ที่มีอายุ 2- 60 วันโดยใช้อาร์ทีเมีย โรติเฟอร์และเนื้อปลาสดเป็นอาหารพบว่าเอนไซม์ย่อย trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase A และ alpha amylase สามารถตรวจวัดได้เมื่อลูกปลามีอายุได้ 2 วัน ส่วน pepsin เริ่มตรวจวัดได้เมื่อลูกปลาอายุ 8 วัน ส่วนความว่องไวจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ย่อยในลูกปลาที่มีอายุ 2-22 วันไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงตามการเจริญเติบโต เมื่อลูกปลามีอายุมากกว่า 30 วัน จะมีความว่องไวจำเพาะของเอนไซม์ย่อยเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโต เมื่อลูกปลามีอายุได้ 38 วันความว่องไวจำเพาะของเอนไซม์ย่อยทั้ง 5 ชนิดมีค่าเพิ่มขึ้น 2.4-132.5 เท่าของความว่องไวจำเพาะที่วัดเมื่อลูกปลาอายุ 2 วัน

McGoogan and Reigh (1996) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ของปลา Red drum (*Sciaenops ocellatus*) ในเลือดปน ข้าวโพดปน เมล็ดฝ้าย ข้าวฟ่าง เนื้อและกระดูกปน ปลาปน รำข้าว กาก

ถั่วเหลือง พบว่าปลาที่มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบอาหารสัตว์ทุกชนิดอยู่ในช่วง 74 – 100 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงที่สุดในอาหารสัตว์ที่มีโปรตีนสูง

นอกจากที่กล่าวมาแล้วยังมีการประยุกต์การศึกษาทางด้านเอนไซม์ย่อยอาหาร เช่น การศึกษาเกี่ยวกับวิธีการพื้นฐานในการวัดประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองโดยศึกษาในเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดออกมาจากระบบทางเดินอาหารของปลา carp มาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการย่อยอาหารจากวิธีใช้อินดิเคเตอร์พบว่าประสิทธิภาพการย่อยอาหารทั้งแบบย่อยในหลอดแก้วและแบบในตัวปลาจะมีค่าและแนวโน้มที่ใกล้เคียงกัน (Eid and Matty, 1989)

สำหรับการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทต่างๆในการเลี้ยงปลาให้เจริญเติบโต ได้มีผู้ศึกษาจำนวนมากเช่น

Bishop *et al.* (1995) ศึกษาการใช้ขนไก่ป่นแทนปลาป่นในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในปริมาณ 0 33 66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ลูกปลาเริ่มการทดลองน้ำหนัก 12.3 กรัม ทำการทดลอง 42 วัน พบว่าอัตราการรอดของลูกปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 สูตรไม่แตกต่างกัน แต่การใช้ปริมาณขนไก่ป่นแทนปลาป่นสูงถึง 66 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญเติบโตของลูกปลานิลเป็นไปได้ไม่ดี และการใช้ขนไก่ป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา มีน้ำหนักน้อยซึ่งส่งผลถึงการเจริญเติบโต

Deng *et al.* (2006) ศึกษาการเจริญเติบโตและการกินอาหารของปลา Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) ระยะ juvenile โดยใช้โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein concentrate) แทนที่ปลาป่นในสูตรอาหาร 6 สูตรที่ 0 25 50 75 87.5 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่มีการแทนที่ปลาป่น 0 และ 25 เปอร์เซ็นต์ มีการกินอาหารสูงกว่าปลากลุ่มอื่น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงเมื่อในสูตรอาหารมีโปรตีนถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น แต่โปรตีนถั่วเหลืองก็ยังไม่สามารถนำมาทดแทนปลาป่นได้ เนื่องจากทำให้ปลากินอาหารได้น้อยลง และมีความไม่สมดุลของกรดอะมิโน

Gomes *et al.* (1994) ศึกษาการใช้วัตถุดิบประเภทโปรตีนจากพืชที่ให้พลังงานและโปรตีนใกล้เคียงกัน คือ ถั่วเหลืองอบ คอรั้น กุลูเตน มีด และกากถั่วเหลือง มาผสมกันแล้วให้แทนที่ปลาป่นลงในสูตรอาหารปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 4 สูตร ในปริมาณ 0 33 66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถใช้โปรตีนจากพืชแทนปลาป่นได้ถึง 66 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา rainbow trout

เอนไซม์ คือ ตัวเร่งที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต (biocatalyst) ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นได้ถึง $10^8 - 10^{10}$ เท่าของปฏิกิริยาเดิมที่ไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง ในปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งนั้นสารที่เข้าร่วมทำปฏิกิริยากัน (reactant) มีชื่อเรียกว่าสับสเตรท (substrate) โดยส่วนใหญ่แล้ว

เอนไซม์ชนิดต่างๆ จะสามารถเร่งปฏิกิริยาที่มีสับสเตรทชนิดใดชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะเท่านั้น นั่นคือ เอนไซม์เป็นตัวเร่งที่มีความจำเพาะต่อสับสเตรท (พัชรา วีระกะลัส, 2541)

เอนไซม์ย่อยอาหารหรือน้ำย่อยที่พบทั่วไป ได้แก่ เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteinases) เอนไซม์ย่อยไขมัน (lipases) และเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต (carbohydrases) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ (digestive enzyme activity) เหล่านี้จะมีประสิทธิภาพแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ปลาจะมีการหลั่งเอนไซม์มากขึ้น รวมทั้งมีประสิทธิภาพการทำงานดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากร่างกายมีเมตาบอลิซึมสูงขึ้น (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536)

การย่อยอาหารเริ่มจากเมื่ออาหารเข้าปากจะถูกบดและย่อยขนาดให้เล็กลงจนละเอียดแล้วผ่านลงสู่กระเพาะอาหาร กระเพาะอาหารจะหลั่งกรดเกลือไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปปซินोजেন (pepsinogen) จากกระเพาะอาหารซึ่งอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถย่อยโปรตีนได้ ให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์เปปซิน (pepsin) ที่สามารถย่อยโปรตีนได้ ขณะเดียวกันกระเพาะอาหารจะหลั่งเมือก (mucin) ออกมาเคลือบอาหารและคลุมผิวหนังเซลล์ชั้นในของกระเพาะอาหาร ซึ่งทำหน้าที่ผลิตกรดเกลือและเปปซินोजেনเพื่อป้องกันการถูกกรดเกลือย่อยตัวเอง เมื่ออาหารมาถึงลำไส้ซึ่งมีเอนไซม์ที่สร้างโดยตับอ่อน เรียกว่าทริปซินोजেন (trypsinogen) และไคโมทริปซินोजেন (chymotrypsinogen) โดยที่ทริปซินोजেনและไคโมทริปซินोजেনเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในสภาพที่ยังไม่สามารถย่อยโปรตีนได้ ทริปซินोजินจะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์เอนเทอโรไคเนส (enterokinase) จากลำไส้และเปลี่ยนเป็นทริปซิน (trypsin) ที่สามารถย่อยโปรตีนได้ ส่วนไคโมทริปซินोजินจะถูกเปลี่ยนเป็นไคโมทริปซิน (chymotrypsin) ที่สามารถย่อยโปรตีนได้โดยเอนไซม์ทริปซิน

ทริปซินและไคโมทริปซินย่อยโปรตีน (protease) ซึ่งถูกส่งมาจากกระเพาะให้เป็นโมเลกุลที่มีสายเปปไทด์สั้นลง เรียกว่าเปปโตน (peptone) และโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ตามลำดับ จากนั้นเอนไซม์หลายชนิดในกลุ่มอะมิโนเปปติเดส (aminopeptidase) จากผนังลำไส้จะย่อยเปปโตนให้เป็นโพลีเปปไทด์ ซึ่งมีขนาดเล็กและโพลีเปปไทด์ถูกย่อยต่อเป็นไตรเปปไทด์ (tripeptides) และไดเปปไทด์ (dipeptides) จนในที่สุดเหลือกรดอะมิโนแต่ละโมเลกุลซึ่งมีขนาดเล็กที่สุดของสารอาหาร โปรตีน (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543)

5. วิธีดำเนินการทดลอง

5.1 การวางแผนการทดลอง (Experimental design)

ในการที่จะหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมที่จะนำมาทดแทนโปรตีนแทนปลาป่นนั้น ต้องมีการศึกษาอย่างครบวงจร โดยในเบื้องต้นมีการเตรียมตัวอย่างปลาถูกย่อยโดยการเลี้ยงไว้ในถังทดลอง

ต่อจากนั้นก็นำตัวอย่างปลาดุกอุยมาผ่าตัดเพื่อเอากระเพาะอาหารและลำไส้ออกมาเพื่อที่จะนำไปสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร (crude digestive enzyme) เมื่อได้เอนไซม์ย่อยอาหารเสร็จแล้ว จึงนำเอนไซม์ย่อยอาหารไปวัดหาค่ากิจกรรมหรือแอกติวิตี (activity) ของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน สำหรับการวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองจะใช้วัตถุดิบที่มีแหล่งโปรตีนจากชนิดต่างกัน และเมื่อได้แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้วจะนำวัตถุดิบชนิดนั้นไปผสมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาดุกอุยเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐานต่อไปโดยการทดลองทั้งหมดทำทดลอง 3 ซ้ำ

5.2 การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร (enzyme activity) ของปลาดุกอุย

นำปลาดุกอุยอายุประมาณ 1 เดือน มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด $1 \times 1.5 \times 1$ เมตร ไว้ที่บริเวณโรงเพาะฟักของภาควิชาวริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เป็นเวลา 3 เดือนโดยให้มีความหนาแน่น 500 ตัว / บ่อ น้ำจืดที่ใช้เลี้ยงปลาได้ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 10% ในอัตราส่วน 30 ppm ให้ปลาปรับสภาพโดยงดให้อาหารในวันแรกเพื่อให้ปลาลดความเครียด วันที่ 2 เริ่มให้อาหารเป็นอาหารเม็ด โดยให้กินอาหารเม็ดชนิดลอยน้ำโปรตีน 32 % วันละ 2 มื้อ ในเวลาประมาณ 8.30 น. และ 16.00 น. หลังจากการให้อาหารประมาณ 30 นาที ทำการตักอาหารที่เหลือออกเพื่อไม่ให้เน่าเสีย มีการดูดตะกอนเศษอาหาร สิ่งขับถ่าย และเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 50% ของปริมาตรน้ำทั้งหมดทุกๆ 3 วัน เมื่อเปลี่ยนถ่ายน้ำเสร็จใส่เกลือ 0.5% เพื่อช่วยลดความเครียดของปลาและเป็นการฆ่าปรสิต และมีการให้อากาศอย่างเพียงพอ เก็บปลาดุกอุยมาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวเก็บกระเพาะและลำไส้ทุก ๆ 15 วัน สกัดเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน (crude digestive enzyme) ในช่วงอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน และวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่อง UV-Visible NIR Spectrophotometer เพื่อที่จะได้ทราบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการที่จะวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง การสุ่มตัวอย่างทำครั้งละประมาณ 4-6 ตัว โดยขึ้นอยู่กับขนาดของปลาดุกอุย ผ่าตัดเอากระเพาะและลำไส้ออกมาเป็น pooled samples

การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารออกมาจากปลาดุกเล็กให้นำปลาดุกเล็กมาบดทั้งตัว ส่วนปลาดุกโตขึ้นมาก็ให้นำมาทำการผ่าตัดเอากระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กออกมาโดยทำการผ่าหลังจากการให้อาหารไปได้ 90 นาที หลังจากนั้นนำมาสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารออกมา ในกรณีที่ยังไม่สกัดเอนไซม์ออกมาก็ให้นำกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อที่จะรักษาสภาพของเอนไซม์ย่อยอาหารก่อนที่จะนำไปสกัดหาเอนไซม์อีกต่อไป (Rungruangsak-Torrison *et al.*, 2002)

5.3 การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร

นำกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาดุกอุยที่ทำการผ่าไว้แล้วมาบดใน 50 mM Tris buffer pH 8.0 ที่มี 200 mM NaCl ในอัตราส่วน 1: 3 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อทำการบดละเอียดแล้วให้นำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 15000 x g เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดเอาส่วนที่เป็นของเหลวออกมาโดยระวังไม่ให้ดูดเอาส่วนที่เป็นไขมันที่ลอยอยู่ข้างบนออกไปด้วย แล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ในการหาแอกติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซิน และประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบในหลอดทดลองต่อไป (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002)

การทำ Dialysis ทำโดยตัดถุง dialyse ตามความยาวที่ต้องการ (ประมาณ 25 เซนติเมตร) (Dialysis Tubing Cellulose, membrane size : 10 mm*6mm, membrane cell : 10-14*100CLR, Sigma-Adrich) นำถุง dialyse ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มี 100 mM NaHCO_3 และ 10 mM EDTA, pH 7.0 ที่ตั้งบน hot plate และต้มสารละลายจนเดือด โดยต้มประมาณ 5 นาที รินสารละลายออกและล้างถุง dialyse โดยการแช่ในน้ำกลั่น ประมาณ 10 นาที ทำซ้ำอย่างน้อย 4 ครั้ง แล้วนำถุง dialyse ไปใช้ทันที

นำถุง dialyse ที่เตรียมไว้มาใส่เอนไซม์ที่สกัดไว้ ทำที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำถุง dialyse ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีสารละลาย 10 mM phosphate buffer, pH 7.8 ทำการกวนตลอดเวลาโดยใช้เครื่องกวนแบบมีแท่งแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้งาน

5.4 การวัดแอกติวิตีของทริปซิน (trypsin activity)

ในการวัดแอกติวิตีของทริปซินนั้นจะวัดจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างทริปซินกับสเตรต (1.25 mM benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide) ที่ละลายใน 0.2 M Tris-HCl buffer pH 8.4 ซึ่งมี 5% dimethylformamide และเอนไซม์ที่สกัดไว้แล้ว ทริปซินแอกติวิตี (แสดงผลเป็น $\mu\text{mol p-nitroaniline h}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) ทราบโดยการพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร โดยความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลาดุกอุยจะทราบโดยใช้วิธี Bio-Rad DC (detergent-compatible) protein assay (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002) ในการวัดแอกติวิตีของทริปซินจะวัดแอกติวิตีที่อุณหภูมิ 30 - 70 องศาเซลเซียส โดยมีระยะห่างช่วงละ 5 องศา เพื่อที่จะหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการศึกษาแอกติวิตีของทริปซินต่อไป

5.5 การวัดแอกติวิตีของไคโมทริปซิน (chymotrypsin activity)

แอกติวิตีของไคโมทริปซินทราบโดยการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสับสเตรต (0.1 mM N-succinyl-Ala-Ala-Pro-phe-p-nitroanilide ใน 0.2 M Tris-buffer pH 8.4 โดยมี 5% dimethylformamide และเอนไซม์ที่สกัดไว้แล้ว ทริปซินแอกติวิตี (แสดงผลเป็น $\mu\text{mol p-nitroaniline h}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ p-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร ส่วนความเข้มข้นของโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารทำได้วิธีเดียวกับทริปซิน (Rungruangsak-Torrison et al., 2002) ในการวัดแอกติวิตีของไคโมทริปซินจะวัดแอกติวิตีที่อุณหภูมิ 20 - 60 องศาเซลเซียส โดยมีระยะห่างช่วงละ 5 องศา เพื่อที่จะหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดแอกติวิตีของไคโมทริปซิน

5.6 การวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหารโดยวิธี Bio-Rad DC assay

นำเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะและลำไส้มาเจือจางในอัตราส่วน 1/50 ด้วย 50-mM Tris-HCl buffer, pH 8.0 โดยมี 200 mM NaCl ละลายอยู่ด้วย แล้ว ปิเปตสารละลายจากข้อมา 50 μL มาผสมลงใน 250 μL reagent A เขย่าให้เข้ากัน จึงนำสารละลายที่ได้มาผสมลงใน 2 ml reagent B เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรแล้วนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน โดยใช้ BSA เป็นกราฟมาตรฐาน

5.7 ประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility)

การหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการทดแทนปลาป่นจะมีการศึกษาเพื่อที่จะทราบว่าแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นโปรตีนชนิดใดจะถูกย่อยได้ดีนั้นจะทำได้โดยการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง การทดลองการหาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลองนั้นจะทำการทดลองในสภาพที่มีสภาพความเป็นกรด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมซึ่งทราบได้จากการทดลองหาเอนไซม์แอกติวิตีของทริปซินและไคโมทริปซินก่อนหน้านี้ โดยวัตถุดิบที่จะนำมาทดลองย่อยในการศึกษา ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แกลบกุ้ง และเมล็ดถั่วเหลือง

ขั้นตอนการศึกษาเริ่มจากนำตัวอย่างวัตถุดิบที่ศึกษามา 20 มิลลิกรัมมาผสมกับ 50 mM phosphate buffer (pH 8.2) ปริมาตร 40 มิลลิลิตรและ 0.2 มิลลิลิตรของคลอแรมฟินิคอล (0.5 w/v % ใน 96 % ethanal) อย่างใดก็ตามก่อนที่จะทำการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ในหลอดทดลองจะดูดสารผสมวัตถุดิบอาหารสัตว์ออกมา 0.5 มิลลิลิตรเพื่อที่จะทำเป็นชุดควบคุมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์

กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป จากนั้นนำส่วนสารผสมวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหลือเติมเอนไซม์ย่อยอาหาร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร (โดยทำการ dialyse เอนไซม์ย่อยอาหารใน 10 mM phosphate buffer pH 7.8 เป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อน) แล้วนำไปแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องแล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป เมื่อได้แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมในการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้วนำวัตถุดิบชนิดนั้นไปผสมลงในอาหารเพื่อทดลองเลี้ยงปลาที่อยู่ในเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างกันเพื่อที่จะได้ทราบว่าสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้สามารถนำมาผสมลงในอาหารเลี้ยงปลาถูกยาก็เปอร์เซ็นต์จึงจะมีความเหมาะสมในการนำวัตถุดิบมาทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาถูกยต่อไป

5.7.1 การหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสมในการทดแทนปลาป่น

เพื่อที่จะทราบว่าแหล่งวัตถุดิบที่เป็นโปรตีนชนิดใดจะถูกย่อยได้ดีนั้นจะต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง ในการทดลองการหาประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลองนั้นได้ทำการทดลองโดยนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากกระเพาะและลำไส้ของปลาถูกยที่มีอายุ 3 เดือน โดยวัตถุดิบที่นำมาทดลองย่อยคือปลาป่น กากถั่วเหลือง แกลบคั่ว เมล็ดถั่วเหลือง

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

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

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

5.7.1.4 นำส่วนสารผสมวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหลือจากข้อ 5.7.1.3 ทั้งหมดมาเติมเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดออกมาจากกระเพาะและลำไส้ของปลาถูกยปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร

5.7.1.5 นำสารที่ได้จากข้อ 5.7.1.4 ไปแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) แล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อเก็บไว้รอการวิเคราะห์กลุ่มอะมิโนอิสระต่อไป (Rungruangsak-Torrison และคณะ, 2002)

5.8 การวัดกลุ่มอะมิโนอิสระ

ผลิตภัณฑ์ของกลุ่มอะมิโนอิสระสามารถทำได้โดยวิธีการใช้ TNBS (trinitrobenzene sulphonic acid)

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

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

5.8.3 เมื่อผสมกันเสร็จแล้วให้นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยทำในที่ที่ไม่มีแสงสว่าง

5.8.4 หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 1 N HCl ปริมาตร 1,000 μL และนำมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.8.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มแสง 420 นาโนเมตร โดยนำ D,L alanine มาทำเป็นกราฟมาตรฐาน (Rungruangsak-Torrison *et al.*, 2002)

5.9 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองการประสิทธิผลการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้แหล่งโปรตีนสำรองบางชนิดที่ให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองดีที่สุด มาทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลาดุกอุย โดยใช้อาหารทดลอง 4 สูตร (ตารางที่ 1) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีดังในตารางที่ 2 และตารางที่ 3

1. อาหารสูตรควบคุมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก
2. อาหารที่ใช้โปรตีนทดแทนปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์
3. อาหารที่ใช้โปรตีนทดแทนปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์
4. อาหารที่ใช้โปรตีนทดแทนปลาป่น 40 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบวัตถุดิบอาหารสัตว์ของอาหารทั้ง 4 สูตร

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	สูตรอาหารที่			
	1	2	3	4
ปลาป่น	60.00	48.00	42.00	36.00
กากถั่วเหลือง	-	16.80	25.20	33.60
รำละเอียด	20.00	20.00	20.00	20.00
แป้งเหนียว	14.00	9.20	6.80	4.40
น้ำมันปลา	4.00	4.00	4.00	4.00
พรีมิกซ์	1.60	1.60	1.60	1.60
สารเหนียว	0.40	0.40	0.40	0.40
รวม	100	100	100	100

ตารางที่ 2 ระดับโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต (NFE) ที่ได้จากการวิเคราะห์ และพลังงานในอาหารทดลอง

คุณค่าทางโภชนาการ (เปอร์เซ็นต์)	สูตรอาหารทดลองที่			
	1	2	3	4
โปรตีน	35.24	35.41	35.32	35.19
ไขมัน	10.74	10.95	11.13	11.06
NFE*	26.43	26.56	26.56	27.17
พลังงาน**	410.04	411.26	412.35	413.04
P:E Ratio***	85.94	86.10	85.65	85.20

*Nitrogen Free Extract (คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้) = $100 - (\% \text{ โปรตีน} + \% \text{ ไขมัน} + \% \text{ ความชื้น} + \% \text{ เถ้า} + \% \text{ เชื้อใย})$

**Gross Energy (กิโลแคลอรี / 100 กรัม อาหาร): คำนวณจากค่าพลังงานของโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 5.7 9.5 และ 4 กิโลแคลอรี/กรัม

*** P:E Ratio = Energy ratio in mg Protein/kcal of gross energy

ตารางที่ 3 Proximate composition ที่ได้จากการวิเคราะห์ ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง (%น้ำหนักแห้ง)

ชนิดของวัตถุดิบ	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	NFE*
ปลาป่น	6.54	56.02	8.76	23.98	0.68	4.02
กากถั่วเหลือง	11.63	39.79	3.79	7.15	5.89	31.75
รำละเอียด	9.81	11.26	13.97	7.74	6.42	50.80
แป้งเหนียว	9.51	1.06	0.04	0.09	0.08	89.22

*NFE = คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ

5.10 การเลี้ยงปลาดุกด้วยสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม

ใช้ลูกปลาดุกอายุ 75 วัน ขนาดความยาวลำตัวประมาณ 5-8 เซนติเมตร จำนวน 600 ตัว มาเลี้ยงปรับสภาพในบ่อซีเมนต์ขนาด 1×1.5 เมตร ที่ความเค็ม 0 ppt โดยฝึกให้ลูกปลากินอาหารเม็ดสูตรควบคุมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 360 ตัว มาทำการทดลอง โดยสุมปลาลงเลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 0.8×1.2 เมตร บ่อละ 30 ตัว จำนวน 12 บ่อ

ทำการผลิตอาหารเม็ดแห้ง (dry pellet) จำนวน 4 สูตร โดยให้มีระดับโปรตีนเท่ากันทุกสูตรที่ 35 เปอร์เซ็นต์ และไขมันเท่ากันทุกสูตรที่ 10 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งวัตถุดิบที่ได้ทำการบดละเอียดตามส่วนประกอบต่างๆ ตามสูตร จากนั้นนำวัตถุดิบต่างๆ มาผสมกันในเครื่องผสมอาหารชนิด horizontal mixer ผสมให้เข้ากันสักระยะหนึ่งประมาณ 10 นาที จึงทำการผสมวิตามินลงและแร่ธาตุตามลงไป เมื่อวัตถุดิบอาหารต่างๆ รวมทั้งพรีมิกซ์ผสมกันเข้ากันดีแล้วจึงใส่น้ำมันปลาสดตามลงไปเป็นอันดับสุดท้าย ทำการผสมสักระยะหนึ่งเพื่อให้ส่วนผสมทั้งหมดเข้ากันดีแล้วจึงเติมน้ำสะอาดลงไป 25-30 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแล้วทำการผสมต่อไปจนส่วนผสมรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันเป็นก้อนเมื่อบีบ และไม่ร่วนเป็นผง จึงนำไปอัดเม็ดต่อไป อาหารที่ได้อัดเม็ดออกมานำไปอบที่เครื่องอบแห้ง เพื่อนำไปใช้ในการทดลองเลี้ยงปลาต่อไป

นำลูกปลาดุกที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 5.3 ± 0.47 กรัมมาเลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 0.8×1.2 เมตร โดยสุมปล่อยปลา 30 ตัวต่อ 1 ถังไฟเบอร์ ให้อาหารปลากินอิ่มวันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00-9.00 นาฬิกา และ 16.00-17.00 นาฬิกา ทุกวัน (ยกเว้นวันทำการชั่งวัด จะให้อาหารตอนเย็นครั้งเดียว) บันทึกปริมาณ

อาหารที่ให้ทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 30 เปอร์เซ็นต์ทุกสัปดาห์ พร้อมใช้ Oxytetracycline 5 ppm เพื่อป้องกันการระบาดของเชื้อโรคในระหว่างการเลี้ยงปลา

5.11 การบันทึกข้อมูลการเลี้ยงปลาดุกอุย

5.11.1 น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Average Daily weight Gain : ADG)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาทดลอง (วัน)}}$$

5.11.2 อัตราการรอดตาย (Survival Rate : SR%)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่รอดตายในแต่ละครั้งที่ช่วงวัด}}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มทดลอง}} \times 100$$

5.11.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate : SGR%)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น})}{\text{จำนวนวัน}} \times 100$$

5.11.4 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Food Conversion Rate : FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

5.11.5 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio : PER)

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

5.11.6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain : WG%)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}} \times 100$$

5.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองด้วย ANOVA โดยข้อมูลแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เมื่อมีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง จึงนำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างการทดลองด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

6. ผลการทดลอง

ผลการทดลองสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ตอน คือ

6.1 การศึกษาแอกติวิตีของทริปซินในปลาอุกอุย

6.2 การศึกษาแอกติวิตีของไลโซทริปซินในปลาอุกอุย

6.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลาอุกอุย

6.4 ศึกษาการเจริญเติบโตของปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม

6.1 การศึกษาแอกติวิตีของทริปซินในปลาอุกอุย

การศึกษาแอกติวิตีของทริปซินในปลาอุกอุยอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน ในการทดลองนี้ศึกษาจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างทริปซินกับสเตรท (1.25 mM benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide ใน 0.2 M Tris-HCl buffer, pH 8.4) กับเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาอุกอุยที่อุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 70 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ *p*-nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อชั่วโมง จากการศึกษาค้นคว้าได้แสดงผลในตารางที่ 4 พบว่าค่าแอกติวิตีของทริปซินที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าโดยเฉลี่ยแล้วเท่ากับ 2.12 6.28 14.08 18.81 23.66 24.69 28.51 37.72 30.51 18.98 และ 14.77 $\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$

ค่าแอกติวิตีของทริปซินในแต่ละอุณหภูมิ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แบ่งเป็น 9 กลุ่ม โดยค่าแอกติวิตีของทริปซินที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคืออุณหภูมิ 60 50 45 40 อุณหภูมิที่ 65 และ 35 องศาเซลเซียส มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อุณหภูมิที่ 30 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และรองลงมาคืออุณหภูมิที่ 25 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยค่าแอกติวิตีของทริปซินจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากอุณหภูมิ 20 ถึง 50 องศาเซลเซียส จนมีระดับสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส แอกติวิตีของทริปซินจะมีค่าลดลง

เมื่อศึกษาแอกติวิตีของทริปซินของปลาอุกอุยที่มีอายุแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าแอกติวิตีของทริปซินมีระดับสูงสุดที่อายุ 90 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุอื่นๆ

เมื่อนำค่าแอกติวิตีของทริปซินมาหาแอกติวิตีจำเพาะโดยนำค่าแอกติวิตี ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$) มาหารด้วยปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ (mg/ml) ซึ่งปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ของปลาอุกอุยที่มีอายุ 45 ถึง 120 วัน มีปริมาณดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แอคติวิตีของทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$) ของปลาอุกอุยที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิ
ต่างกัน

อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	45 วัน	60 วัน	75 วัน	90 วัน	105 วัน	120 วัน
20	1.44 $\pm$ 0.15 ^{a,1}	1.71 $\pm$ 0.11 ^{a,1}	2.79 $\pm$ 0.11 ^{a,4}	2.12 $\pm$ 0.03 ^{a,2}	2.50 $\pm$ 0.05 ^{a,3}	2.18 $\pm$ 0.06 ^{a,2}
25	5.30 $\pm$ 1.16 ^{b,12}	7.44 $\pm$ 2.10 ^{b,23}	10.33 $\pm$ 0.15 ^{b,3}	10.13 $\pm$ 0.17 ^{b,3}	2.18 $\pm$ 0.05 ^{a,1}	2.33 $\pm$ 0.19 ^{a,1}
30	11.42 $\pm$ 0.40 ^{c,1}	12.59 $\pm$ 0.22 ^{c,12}	14.00 $\pm$ 1.51 ^{c,23}	12.64 $\pm$ 0.16 ^{c,12}	18.16 $\pm$ 0.47 ^{bc,4}	15.70 $\pm$ 0.10 ^{b,3}
35	13.89 $\pm$ 0.29 ^{cd,1}	15.68 $\pm$ 0.14 ^{c,2}	19.41 $\pm$ 0.85 ^{d,3}	21.87 $\pm$ 0.13 ^{c,5}	20.51 $\pm$ 0.13 ^{cd,34}	21.47 $\pm$ 0.19 ^{c,45}
40	22.22 $\pm$ 1.21 ^{e,1}	22.62 $\pm$ 1.60 ^{d,1}	27.09 $\pm$ 0.77 ^{f,2}	22.03 $\pm$ 0.28 ^{e,1}	23.10 $\pm$ 0.14 ^{d,1}	24.90 $\pm$ 0.29 ^{d,12}
45	22.03 $\pm$ 1.72 ^{e,1}	22.14 $\pm$ 1.53 ^{d,1}	23.70 $\pm$ 0.27 ^{e,1}	22.86 $\pm$ 0.04 ^{ef,1}	29.83 $\pm$ 0.81 ^{e,2}	27.56 $\pm$ 0.13 ^{e,2}
50	27.96 $\pm$ 0.27 ^{f,2}	29.1 $\pm$ 0.34 ^{e,2}	30.65 $\pm$ 1.66 ^{g,2}	24.61 $\pm$ 0.30 ^{f,1}	28.05 $\pm$ 0.08 ^{e,2}	30.73 $\pm$ 1.42 ^{f,2}
55	31.56 $\pm$ 0.20 ^{g,1}	34.77 $\pm$ 0.32 ^{f,12}	38.95 $\pm$ 1.35 ^{h,3}	44.09 $\pm$ 1.68 ^{h,4}	37.44 $\pm$ 1.38 ^{g,23}	39.51 $\pm$ 1.04 ^{g,3}
60	24.13 $\pm$ 0.72 ^{e,1}	24.23 $\pm$ 1.49 ^{d,1}	26.17 $\pm$ 0.16 ^{ef,1}	34.90 $\pm$ 0.94 ^{g,2}	34.91 $\pm$ 0.22 ^{f,2}	38.72 $\pm$ 0.39 ^{g,3}
65	15.01 $\pm$ 0.35 ^{d,1}	13.24 $\pm$ 0.31 ^{c,1}	16.78 $\pm$ 1.55 ^{cd,1}	21.70 $\pm$ 0.25 ^{e,2}	21.67 $\pm$ 2.21 ^{d,2}	25.36 $\pm$ 0.23 ^{d,3}
70	13.04 $\pm$ 0.89 ^{cd,1}	12.59 $\pm$ 0.43 ^{c,1}	14.78 $\pm$ 0.45 ^{c,12}	18.00 $\pm$ 0.73 ^{d,3}	15.91 $\pm$ 0.50 ^{b,23}	14.32 $\pm$ 1.54 ^{b,12}

หมายเหตุ-ตัวเลข superscript ที่เหมือนกันในแนวนอน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอายุ ($p>0.05$)

-ตัวอักษร superscript ที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอุณหภูมิ ($p>0.05$)

ตารางที่ 5 ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดออกมาจากปลาอุกอุยที่มีอายุต่างๆ

อายุ (วัน)	ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ย่อยอาหาร(mg/ml)
45	5.46±0.10 ^c
45	6.25±0.06 ^d
45	6.25±0.06 ^d
45	5.05±0.09 ^{ab}
105	5.13±0.05 ^b
45	5.13±0.05 ^b

หมายเหตุ-ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การวิเคราะห์หาค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าโดยเฉลี่ยแล้วเท่ากับ 0.41 1.19 2.69 3.61 4.51 4.71 5.42 7.21 5.87 3.66 และ 2.83 $\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$

ค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินในแต่ละอุณหภูมิ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แบ่งเป็น 9 กลุ่ม โดยค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคืออุณหภูมิ 60 50 45 40 อุณหภูมิที่ 65 และ 35 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อุณหภูมิที่ 30 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และรองลงมาคืออุณหภูมิที่ 25 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับโดยค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากอุณหภูมิ 20 ถึง 50 องศาเซลเซียส จนมีระดับสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียสแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินจะมีค่าลดลง

เมื่อศึกษาแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลาอุกอุยที่มีอายุแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินมีระดับสูงสุดที่อายุ 90 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุอื่นๆ

ตารางที่ 6 แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/mg protein}$) ของปลาฉลามอายุ
ต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	45 วัน	60 วัน	75 วัน	90 วัน	105 วัน	120 วัน
20	0.26±0.03 ^{a,1}	0.28±0.02 ^{a,1}	0.54±0.02 ^{a,4}	0.42±0.01 ^{a,2}	0.49±0.01 ^{a,3}	0.45±0.01 ^{a,23}
25	0.84±0.22 ^{b,23}	1.16±0.34 ^{b,3}	2.03±0.03 ^{b,4}	2.00±0.03 ^{b,4}	0.42±0.01 ^{a,1}	0.40±0.04 ^{a,12}
30	2.16±0.07 ^{c,12}	2.02±0.03 ^{c,1}	2.64±0.30 ^{c,3}	2.49±0.03 ^{c,23}	3.62±0.09 ^{bc,4}	3.23±0.02 ^{b,4}
35	2.60±0.05 ^{cd,1}	2.52±0.02 ^{c,1}	3.77±0.17 ^{d,2}	4.34±0.07 ^{c,3}	3.99±0.02 ^{cd,2}	4.43±0.04 ^{c,3}
40	4.10±0.23 ^{e,2}	3.58±0.25 ^{d,1}	5.40±0.15 ^{f,3}	4.35±0.06 ^{c,2}	4.51±0.03 ^{d,2}	5.13±0.06 ^{d,3}
45	3.94±0.32 ^{e,2}	3.43±0.25 ^{d,1}	4.69±0.05 ^{e,2}	4.53±0.01 ^{ef,2}	5.85±0.16 ^{e,3}	5.65±0.03 ^{e,3}
50	5.21±0.05 ^{f,12}	4.66±0.05 ^{e,1}	5.84±0.33 ^{g,34}	4.89±0.06 ^{f,1}	5.47±0.01 ^{e,23}	6.24±0.29 ^{f,4}
55	5.92±0.04 ^{g,1}	5.58±0.05 ^{f,1}	7.70±0.26 ^{h,23}	8.45±0.33 ^{h,4}	7.38±0.27 ^{g,2}	7.92±0.21 ^{h,34}
60	4.62±0.14 ^{e,2}	3.91±0.24 ^{d,1}	5.13±0.03 ^{ef,3}	6.77±0.19 ^{g,4}	6.81±0.04 ^{f,4}	7.97±0.08 ^{h,5}
65	2.85±0.07 ^{d,2}	2.13±0.05 ^{c,1}	3.16±0.30 ^{cd,2}	4.32±0.05 ^{c,3}	4.09±0.43 ^{d,3}	5.18±0.05 ^{d,4}
70	2.47±0.17 ^{cd,12}	2.01±0.07 ^{c,1}	2.95±0.09 ^{c,23}	3.44±0.14 ^{d,23}	3.02±0.10 ^{b,34}	3.11±0.31 ^{b,4}

หมายเหตุ-ตัวเลข superscript ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอายุ ($p>0.05$)

-ตัวอักษร superscript ที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอุณหภูมิ ($p>0.05$)

6.2 การศึกษาแอคติวิตีของไคโมทริปซินในปลาฉลาม

การศึกษาแอคติวิตีของไคโมทริปซินในปลาฉลามอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน ศึกษา
จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไคโมทริปซินสับสเตรท (0.1 mM N-succinyl-ala-ala-pro-phe-p-
nitroanilide ใน 0.2 M Tris-HCl buffer, pH 8.4) กับเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้ของ
ปลาฉลามที่อุณหภูมิระหว่าง 20 ถึง 70 องศาเซลเซียส โดยพิจารณาจากอัตราของการผลิตของ *p*-
nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อชั่วโมง

จากการศึกษาได้แสดงผลในตารางที่ 7 พบว่าค่าแอคติวิตีของไคโมทริปซินที่อุณหภูมิ 20 25
30 35 40 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าโดยเฉลี่ยแล้วเท่ากับ 1.10 1.70 2.51 3.57 5.13
0 0 0 0 และ 0 $\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$

ค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินในแต่ละอุณหภูมิ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แบ่งเป็น 5 กลุ่ม โดยค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคืออุณหภูมิ 35 30 อุณหภูมิที่ 25 และ 20 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อุณหภูมิที่ 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินจะมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ที่อุณหภูมิ 20 ถึง 35 องศาเซลเซียส จนมีระดับสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส แอกติวิตีของไคโมทริปซินจะมีค่าน้อยมากจนเป็น 0

เมื่อศึกษาแอกติวิตีของไคโมทริปซินของปลาดุกอุยที่มีอายุแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินมีค่าสูงสุดที่อายุ 60 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุอื่นๆ

เมื่อนำค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินมาหาแอกติวิตีจำเพาะโดยนำค่าแอกติวิตี ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$) มาหารด้วยปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ (mg/ml) ซึ่งปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ของปลาดุกอุยที่มีอายุ 45 ถึง 120 วัน มีปริมาณดังตารางที่ 5 พบว่าค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินที่อุณหภูมิ 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าโดยเฉลี่ยแล้วเท่ากับ 0.21 0.32 0.48 0.69 0.96 0 0 0 0 0 และ 0 $\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/ml}$ (ตารางที่ 8)

ค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินในแต่ละอุณหภูมิ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แบ่งเป็น 5 กลุ่ม โดยค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคืออุณหภูมิ 35 30 อุณหภูมิที่ 25 และ 20 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อุณหภูมิที่ 45 50 55 60 65 และ 70 องศาเซลเซียส มีค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินจะมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ที่อุณหภูมิ 20 ถึง 35 องศาเซลเซียส จนมีระดับสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส แอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินจะมีค่าน้อยมากจนเป็น 0

เมื่อศึกษาแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของปลาดุกอุยที่มีอายุแตกต่างกันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินมีค่าสูงสุดที่อายุ 60 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอายุอื่นๆ

ตารางที่ 7 แอคติวิตีของไคโมทรูปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline / h/ml}$) ของปลาฉลามที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	45 วัน	60 วัน	75 วัน	90 วัน	105 วัน	120 วัน
20	0.84±0.75 ^{ab,1}	1.59±0.82 ^{ab,1}	0.69±0.39 ^{ab,1}	0.59±0.41 ^{a,1}	0.80±0.37 ^{a,1}	2.11±0.83 ^{ab,1}
25	1.54±0.21 ^{b,1}	1.70±0.76 ^{ab,1}	2.61±1.58 ^{bc,1}	0.65±0.14 ^{a,1}	1.92±0.70 ^{a,1}	1.60±0.67 ^{ab,1}
30	2.72±0.14 ^{c,234}	2.04±0.14 ^{b,12}	0.97±0.35 ^{ab,1}	3.67±0.72 ^{b,4}	2.28±0.23 ^{ab,23}	3.38±0.52 ^{bc,34}
35	2.64±0.64 ^{c,1}	1.83±0.71 ^{ab,1}	3.04±1.15 ^{c,1}	4.84±1.45 ^{b,1}	4.91±2.82 ^{b,1}	4.17±0.48 ^{c,1}
40	3.47±0.52 ^{c,1}	9.54±1.37 ^{c,2}	3.81±0.79 ^{c,1}	5.40±1.71 ^{b,12}	2.22±0.96 ^{ab,1}	5.40±2.90 ^{d,12}
45	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}
50	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}
55	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}
60	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}
65	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}
70	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}	0 ^{a,1}

หมายเหตุ-ตัวเลข superscript ที่เหมือนกันในแนวนอนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอายุ ($p>0.05$)

-ตัวอักษร superscript ที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
เนื่องจากผลของอุณหภูมิ ($p>0.05$)

639.5749

28271

๓-๒

226846

ตารางที่ 8 แอคติวิตีจำเพาะของโคโมทรอปซิน ($\mu\text{mole } p\text{-nitroaniline} / \text{h/mg protein}$) ของปลาอุกอุย ที่อายุต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	45 วัน	60 วัน	75 วัน	90 วัน	105 วัน	120 วัน
20	$0.03 \pm 0.14^{ab,1}$	$0.32 \pm 0.13^{ab,1}$	$0.07 \pm 0.08^{ab,1}$	$0.07 \pm 0.08^{a,1}$	$0.14 \pm 0.07^{a,1}$	$0.38 \pm 0.16^{abc,1}$
25	$0.28 \pm 0.04^{b,1}$	$0.36 \pm 0.12^{ab,1}$	$0.24 \pm 0.31^{bc,1}$	$0.13 \pm 0.03^{a,1}$	$0.44 \pm 0.14^{a,1}$	$0.25 \pm 0.08^{ab,1}$
30	$0.52 \pm 0.03^{c,23}$	$0.34 \pm 0.02^{b,12}$	$0.21 \pm 0.07^{ab,1}$	$0.81 \pm 0.14^{b,3}$	$0.40 \pm 0.04^{ab,2}$	$0.63 \pm 0.07^{bc,3}$
35	$0.47 \pm 0.12^{c,1}$	$0.39 \pm 0.11^{ab,1}$	$0.53 \pm 0.22^{c,1}$	$1.14 \pm 0.29^{b,1}$	$0.96 \pm 0.55^{b,1}$	$0.87 \pm 0.06^{c,1}$
40	$0.60 \pm 0.10^{c,1}$	$1.57 \pm 0.22^{c,2}$	$0.85 \pm 0.16^{c,12}$	$0.76 \pm 0.34^{b,12}$	$0.38 \pm 0.19^{ab,1}$	$0.64 \pm 0.47^{d,12}$
45	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$
50	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$
55	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$
60	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$
65	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$
70	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$	$0^{a,1}$

หมายเหตุ-ตัวเลข superscript ที่เหมือนกันในแนวนอน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผลของอายุ ($p > 0.05$)

-ตัวอักษร superscript ที่เหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผลของอุณหภูมิ ($p > 0.05$)

6.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลาอุกอุย

การศึกษาหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองโดยเอนไซม์สกัดของปลาอุกอุย เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาอุกอุย กับวัตถุดิบอาหารที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แกลบกึ่ง และเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของปลาอุกอุยในปลาป่น กากถั่วเหลือง แกลบกึ่ง และเมล็ดถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 0.93 0.87 0.56 และ 0.41 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) โดยค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองในปลาป่นมีค่าสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับแกลบกึ่ง และเมล็ดถั่วเหลือง แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับกากถั่วเหลือง

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ในหลอดทดลองโดยเอนไซม์สกัดของปลาดุกอุย

ชนิดวัตถุดิบ	DL-Alanine ($\mu\text{mol DL-Alanine mg feed}^{-1}$)
ปลาป่น	0.93 ± 0.01^a
กากถั่วเหลือง	0.87 ± 0.02^a
แกลบคั่ว	0.56 ± 0.03^b
เมล็ดถั่วเหลือง	0.41 ± 0.05^c

หมายเหตุ-ตัวอักษร superscript ที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

6.4 ศึกษาการเจริญเติบโตของปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม

การนำอาหารทดสอบมาเลี้ยงปลาดุกอุยด้วยการใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เหมาะสม ซึ่งได้แก่กากถั่วเหลืองมาแทนที่ปลาป่น เปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก โดยอาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน และไขมันเท่ากับ 35 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทำการผลิตอาหารทดลองเป็นแบบเม็ดแห้ง (dry pellet) จำนวน 4 สูตร โดยสูตรที่ 1 ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก สูตรที่ 2 ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3 ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 4 ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโดยทำการเลี้ยงปลาดุกอุยทำการเลี้ยงปลาดุกอุยด้วยอัตราปล่อย 30 ตัวต่อบ่อ จำนวน 3 บ่อ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ได้ผลการศึกษาดังที่ได้แสดงในตารางที่ 10 - ตารางที่ 16

น้ำหนักเฉลี่ย (Average Weight)

เมื่อเริ่มทำการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกอุยทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยน้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 เท่ากับ 5.31 5.27 5.36 และ 5.33 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 6.03 6.00 6.07 และ 6.02 กรัม ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยของทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 10 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ

อาหารทดลอง สูตรที่	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทดลอง (กรัม)										
	สัปดาห์ที่0	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	5.31±0.51 ^a	6.03±0.33 ^a	6.88±0.39 ^a	7.81±0.23 ^a	8.66±0.33 ^a	9.49±0.48 ^a	10.61±0.34 ^a	11.78±0.16 ^a	13.07±0.36 ^a	14.50±0.43 ^a	16.01±0.20 ^a
2	5.27±0.44 ^a	6.00±0.48 ^a	6.81±0.33 ^a	7.68±0.28 ^{bc}	8.45±0.29 ^{bc}	9.20±0.25 ^b	10.22±0.35 ^b	11.28±0.41 ^b	12.43±0.36 ^b	13.74±0.35 ^b	15.03±0.26 ^b
1	5.36±0.47 ^a	6.07±0.41 ^a	6.88±0.32 ^a	7.75±0.22 ^{ab}	8.51±0.27 ^b	9.27±0.27 ^b	10.24±0.29 ^b	11.31±0.41 ^b	12.51±0.47 ^b	13.72±0.31 ^b	15.04±0.19 ^b
4	5.33±0.46 ^a	6.02±0.36 ^a	6.80±0.25 ^a	7.62±0.16 ^c	8.32±0.26 ^c	9.01±0.29 ^c	9.80±0.15 ^c	10.66±0.45 ^c	11.59±0.30 ^c	12.56±0.31 ^c	13.59±0.43 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 10 ปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 16.01 15.03 15.04 และ 13.59 กรัม ตามลำดับ โดยปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Weight Gain)

จากผลการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลา
 ทุกชุดการทดลองมีค่า ADG เท่ากับ 0.10 (ตารางที่ 11) ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.12 0.11 0.12 และ 0.11 กรัม ตามลำดับ โดยค่า ADG ของปลาอุกอุยทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 3 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.13 0.12 0.12 และ 0.11 กรัม ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.12 0.11 0.11 และ 0.10 กรัม ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.12 0.11 0.11 และ 0.10 กรัม ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 6 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.16 0.15 0.14 และ 0.11 กรัม ตามลำดับ โดยปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 และ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2

ตารางที่ 11 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Weight Gain) ของปลาคูกลุย

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/วัน)									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	0.10±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a	0.13±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a	0.16±0.01 ^a	0.17±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a	0.20±0.02 ^a	0.22±0.02 ^a
2	0.10±0.01 ^a	0.11±0.01 ^a	0.12±0.02 ^{ab}	0.11±0.02 ^{ab}	0.11±0.01 ^{ab}	0.15±0.01 ^{ab}	0.15±0.01 ^a	0.16±0.01 ^a	0.19±0.02 ^a	0.18±0.01 ^a
3	0.10±0.01 ^a	0.12±0.02 ^a	0.12±0.03 ^{ab}	0.11±0.03 ^{ab}	0.11±0.02 ^{ab}	0.14±0.01 ^b	0.15±0.02 ^a	0.17±0.02 ^a	0.17±0.01 ^a	0.19±0.02 ^a
4	0.10±0.02 ^a	0.11±0.01 ^a	0.11±0.02 ^b	0.10±0.01 ^b	0.10±0.02 ^b	0.11±0.01 ^c	0.12±0.01 ^b	0.13±0.02 ^b	0.14±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.18 0.16 0.17 และ 0.13 กรัม ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 9 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.20 0.19 0.17 และ 0.14 กรัม ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 10 ปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.22 0.18 0.19 และ 0.15 กรัม ตามลำดับ โดยปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า ADG สูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

ในการทดลองเลี้ยงปลาถูกอุยด้วยอาหารทดลอง 4 สูตร พบว่าเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลาถูกอุยทุกชุดการทดลอง มีอัตราการอดเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากันทุกสูตร (ตารางที่ 12)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการเจริญเท่ากับ 100.00 100.00 98.89 และ 98.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งอัตราการของปลาอุกทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 3 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 100.00 100.00 98.89 และ 98.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งอัตราการรอดของปลาอุกอุกทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 ปลาตกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 100.00 95.56 95.56 และ 95.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาตกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหาร

ตารางที่ 12 อัตราการรอดของปลาคูอุยที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างๆ

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราการรอดของปลาทดลอง (เปอร์เซ็นต์)									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	96.67±3.33 ^a	93.33±3.33 ^a	91.11±1.92 ^a	90.00±3.33 ^a	88.89±3.85 ^a	87.78±5.09 ^a
2	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	95.56±1.92 ^b	94.44±1.92 ^a	91.11±1.92 ^a	88.89±1.92 ^a	87.78±1.92 ^a	85.56±3.85 ^a	85.56±3.85 ^a
3	100.00±0.00 ^a	98.89±1.92 ^a	98.89±1.92 ^a	95.56±1.92 ^b	93.33±3.33 ^a	93.33±3.33 ^a	91.11±1.92 ^a	88.89±3.85 ^a	86.67±3.33 ^a	86.67±3.33 ^a
4	100.00±0.00 ^a	98.89±1.92 ^a	98.89±1.92 ^a	95.56±1.92 ^b	92.22±3.85 ^a	90.00±0.00 ^a	87.78±1.92 ^a	86.67±3.33 ^a	85.56±3.85 ^a	84.44±5.09 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สูตรที่ 1 มีอัตราการรอดเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 96.67 94.44 93.33 และ 92.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 6 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 93.33 91.11 93.33 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 และ 3 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 7 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 91.11 88.89 91.11 และ 87.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 และ 3 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 90.00 87.78 88.89 และ 86.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 9 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 88.89 85.56 86.67 และ 85.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 10 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการรอดเฉลี่ยเท่ากับ 87.78 85.56 86.67 และ 84.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการรอดเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารที่ 2 3 และ 4

อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate)

ในการทดลองเลี้ยงปลาในกระชังด้วยอาหารทดลอง 4 สูตร พบว่าเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลาที่อยู่ในเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) เท่ากับ 1.80 1.85 1.78 และ 1.74 ตามลำดับ (ตารางที่ 13) ซึ่งค่า SGR ของปลาในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 13 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate) ของปลาคูกลูที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	1.80 ± 0.11^a	1.88 ± 0.18^a	1.82 ± 0.07^a	1.47 ± 0.04^a	1.30 ± 0.03^a	1.60 ± 0.05^a	1.49 ± 0.07^a	1.48 ± 0.06^a	1.48 ± 0.18^a	1.42 ± 0.17^a
2	1.85 ± 0.19^a	1.79 ± 0.13^a	1.72 ± 0.10^{ab}	1.37 ± 0.07^{ab}	1.21 ± 0.10^{ab}	1.50 ± 0.13^{ab}	1.42 ± 0.13^{ab}	1.39 ± 0.12^{ab}	1.43 ± 0.16^a	1.28 ± 0.08^{ab}
3	1.78 ± 0.26^a	1.78 ± 0.07^a	1.70 ± 0.06^{ab}	1.34 ± 0.07^{ab}	1.23 ± 0.02^{ab}	1.42 ± 0.05^{bc}	1.42 ± 0.18^{ab}	1.43 ± 0.15^{ab}	1.32 ± 0.06^{ab}	1.31 ± 0.10^{ab}
4	1.74 ± 0.34^a	1.75 ± 0.24^a	1.62 ± 0.10^b	1.25 ± 0.14^b	1.14 ± 0.11^b	1.21 ± 0.08^c	1.20 ± 0.19^b	1.20 ± 0.16^b	1.14 ± 0.10^b	1.12 ± 0.15^b

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 9 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2-3 และ 4 มีค่า SGR เท่ากับ 1.48 1.43 1.32 และ 1.14 ตามลำดับ โดยปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า SGR สูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

ตารางที่ 14 อัตราแลกเนื้อ (Food Conversion Ratio) ของปลาดุกอุยเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ

อาหารทดลอง สูตรที่	อัตราแลกเนื้อ									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	1.47±0.04 ^a	1.45±0.15 ^a	1.45±0.08 ^a	1.63±0.09 ^a	1.76±0.08 ^a	1.71±0.08 ^a	1.84±0.09 ^a	1.88±0.09 ^a	1.91±0.23 ^a	1.97±0.30 ^a
2	1.48±0.12 ^a	1.51±0.12 ^a	1.56±0.12 ^{ab}	1.74±0.08 ^{ab}	1.96±0.19 ^{ab}	1.82±0.15 ^a	1.92±0.19 ^a	2.02±0.17 ^{ab}	1.93±0.21 ^a	2.19±0.15 ^{ab}
3	1.50±0.19 ^a	1.53±0.05 ^a	1.61±0.04 ^{ab}	1.80±0.07 ^{ab}	1.94±0.07 ^{ab}	1.91±0.13 ^a	1.95±0.27 ^a	1.94±0.20 ^{ab}	2.12±0.08 ^{ab}	2.12±0.19 ^{ab}
4	1.56±0.26 ^a	1.57±0.22 ^a	1.69±0.11 ^b	1.99±0.27 ^b	2.11±0.22 ^b	2.26±0.17 ^b	2.34±0.19 ^b	2.34±0.36 ^b	2.45±0.23 ^b	2.57±0.34 ^b

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาตกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาตกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า FCR เท่ากับ 1.88 2.02 1.94 และ 2.34 ตามลำดับ โดยปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า FCR ต่ำที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 9 ปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า FCR เท่ากับ 1.91 1.93 2.12 และ 2.45 ตามลำดับ โดยปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า FCR ต่ำที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาอุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 10 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า FCR เท่ากับ 1.97 2.19 2.12 และ 2.57 ตามลำดับ โดยปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่า FCR ต่ำที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio)

ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกด้วยอาหารทดลอง 4 สูตร พบว่าเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลาดุก
 อูที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (PER) เท่ากับ
 1.94 1.94 1.93 และ 1.88 ตามลำดับ (ตารางที่ 15) ซึ่งค่า PER ของปลาดุกอุยทุกชุดการทดลองไม่
 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 ปลาคุยกุ้ยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า PER เท่ากับ 1.99 1.91 1.87 และ 1.84 ตามลำดับ โดยค่า PER ของปลาคุยกุ้ยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาคุยกุ้ยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 3 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า PER เท่ากับ 1.97 1.84 1.78 และ 1.69 ตามลำดับ โดยค่า PER ของปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า PER เท่ากับ 1.76 1.65 1.59 และ 1.45 ตามลำดับ โดยค่า PER ของปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (Protein Efficiency Ratio) ของปลาดุกอุย

อาหารทดลอง สูตรที่	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารของปลาดุกอุย									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	1.94 ±0.05 ^a	1.99 ±0.21 ^a	1.97 ±0.11 ^a	1.76 ±0.10 ^a	1.62 ±0.07 ^a	1.68 ±0.08 ^a	1.55 ±0.08 ^a	1.52 ±0.07 ^a	1.51 ±0.18 ^a	1.47 ±0.21 ^a
2	1.94 ±0.16 ^a	1.91 ±0.15 ^a	1.84 ±0.14 ^{ab}	1.65 ±0.08 ^{ab}	1.46 ±0.15 ^{ab}	1.58 ±0.14 ^{ab}	1.50 ±0.16 ^{ab}	1.42 ±0.11 ^{ab}	1.49 ±0.17 ^a	1.31 ±0.10 ^{ab}
3	1.93 ±0.27 ^a	1.87 ±0.07 ^a	1.78 ±0.05 ^{ab}	1.59 ±0.06 ^{ab}	1.48 ±0.05 ^{ab}	1.50 ±0.11 ^b	1.48 ±0.19 ^{ab}	1.48 ±0.16 ^{ab}	1.35 ±0.05 ^{ab}	1.36 ±0.12 ^{ab}
4	1.88 ±0.40 ^a	1.84 ±0.27 ^a	1.69 ±0.12 ^b	1.45 ±0.19 ^b	1.37 ±0.13 ^b	1.27 ±0.09 ^c	1.23 ±0.10 ^b	1.24 ±0.17 ^b	1.17 ±0.11 ^b	1.13 ±0.16 ^b

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain)

ในการทดลองเลี้ยงปลาอุกด้วยอาหารทดลอง 4 สูตร พบว่าเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ปลาอุก
 อูที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 13.45 13.86 13.29
 และ 12.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 16) ซึ่งเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลาอุกอุกทุกชุดการ
 ทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 29.38 29.11 28.33 และ 27.64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 3 ปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 47.15 45.64 44.55 และ 42.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 63.13 60.28 58.76 และ 56.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 และ 3

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 5 ปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 78.69 74.41 73.04 และ 68.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 และ 4 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาอุกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 6 ปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 99.89 93.77 91.16 และ 83.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาถูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 7 ปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 121.91 114.03 111.12 และ 100.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกอยู่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

ตารางที่ 16 เปอร์เซนต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage Weight Gain) ของปลาดุกอุย

อาหารทดลอง สูตรที่	เปอร์เซนต์น้ำหนักเพิ่มของปลาดุกอุย									
	สัปดาห์ที่1	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่3	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่5	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่7	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่9	สัปดาห์ที่10
1	13.45±0.89 ^a	29.38±2.52 ^a	47.15±3.11 ^a	63.13±2.96 ^a	78.69±3.59 ^a	99.89±4.70 ^a	121.91±4.15 ^a	146.12±3.98 ^a	173.07±6.74 ^a	201.57±3.75 ^a
2	13.86±1.55 ^a	29.11±1.72 ^a	45.64±1.49 ^a	60.28±1.08 ^{ab}	74.41±1.63 ^{ab}	93.77±0.63 ^b	114.03±1.36 ^b	135.85±3.08 ^b	160.70±3.77 ^b	185.05±2.75 ^b
3	13.29±2.10 ^a	28.33±2.48 ^a	44.55±2.64 ^a	58.76±3.35 ^{ab}	73.04±3.53 ^b	91.16±3.55 ^b	111.12±1.52 ^b	133.39±4.03 ^b	156.02±3.45 ^b	180.61±4.85 ^b
4	12.97±2.71 ^a	27.64±2.33 ^a	42.98±1.68 ^a	56.07±1.73 ^b	68.99±1.89 ^b	83.95±2.49 ^c	100.04±2.74 ^c	117.51±2.17 ^c	135.64±0.85 ^c	154.94±3.48 ^c

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 146.12 135.85 133.39 และ 117.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 9 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 173.07 160.70 156.02 และ 135.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 10 ปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 201.57 185.05 180.61 และ 154.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11 และรูปที่ 8) โดยปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงสุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาคุยกุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

7. อภิปรายผลการทดลอง

แอกติวิตีของทริปซินในปลาดุกอุย

การศึกษาแอกติวิตีของทริปซินและแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลาดุกอุยที่มีอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถึง 70 องศาเซลเซียส พบว่า ค่าแอกติวิตีของทริปซินของปลาดุกอุยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ และค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลาดุกอุยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ ดังนั้นอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของแอกติวิตีของปลาดุกอุย ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ ธนัย สุรศิลป์ (2548) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของปลากระพงขาว (*Lates calcalifer*) อายุ 20, 40, 60 และ 90 วัน ที่พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแอกติวิตีของเอนไซม์ทริปซินอยู่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับรายงานของวิภาดา กิตยารักษ์ (2544) ที่ทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ทริปซินในปลาดุกอุยที่อายุ 5 เดือน ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าการทำงานของเอนไซม์ทริปซินจะมีอัตราเพิ่มเรื่อยๆ จนถึงอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียสและค่อยๆ ลดต่ำลง แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ทริปซินของปลาดุกอุย คืออุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับรายงานของ Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2002) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar* L.) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของแอกติวิตีของเอนไซม์ทริปซินอยู่ที่ 50 องศาเซลเซียส

การหาค่าแอกติวิตีของทริปซินของปลาดุกอุยที่มีอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เอนไซม์ทริปซินมีแอกติวิตีสูงสุด พบว่า ช่วงอายุที่แอกติวิตีของทริปซินมีระดับสูงสุด คือ อายุ 90 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอายุอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rathore *et al.* (1998) ที่ทำการศึกษาการพัฒนาของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารในปลาไน (*Cyprinus carpio*) พบว่า แอกติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุเพิ่มขึ้น และรายงานของวิชัย วัฒนกุล และคณะ (2540) ที่ทำการศึกษาการพัฒนาน้ำย่อยในปลากระรัง พบว่าเมื่อปลากระรังมีอายุมากขึ้นจะมีค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินและไโคโมทริปซินเพิ่มขึ้น แต่ในการทดลองครั้งนี้มีแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินสูงสุดที่อายุ 90 วัน แล้วหลังจากนั้นก็ลดลง ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่าเมื่อปลาอายุมากขึ้นจะมีปริมาณของเหลวและน้ำหนักของทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้นแต่ปริมาณการผลิตเอนไซม์มีเท่าเดิมจึงทำให้ความเข้มข้นของเอนไซม์น้อยลง

แอกติวิตีของไคโมทรูปชินในปลาคูกอย

การหาค่าแอกติวิตีของไคโมทรูปชินและแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยที่มีอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วันตามลำดับที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถึง 70 องศาเซลเซียส พบว่าค่าแอกติวิตีของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ และค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมของแอกติวิตีของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยอยู่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2002) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar* L.) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของแอกติวิตีของเอนไซม์ไคโมทรูปชินอยู่ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่แตกต่างจากรายงานของ ธนัย สุรศิลป์ (2548) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของปลากะพงขาว (*Lates calcalifer*) อายุ 20, 40, 60 และ 90 วัน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแอกติวิตีของเอนไซม์ไคโมทรูปชินอยู่ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และรายงานของ Applebaum *et al.* (2002) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ไคโมทรูปชินในตัวอ่อนระยะแรกของปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) พบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์ไคโมทรูปชินมีค่ามากที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

การศึกษาแอกติวิตีของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยที่มีอายุ 45 60 75 90 105 และ 120 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เอนไซม์ไคโมทรูปชินมีแอกติวิตีสูงสุด พบว่า ช่วงอายุที่แอกติวิตีของไคโมทรูปชินมีระดับสูงสุด คือ อายุ 60 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอายุอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Applebaum *et al.* (2002) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ไคโมทรูปชินในตัวอ่อนระยะแรกของปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) พบว่าแอกติวิตีของไคโมทรูปชินจะเพิ่มขึ้นตามอายุและ standard length และรายงานของวิชัย วัฒนกุล และคณะ (2540) ที่ทำการศึกษาการพัฒนาน้ำย่อยในปลากะรัง พบว่าเมื่อปลากะรังมีอายุมากขึ้นจะมีค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซินและไคโมทรูปชินเพิ่มขึ้น แต่ในการทดลองครั้งนี้มีแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทรูปชินสูงสุดที่อายุ 60 วัน แล้วหลังจากนั้นก็ลดลง ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่าเมื่อปลาอายุมากขึ้นจะมีปริมาณของเหลวและน้ำหนักของทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้นแต่ปริมาณการผลิตเอนไซม์มีเท่าเดิมจึงทำให้ความเข้มข้นของเอนไซม์น้อยลง

ค่าแอกติวิตีของไคโมทรูปชินของปลาคูกอยทุกช่วงอายุ ที่อุณหภูมิ 45 ถึง 70 องศาเซลเซียส ไม่สามารถตรวจวัดได้ อาจเนื่องมาจากแอกติวิตีของไคโมทรูปชินมีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับแอกติวิตีของทริปซิน เพราะว่าไคโมทรูปชินเอนไซม์ต้องใช้ทริปซินกระตุ้นให้เปลี่ยนเป็นไคโมทรูปชิน เมื่อแอกติวิตี

ของทริปซินมีค่าน้อย แอคติวิตีของไคโมทริปซินจึงมีค่าน้อย Elert *et al.* (2004) รายงานว่า เอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากทางเดินอาหารของไรแดง (*Daphnia magna*) มีค่าแอคติวิตีจำเพาะ (specific trypsin activity) 140.8 ± 4.3 nmol *p*-nitroaniline / min / mg protein ส่วนเอนไซม์ไคโมทริปซินไม่พบแอคติวิตีจำเพาะ (specific chymotrypsin activity) เมื่อแอคติวิตีของไคโมทริปซินในการทดลองครั้งนี้มีค่าน้อย ประกอบกับอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 40 องศาเซลเซียส จึงทำให้ไม่สามารถตรวจวัดแอคติวิตีของไคโมทริปซินได้ หรืออาจจะเกิดจาก Enzyme และ Substrate ไม่จับกันเกิดเป็น Enzyme-Substrate complex จึงไม่เกิดแอคติวิตี เนื่องจากอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม

จากผลการทดลองของการทดลองในครั้งนี้ที่แตกต่างจากรายงานอื่นๆ อาจจะมีผลมาจากชนิดอายุของปลา อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ช่วงระยะเวลาที่ใช้เก็บตัวอย่างก็น่าจะมีผลต่อปริมาณหรือแอคติวิตีของเอนไซม์เพราะว่าในการทดลองครั้งนี้ใช้ช่วงระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างกระเพาะและลำไส้ของปลาคูอุยทุกอายุที่ 90 นาที ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมเนื่องจากปลาดังกล่าวจะมีระยะเวลาย่อยอาหารที่เหมาะสมในการย่อยอาหารให้มีประสิทธิภาพสูงสุดแตกต่างกัน เช่น ปลาน้ำขนาดเล็กทางเดินอาหารยังพัฒนาไม่เต็มที่และกระเพาะอาหารมีขนาดเล็ก ในขณะที่ปลาน้ำขนาดใหญ่ทางเดินอาหารพัฒนาเต็มที่แล้วและกระเพาะอาหารมีขนาดใหญ่ซึ่งจุอาหารได้มาก ปลาน้ำขนาดเล็กจึงใช้ระยะเวลาในการย่อยอาหารที่เหมาะสมเร็วกว่าปลาน้ำขนาดใหญ่ ในการทดลองครั้งนี้เมื่อเก็บกระเพาะอาหารและลำไส้ปลาคูอุยทุกอายุที่ 90 นาที ระยะเวลาในการย่อยอาหารอาจจะสั้นจนเลยช่วงที่เอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินทำงานได้สูงสุดหรือระยะเวลาในการย่อยอาหารอาจจะเร็วเกินไปจึงทำให้เอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินของปลาคูอุยยังทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในหลอดทดลองของวัตถุดิบอาหารทั้ง 4 ชนิดคือ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แกลบคั่ว และเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าปลาคูอุยสามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่นได้ดีที่สุด รองมาคือกากถั่วเหลือง โดยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนอยู่ที่ 0.93 และ 0.87 $\mu\text{mol DL-Alanine/mg feed}$ ตามลำดับ และย่อยได้ดีกว่าโปรตีนจากแกลบคั่ว และเมล็ดถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยโปรตีนจากเมล็ดถั่วเหลืองมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำที่สุด

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารของปลาคูอุยของการทดลองนี้ สอดคล้องกับรายงานของ ธนัย สุรศิลป์ (2548) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (*Lates calcalifer*) โดยใช้ปลาป่น ถั่วเหลืองป่น ถั่วลิสงป่น เลือดป่น เนื้อและกระดูกป่น และแป้งมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหาร พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาป่น

กากถั่วเหลือง ถั่วลิสงป่น เลือดป่น เนื้อและกระดูกป่น และแป้งมันสำปะหลัง มีค่าเท่ากับ 0.66 0.61 0.24 0.00 0.44 และ 0.00 μmol DL-Alanine ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าปลากระพงขาวสามารถย่อยปลาป่นได้ดีที่สุดและดีกว่าประสิทธิภาพการย่อยในกากถั่วเหลือง ในทำนองเดียวกัน จูอะดี พงศ์มนิรัตน์ และคณะ (2546) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หัวคอกูเต้น ข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น เนื้อกระดูกป่น และปลาหมึกป่น ในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย พบว่าทั้งกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย มีความสามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ได้ดี ในขณะที่การย่อยโปรตีนจากหัวกุ้งป่น มีประสิทธิภาพต่ำกว่าปลาป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ส่วนเมล็ดถั่วเหลืองมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในเมล็ดถั่วเหลืองมีสารยับยั้งทริปซิน (Trypsin) (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพโปรตีนของเมล็ดถั่วเหลืองต่ำ อย่างไรก็ตาม ทวี จินดาชัยกุลและคณะ (2545) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารในปลาหมอทะเล โดยใช้ปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หัวคอกูเต้น ปลาหมึกป่น ข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่นเป็นวัตถุดิบอาหารในการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน หัวคอกูเต้น ปลาหมึกป่น ข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่น มีค่าเท่ากับ 94.04, 85.95, 95.60, 82.08, 81.28, 84.04 และ 88.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าปลาหมอทะเลสามารถย่อยปลาป่น เนื้อและกระดูกป่นได้ดีกว่ากากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

การเจริญเติบโตของปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง

การศึกษากการเจริญเติบโตของปลาดุกอุย โดยพิจารณาจากน้ำหนักเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลาดุกอุย พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลาดุกอุยทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 ซึ่งมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักมีน้ำหนักเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงกว่าปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 3 และ 4 ซึ่งมีการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งต่างจากรายงานของ สุริยา คำหวาน (2547) ที่ทำการศึกษากการใช้แหล่งโปรตีนสำรองบางชนิดทดแทนปลาป่นในอาหารปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*, Bloch) พบว่าปลากระพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองที่มีการทดแทนปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มไม่แตกต่างจากปลากระพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุม

Dabrowski *et al.* (1989) ได้ทำการทดลองใช้กากถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่นในอาหารปลาเรนโบว์เทราต์ พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองในการทดแทนปลาป่นได้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Alexis *et al.* (1985) ที่ได้ศึกษาในปลาเรนโบว์เทราต์เช่นเดียวกัน ผลการศึกษาพบว่าสามารถใช้กาก

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนแทนที่ปลาป่นประมาณ 26 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการศึกษาการลดต้นทุนค่าอาหารของปลาก็ได้มีนักวิจัยหลายท่านได้ทำการศึกษา เช่น จูอะดี พงศ์มณีรัตน์และมะลิ บุญรัตนผลิน (2538) พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนข้าวโพดในอาหารปลากะพงขาวได้ 17 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนมะลิ บุญรัตนผลินและคณะ (2539) ได้ทำการศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทราและถั่วเหลืองหนึ่งแทนที่ปลาป่นได้ 15 เปอร์เซ็นต์

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร (PER) ของปลาคูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 3 ที่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ให้ผลดีเทียบเท่ากับปลาคูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 ที่ใช้ปลาป่นเป็นโปรตีนหลัก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hernández *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่นในอาหารปลา sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) พบว่าปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองที่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่า FCR ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับปลาทดลองที่ไม่มีการแทนที่ปลาป่น (กากถั่วเหลือง 0 เปอร์เซ็นต์)

อัตราการรอดของปลาคูกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 2 3 และ 4 ซึ่งมีการแทนที่ปลาป่น 0 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ อัทธา ไชยมงคล และคณะ (2546) ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดงจำนวน 5 สูตร ซึ่งใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการรอดตายของปลากะรังดอกแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทุกระดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ากากถั่วเหลืองป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารเมื่ปลาคูกอุย โดยที่ไม่ควรใช้ในการทดแทนปลาป่นเกิน 30 เปอร์เซ็นต์ และควรมีการศึกษาหาวัตถุดิบชนิดอื่นๆที่มีปริมาณโปรตีนสูงมาทดลองย่อยในหลอดทดลองเพื่อเป็นแนวทางในการหาวัตถุดิบในการทดแทนปลาป่น เช่นเนื้อปลาหมึกป่น หรือใช้แหล่งโปรตีนจากพืชชนิดอื่น ๆ ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น

8. สรุปผลการทดลอง

1. แอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของปลาอุกอุยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เมื่อปลาอุกอุยมีอายุ 90 วัน โดยที่ปลาที่มีอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินลดลง
2. แอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของปลาอุกอุยมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อปลาอุกอุยมีอายุ 60 วัน โดยที่ปลาที่มีอายุมากขึ้นจะมีแอคติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินลดลง
3. เอนไซม์สกัดของปลาอุกอุยสามารถย่อยปลาป่นได้ดีที่สุด รองลงมาคือกากถั่วเหลือง แกลบคั่ว และเมล็ดถั่วเหลืองตามลำดับ กากถั่วเหลืองสามารถนำมาทดแทนปลาป่นได้ดีที่สุด
4. อาหารที่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารของปลาอุกอุยไม่แตกต่างจากอาหารที่มีปลาป่นเป็นโปรตีนหลัก
5. กากถั่วเหลืองสามารถแทนที่ปลาป่นในปริมาณที่ไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์

9. เอกสารอ้างอิง

- จوزهดี พงศ์มนิรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน. (2538). การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2538 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา.
- จوزهดี พงศ์มนิรัตน์, พิษญา ชัยนาค และทวี จินดามัยกุล. (2546). ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบบางชนิดในอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย. พังงา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2546 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งพังงา จังหวัดพังงา กรมประมง.
- คุณิต ตันวิไลย, พุทธ แซ่ลิ่ม และยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร. (2528). การศึกษาการพัฒนาการของลูกปลากะพงขาววัยอ่อน *Lates calcarifer* (Bloch). สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2528 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา กรมประมง.
- ชนัย สุรสีลป. (2548). ประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดที่มีการทดแทนปลาป่น. ปรินูญานิพนธ์ปรินูญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ทวี จินดามัยกุล, พิษญา ชัยนาค และจوزهดี พงศ์มนิรัตน์. (2545). การศึกษาการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบต่างชนิดในอาหารปลาหมอทะเล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 20/2545. กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
- มะลิ บุญยรัตผลิน, ประวิทย์ สุรนิรนาถและธำรงค์ ตันภิบาล. (2539). การแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว, รายงานการสัมมนาประจำปี 2539 .กรมประมง.
- พัชรา วีระกะลัส. (2541). เอนไซม์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 344 หน้า.
- วิชัย วัฒนกุลม สุนิตย์ โรจนพิทยกุล และพูนสิน พานิชสุข. (2540). การพัฒนาน้ำย่อยในลูกปลากระัง *Epinephelus coioides* วัยอ่อน. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 22/2540 สถาบันวิจัยสัตว์น้ำชายฝั่ง จ.สงขลา กรมประมง.
- วีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). อาหารปลา. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 216 หน้า.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2543). โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อัครา ไชยมงคล, มะลิ บุญยรัตผลิน, ชุศักดิ์ บริสุทธิ์ และสุจินต์ บุญช่วย, 2546. การใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดง. เอกสารการสัมมนาวิชาการ ประมง 7 - 9 กรกฎาคม. กรมประมง.
- อัญชลี คงสมบุญ. (2530). รูปแบบเอนไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- Alexis, H.N., Papaparaskeva-papoutsoglou, E. and Theochri, V. (1985). Formulations of practical diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products. *Aquaculture* 50, 61-73.
- Allan, G. L., Parkinson, S., Booth, M. A., Stone, D. A. J., Rowland, S. J., Frances, J. and Warner-Smith, R. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch ; *Bidyanus bidyanus* : I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture* 186, 293-310.
- Applebaum, S.L., Perez, R., Lazo, J.P. and Holt, G.J. (2002). Characterization of chymotrypsin activity during early ontogeny of larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 25, 291-300.
- Bassompierre, M., Oatenfeld, T. H., McLean E. and Torrisen K. R. (1998). In vitro protein digestion, and growth of Atlantic salmon with different trypsin isozymes. *Aquaculture International* 6, 47-56.
- Bishop, C.D., Angus, R.A. and Watts, S.A.. (1995). The use of feather meal as a replacement for fish meal in the diet of *Oreochromis niloticus* fry. *Bioresource Technology*. 54, 291-295.
- Dabrowski, Poczyczynski, H.P., Kock, G. and Berger, B. (1989). Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) New In vivo test for exocrine pancreatic secretion. *Aquaculture* 77, 29-49.
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W. and Liufu, Z. (2006). Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 258, 503-513.
- Eid, A. E. and Matty, A. J. (1989). A Simple In Vitro Method for Measuring Protein Digestibility. *Aquaculture* 79, 111-119.
- Elert, E.V., Agrawal, M.K., Gebauer, C., Jaensch, H., Bauer, U. and Zitt, A. (2004). Protease activity in gut *Daphnia magna*: evidence for trypsin and chymotrypsin enzymes. *Comparative Biochemistry and physiology*. 137, 287-296.
- Gomes, E.F., Rema, P. and Kaushik S.J. (1994). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture* 130, 177-186.

- Hernández, M.D., Martínez, F.J., Jover, M. and García, B. (2006). Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture* 263, 159-167.
- Kuz'mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzymes activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148, 25-37.
- Lovell, T. (1989). Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold. New York.
- McGoogan, B.B. and Reigh, R.C. (1996). Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture* 141, 233-244.
- Moullac, G. L., Klein, B., Sellos, D. and Wormhoudt, A. V. (1997). Adaptation of trypsin, chymotrypsin and α -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapod). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 208 (1-2), 107-125.
- Rathore, R.M., Kumar, S. and Chakrabarti, R., (1998). Digestive enzyme profile of *Cyprinus carpio* during ontogenic development. *World Aquaculture* 36, 37-39.
- 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. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 644-654.
- Torrissen, K.R. (1984). Characterization of proteases in the digestive tract of Atlantic salmon (*Salmo solar*) in comparison with Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 77B, 669-674.
- Vuthiphandchai, V. (1986). Effect of dietary carbohydrate levels on growth, feed conversion efficiencies and body composition of Nile tilapia. M.Sc. thesis. Asian Institute of Technology. Thailand. 86 pp.
- Walford, J and T.J. Lam. (1993). Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture* 109 (2), 187-205.