



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การ
จับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง

Substitution of Fish Meal with Plant Protein in Diets on Nursing of Tilapia
(*Oreochromis spp.*): Growth Performance, Ammonia Excretion and Disease Resistance
after Transportation

นามผู้วิจัย นายเชิด แก้วมณี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ศรีน้อย ชุ่มคำ, วท.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ, Doctorat de 3 Cycle)

หัวหน้าภาควิชา

(ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่าย
แอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง

Substitution of Fish Meal with Plant Protein in Diets on Nursing of Tilapia (*Oreochromis spp.*):
Growth Performance, Ammonia Excretion and Disease Resistance after Transportation

โดย

นายเชิด แก้วมณี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2552

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชิด แก้วมณี 2552: การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ด. 223 หน้า

ผลของสัดส่วนและแหล่งโปรตีนพืชจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (MBP) ในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง ศึกษาในลูกปลานิลแดงอายุ 3 วัน (*Oreochromis spp.*) ที่ได้รับอาหารโปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีสัดส่วนโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นแตกต่างกันในอาหาร 5 สูตร (สูตร 1: 0 % MBP สูตร 2: 25 % MBP สูตร 3: 50 % MBP สูตร 4: 75 % MBP และสูตร 5: 100 % MBP) เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว โดยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นได้ 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน และคุณภาพการแปลงเพศ ก่อนการขนส่งลูกปลานิลแดงมีความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม ที่อุณหภูมิ 26.32°C พีเอช 7.78 โดยมีค่า 24 hr-LC_{50} เท่ากับ 40.66 ppm การจับถ่ายแอมโมเนียหลังจากการขนส่งในถังระบบเปิด ที่มีการให้อากาศเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า แอมโมเนียรวมในน้ำมีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร และมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย อีกทั้งมีค่าสูงขึ้นตามสัดส่วนของปลาป่นจึงเป็นสาเหตุให้อัตราการตายในการขนส่งสูงขึ้น ($P < 0.01$) ความต้านทานโรคหลังจากการขนส่งจากการทดสอบด้วยเชื้อ *Streptococcus agalactiae* เข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ CFU/ml โดยการแช่ต่อเนื่อง 10 วัน พบว่า อัตราการตายของลูกปลานิลแดงสูงขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P < 0.01$)

ผลของสัดส่วนและแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (SBM) โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (MBP) และปลาป่น (FM) ในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่งในปลานิลแดง น้ำหนักเฉลี่ย 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่ได้รับอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ที่มีสัดส่วนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนแตกต่างกัน 6 สูตร (สูตร 1: อาหารสำเร็จรูปเชิงการค้า; Ref diet สูตร 2: 70 % SBM สูตร 3: 70 % MBP สูตร 4: 0 % โปรตีนจากพืช (PP) สูตร 5: 100 % SBM และสูตร 6: 100 % MBP) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสามารถทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง หรือโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต อัตราโรค ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และคุณประโยชน์สุทธิของโปรตีนในอาหาร ค่า 24 hr-LC_{50} ของแอมโมเนีย ที่อุณหภูมิ 26.32°C พีเอช 7.78 ของปลานิลแดงก่อนการขนส่ง มีเท่ากับ 91.0 ppm การจับถ่ายแอมโมเนียหลังจากการขนส่ง 12 ชั่วโมง พบว่า แอมโมเนียรวมในน้ำมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยในทุกชุดการทดลอง ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารจาก FM มีการจับถ่ายแอมโมเนียสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารจาก SBM และ MBP นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้โปรตีนจาก FM จาก SBM หรือจาก MBP เพียงแหล่งเดียว มีปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำและระดับแอมโมเนียในเลือดสูงกว่าปลาในชุดควบคุมและปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารจากโปรตีนพืชต่อปลาป่น 30:70 ($P < 0.01$) อัตราการตายในการขนส่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการจับถ่ายแอมโมเนีย สำหรับภูมิคุ้มกันของปลาเมื่อพิจารณาจากค่า Ig M ค่า phagocytic activity และค่า phagocytic index พบว่ามีค่าสูงขึ้นตามสัดส่วนของปลาป่น ($P < 0.01$) ความต้านทานโรคหลังจากการขนส่งทดสอบด้วยเชื้อ *Streptococcus agalactiae* พบว่า ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่ใช้แหล่งโปรตีนจากพืชมีอัตราการตายสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน ($P < 0.01$)

Cherd Kaewmanee 2009: Substitution of Fish Meal with Plant Protein in Diets on Nursing of Tilapia (*Oreochromis spp.*): Growth Performance, Ammonia Excretion and Disease Resistance after Transportation. Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D. 223 pages.

The effect of dietary plant protein, mung bean protein concentrate (MBP), substituted for fish meal (FM) in sex reversal diets on growth performance, ammonia excretion and disease resistance after transportation was conducted in red tilapia first swimming fry (*Oreochromis spp.*). Fish were fed with diets containing 55 % crude protein (CP) from 5 different proportions of MBP (T1: 0 % MBP; control diet, T2: 25 % MBP, T3: 50 % MBP, T4: 75 % MBP and T5: 100 % MBP) for 21 days. The results showed that replacing FM with MBP up to 25 % CP in the diet did not affect growth (0.231 ± 0.057 gram mean weight), protein efficiency ratio, net protein utilization and quality of mono-sex red tilapia fry. Before transportation, an ammonia toxicity test was conducted in terms of 24 hours lethal concentration (24 hr-LC_{50}) at 26.32°C and pH 7.78. The results showed that the 24 hr-LC_{50} was 40.66 ppm. Ammonia excretion after transportation was evaluated by stocking fry in aerated tanks of an open system for 12 hours. Total ammonia decreased by increasing proportion of MBP in the diet ($P < 0.01$). After transportation, total ammonia was higher than safety levels and increased by the proportion of FM in the diet causing increased mortality ($P < 0.01$). Disease resistance after transportation was assessed for 10 days by immersion challenge with *Streptococcus agalactiae* at $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ CFU/ml. The mortality rate of red tilapia fry after challenge increased by increasing proportion of MBP in the diet ($P < 0.01$).

The proportion of soy bean meal (SBM), MBP and FM in nursery diets was assessed in terms of growth performance, ammonia excretion and disease resistance after transportation in red tilapia fingerlings 0.231 ± 0.057 gram to 25.562 ± 1.315 gram mean weight. Fish were fed with floating pellet diets containing 32 % CP from 6 different protein sources (T1: commercial diet; Ref diet, T2: 70 % SBM, T3: 70 % MBP, T4: 0 % plant protein (PP), T5: 100 % SBM and T6: 100 % MBP) for 8 weeks. The results showed that feeding up to 30 % CP from SBM or MBP did not affect growth, survival rate, protein efficiency ratio and net protein utilization of red tilapia. An ammonia toxicity test before transportation in terms of 24 hr-LC_{50} at 26.32°C and pH 7.78 was 91.0 ppm showed that ammonia excreted after 12 hours was higher than safety levels in all treatments. Fish fed FM in the diets had higher ammonia excretion levels than those fed SBM and MBP. Furthermore, total ammonia in transport water and blood ammonia levels were higher in fish fed only a single protein source rather than a control treatment and groups of fish fed a diet containing plant protein and FM 30:70 ($P < 0.01$). Mortality rate during transportation was directly related to the rate of an ammonia excretion and thus closely mirrored the ammonia excretion levels for each diet. Fish immunity in term of Ig M, phagocytic activity and phagocytic index increased by the proportion of FM ($P < 0.01$). Disease resistance after transportation, determined by immersion with *Streptococcus agalactiae*, indicated higher mortality rate in groups of tilapia fed plant protein source diet ($P < 0.01$)

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค. ประธาน
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ใน
วิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ โภชนศาสตร์และ
อาหารสัตว์น้ำ เพื่อสถานที่ในการทดลองและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน ข้าพเจ้าขอกราบ
ขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ศรีน้อย ชุ่มคำ, วท.ค. และ รองศาสตราจารย์ประทีพย์ ตามทิพย์
วรรณ, Ph.D. กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และ
ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์และสำเร็จ
ลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณวอร์เรน แอนดริว เทอร์เนอร์ กรรมการผู้จัดการ บริษัท น้ำใสฟาร์ม
จำกัด คุณฉัตรรัตน์ มโหธร และคณะผู้บริหารทุกท่าน ที่ให้โอกาสแก่ข้าพเจ้าได้ศึกษาต่อและให้
ทุนอุดหนุนการศึกษาในครั้งนี้ ตลอดจนเอื้อเฟื้อสถานที่ สัตว์ทดลอง วัสดุคิบ และอำนวยความสะดวก
ในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณ บริษัท ลิขินันท์ จำกัด ที่ให้การอนุเคราะห์โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

ขอขอบคุณ คุณมลวิภา มาลา ที่ช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์เล่มนี้ และให้ความช่วยเหลือในด้าน
ต่างๆ ตลอดจนเป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา ขอขอบคุณ ดร. อังกศ แม็คคอลลีย์ แม็คนิเวน ขอขอบคุณ
คุณจิระศักดิ์ นักปี คุณเดิมศักดิ์ คงสำราญ นักวิชาการประจำฟาร์ม และพนักงานบริษัท น้ำใสฟาร์ม
จำกัด ทุกท่าน ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดี

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่บิดา มารดา และคุณ
ป้า ที่ได้อบรมสั่งสอน สนับสนุนการศึกษาตั้งแต่แรกเริ่มจนถึงปัจจุบัน และให้กำลังใจข้าพเจ้ามา
ตลอดในทุกเรื่อง

เชิด แก้วมณี
ธันวาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	62
อุปกรณ์	62
วิธีการ	65
ผลและวิจารณ์	89
สรุปและข้อเสนอแนะ	175
สรุป	175
ข้อเสนอแนะ	177
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	178
ภาคผนวก	201
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	223

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความต้องการโปรตีนของปลานิลชนิดต่างๆ ในบางระยะของการเจริญเติบโต	17
2	ความต้องการสารอาหารของปลานิล (เปอร์เซ็นต์ในอาหาร)	18
3	องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว	29
4	องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น (กรัม/16 กรัม ไนโตรเจน) ของถั่วเขียว	30
5	องค์ประกอบของแร่ธาตุและวิตามินของถั่วเขียว	31
6	องค์ประกอบทางโภชนาการของปลาป่น กากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว เข้มข้น	39
7	ความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่งปลานิลบางขนาดในถังระบบเปิดที่มีการ ให้ออกซิเจนตลอดการขนส่ง	58
8	ความหนาแน่นในการลำเลียงลูกพันธุ์สัตว์น้ำบางชนิดในถุงพลาสติก	59
9	ความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่งปลานิลบางระยะในถุงพลาสติก	60
10	สูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศและองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร	67
11	ขนาดของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ แบ่งตามเกรดจากการคัดแยกด้วยตะแกรง คัดขนาด	70
12	สูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาลและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	79
13	อาหารและโปรแกรมการให้อาหารปลานิลระยะอนุบาล	82
14	ขนาดของปลานิลแดงระยะปลาน้ำที่แบ่งตามเกรดจากการคัดแยกด้วย ตะแกรงคัดขนาด	83
15	น้ำหนักเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการเจริญเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ได้รับ อาหารปลานิลระยะแปลงเพศสูตรต่างๆ ตามชุดการทดลอง	90
16	การเจริญเติบโต อัตรารอด และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในลูกปลานิล แดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 21 วัน	93
17	องค์ประกอบทางเคมีของลูกปลานิลแดงทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการ ทดลองด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 21 วัน (โดยน้ำหนักแห้ง)	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
18	การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลาและคุณภาพการแปลงเพศในลูกปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	99
19	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียในระดับต่างๆ ในเวลา 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78	103
20	ค่า 24 hr- LC_{50} ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนีย ในลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว	105
21	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	108
22	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	111
23	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง	113
24	อัตราการตายจากการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ภายหลังการขนส่ง	118
25	ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะแปลงเพศและรายได้ต่อกระชังในการผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศ	120
26	น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงในแต่ละสัปดาห์เมื่อได้รับอาหารปลานิลระยะอนุบาลในสูตรต่างๆ ตามชุดการทดลอง	123
27	การเจริญเติบโต อัตรารอดและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหารของปลานิลแดง เมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยอาหารอนุบาล 8 สัปดาห์	126

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
28	องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง เลี้ยงด้วยอาหารอนุบาล 8 สัปดาห์ (โดยน้ำหนักแห้ง)	128
29	เปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลานิลแดง เมื่อสิ้นสุดการ ทดลอง 8 สัปดาห์	134
30	เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ ค่าดัชนีตับต่อตัว และเปอร์เซ็นต์ไกลโคเจนที่ตับ ของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	137
31	เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่ ความเข้มข้นของแอมโมเนียในระดับต่างๆ ในเวลา 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78	143
32	ค่า 24 hr- LC_{50} ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนีย ในปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว	145
33	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	148
34	ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความ หนาแน่น 10 ตัว/ลิตร และอัตราการตายภายหลังการทดสอบความต้านทาน ต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน	152
35	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	155
36	ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความ หนาแน่น 15 ตัว/ลิตร และอัตราการตายภายหลังการทดสอบความต้านทาน ต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน	159

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
37	คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง	162
38	ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่งเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง และอัตราการตายภายหลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน	165
39	ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะอนุบาลและรายได้ต่อกระชังในการอนุบาลปลานิลแดง	173
ตารางผนวกที่		
1	อัตราการตายสะสมของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม ในการทดลองหาค่า 24 hr-LC_{50} ของสารแอมโมเนีย	204
2	การคำนวณค่า 24 hr-LC_{50} ของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม	205
3	อัตราการตายสะสมของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม ในการทดลองหาค่า 24 hr-LC_{50} ของสารแอมโมเนีย	208
4	การคำนวณค่า 24 hr-LC_{50} ของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม	209

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	แผนผังกระบวนการผลิตสัตว์แก้วเขียว
2	การบรรจุลูกปลาลงในถุงพลาสติกเพื่อการลำเลียงขนส่ง
3	การปรับอุณหภูมิของน้ำในถุงพลาสติกและการปล่อยปลาหลังการลำเลียงขนส่ง
4	ตะแกรงคัดขนาดลูกปลานิล ภายในมีรูพรุนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร
5	ขนาดของตาตะแกรงคัดขนาดและวิธีการคัดขนาดปลานิลแดง
6	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายสะสมและความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ใช้ในการประเมินค่า 24 hr-LC ₅₀ ของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78
7	(ก) และ (ข) ตัวอย่างเซลล์ตับของปลานิล (ก) เซลล์ตับของปลานิลแดงก่อนการทดลอง
8	เซลล์ตับของปลานิลแดงหลังได้รับอาหารอาหารทดลอง (ก) สูตร 1 ชุดควบคุม: Ref. diet (ข) สูตร 2: 70% SBM (ค) สูตร 3: 70% MBP (ง) สูตร 4: 0% PP (จ) สูตร 5: 100% SMB (ฉ) สูตร 6: 100% MBP
9	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายสะสมและความเข้มข้นของแอมโมเนีย ที่ใช้ในการประเมินค่า 24 hr-LC ₅₀ ของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78
ภาพผนวกที่	
1	อวัยวะสืบพันธุ์ของปลานิลแดง อายุ 60 วัน

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

aNPU	=	apparent net protein utilization
FM	=	fish meal
FCE	=	feed conversion efficiency
FCR	=	feed conversion ratio
g	=	gram
gm wet. wt.	=	gram wet weight
Ig M	=	immunoglobulin M
MBP	=	mung bean protein concentrate
PA	=	phagocytic activity
PER	=	protein efficiency ratio
PI	=	phagocytic index
PP	=	plant protein
ppm	=	part per million
Ref diet	=	referential diet
SBM	=	soy bean meal
SGR	=	specific growth rate
total NH ₃ -N	=	total ammonia nitrogen
17- α -MT	=	17-alfa-methyltestosterone
24 hr-LC ₅₀	=	24 hours medial lethal concentration

การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาล ต่อการเจริญเติบโต
การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังการขนส่ง

**Substitution of Fish Meal with Plant Protein in Diets on Nursing of Tilapia
(*Oreochromis spp.*): Growth Performance, Ammonia Excretion and Disease
Resistance after Transportation**

คำนำ

แหล่งของโปรตีนในอาหารและโภชนะในวัตุดุบ เป็นสิ่งสำคัญที่ถูกนำมาพิจารณาในการประกอบสูตรอาหารให้เหมาะสมกับระยะการเจริญเติบโตและชนิดของสัตว์น้ำ โปรตีนจากวัตุดุบต่างชนิดกันมีผลต่อโภชนะสำคัญในสูตรอาหาร การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนทั้งหมดในชีรั่ม จะเป็นค่าที่แสดงภาวะทางโภชนาการและการสูญเสียโปรตีนในเบื้องต้นได้ดี (Keneko *et al.*, 1997) ซึ่งจะได้รับอิทธิพลโดยตรงทั้งจากคุณภาพและปริมาณของโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร (Tewe, 1985) ปลาป่นเป็นวัตุดุบแหล่งโปรตีนหลักในการผลิตอาหารสัตว์ ที่ให้โปรตีนสูงและมีคุณภาพดี ผลผลิตปลาป่นของโลกร้อยละ 64 ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปลาป่นร้อยละ 12 หรือ 62 ล้านตัน ถูกนำมาใช้ผลิตเป็นอาหารปลา (Food and Agriculture Organization [FAO], 2008) การเติบโตของภาคธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทำให้ความต้องการปลาป่นมีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ผลผลิตปลาป่นทั่วโลกกลับมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการจับปลาในทะเลลดลง และวิธีการจับปลาด้วยอวนลากเพื่อนำมาผลิตปลาป่นนั้นนับว่าเป็นการประมงเชิงทำลาย อีกทั้งปัจจุบันปลาป่นมีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เป็นเหตุให้ปลาป่นมักถูกทดแทนด้วยวัตุดุบแหล่งโปรตีนอื่นที่มีราคาถูกเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร โดยเฉพาะวัตุดุบแหล่งโปรตีนจากพืช เช่น กากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตุดุบแหล่งโปรตีนหลักจากพืชที่มีคุณภาพและนิยมใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร และล่าสุดโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น เป็นวัตุดุบแหล่งโปรตีนจากพืชที่น่าสนใจ และมีผู้นำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีโปรตีนสูงถึง 71.65 เปอร์เซ็นต์ และมีสัดส่วนกรดอะมิโนใกล้เคียงกับกากถั่วเหลือง (Anantraksakul, 1989) การทดแทนปลาป่นด้วยวัตุดุบแหล่งโปรตีนจากพืช จำเป็นต้องพิจารณาถึงสัดส่วนที่เหมาะสม เพื่อคงไว้ซึ่งโภชนะและองค์ประกอบสำคัญทางเคมีในอาหารเพื่อให้อาหารมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับอาหารปลานิลสามารถใช้วัตุดุบแหล่งโปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นได้ในระดับสูง เนื่องจากปลานิล มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ได้ดี (วิรพงษ์, 2536) อย่างไรก็ตาม การใช้

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชทดแทนปลาบางส่วนหรือทั้งหมดในสูตรอาหาร อาจทำให้การเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากไปลดความน่ากิน และคุณค่าทางอาหารรวมทั้งสารต้านโภชนะ (anti-nutritional factor) ที่มีในวัตถุดิบจากพืชแต่ละชนิด (Shiau *et al.*, 1990) ตลอดจนปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิดในสูตรอาหาร โดยเฉพาะกรดอะมิโนอาร์จินีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกรดอะมิโนชนิดรูตินในระบบภูมิคุ้มกันโรค ซึ่งจะชักนำให้เซลล์แมโครฟาจสังเคราะห์ ไนตริก ออกไซด์ เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม และพบว่า ความเข้มข้นของกรดอะมิโนอาร์จินีนและชนิดรูตินในปลาสมาลดลงอย่างชัดเจนในภาวะที่ร่างกายขาดโปรตีน มีแผลบาดเจ็บ เกิดการอักเสบ และการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Bansal and Ochoa, 2003)

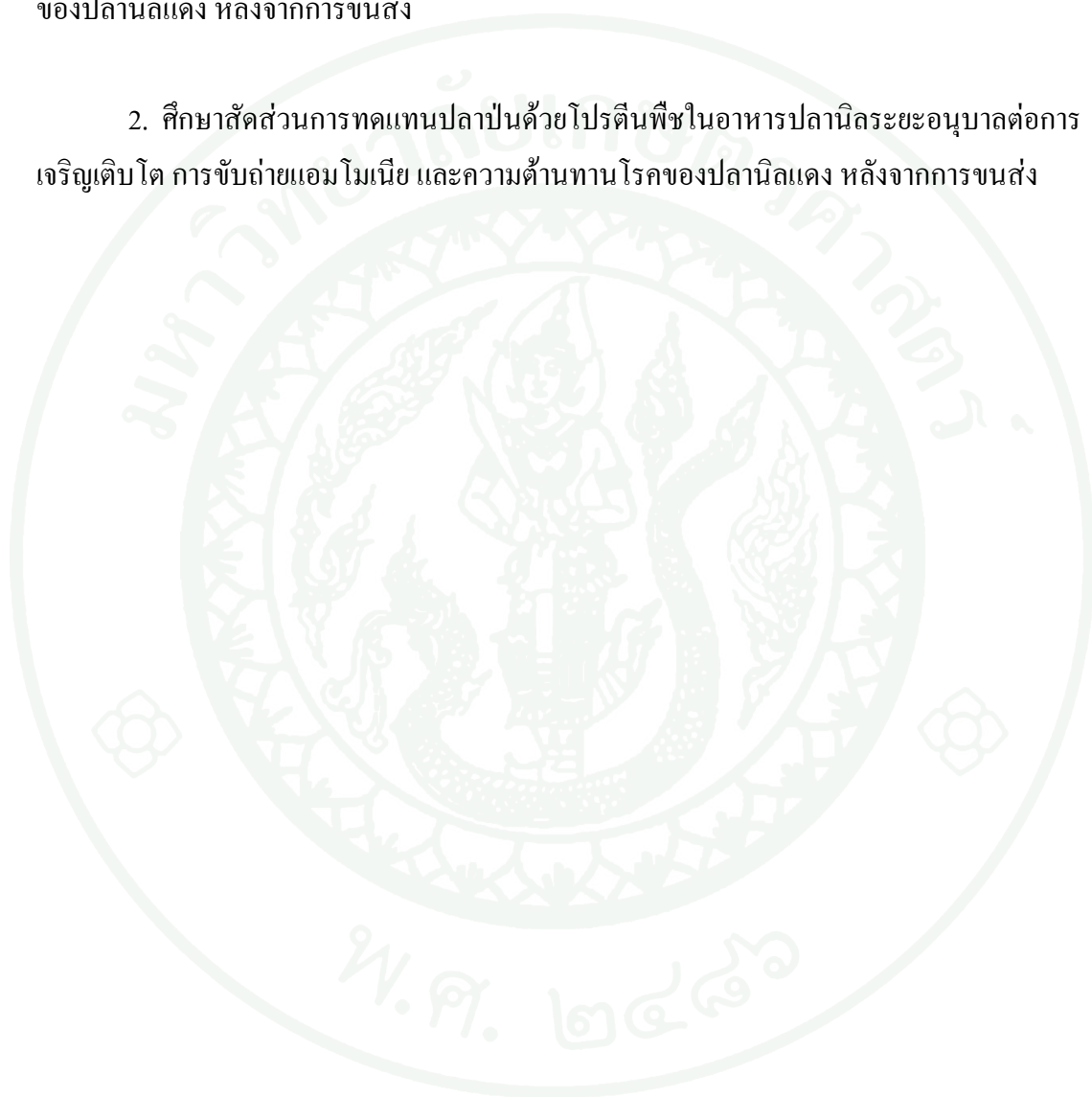
การใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชเป็นวัตถุดิบทางเลือกในสูตรอาหารปลานิล สามารถลดปริมาณการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารลงได้ และช่วยลดปริมาณการขับถ่ายของเสียในรูปอินทรีย์ไนโตรเจนจากโปรตีนส่วนเกินลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งปริมาณการขับถ่ายของเสียของสัตว์น้ำจะมากหรือน้อยแตกต่างกันตามชนิดของอาหาร คุณภาพวัตถุดิบ และประสิทธิภาพการย่อยอาหารของสัตว์น้ำแต่ละชนิด นอกจากนี้ ปริมาณสิ่งขับถ่ายเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการได้รับสารอาหารเกินปริมาณความต้องการของร่างกาย การดูดซึมสารอาหารช้า หรือในสูตรอาหารประกอบด้วยวัตถุดิบที่มีกากอาหารอยู่ในระดับสูงซึ่งสัตว์น้ำไม่สามารถย่อยได้ และจะถูกขับออกทางมูล สำหรับปลาของเสียส่วนใหญ่ถูกขับถ่ายออกทางเหงือกในรูปแอมโมเนีย และในรูปอื่นอีกเล็กน้อย เช่น ยูเรีย หรือพบในรูปของกรดอะมิโน (Hepher, 1988) ปะปนออกมากับกากอาหาร กลายเป็นปัญหามลภาวะจากไนโตรเจนในแหล่งน้ำ ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุหลักของโปรตีน สัตว์น้ำได้สารประกอบไนโตรเจน จากการกินอาหารที่มีโปรตีนจากพืชหรือสัตว์ ในธรรมชาติและในบ่อเลี้ยงสารประกอบเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีโดยการทำงานของแบคทีเรียในวงจรไนโตรเจน (โชคชัย, 2548) ปลา มักเกิดความเครียดเมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีสารพิษจากแอมโมเนีย โดยเฉพาะในน้ำที่มีค่าพีเอชสูง และมีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำ หรือการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมอย่างฉับพลัน การถูกรบกวน หรืออยู่หนาแน่นในที่กักขังระหว่างการลำเลียงขนส่ง โดยเฉพาะการขนส่งระยะไกล ปลาจะขับถ่ายของเสียออกมามากกว่าปกติ เนื่องจากการเคลื่อนที่ของมวลน้ำที่รุนแรงและการอยู่อย่างหนาแน่นในภาชนะที่จำกัด โดยโปรตีนส่วนเกินในอาหารรวมทั้งวัตถุดิบที่เป็นเชื้อไขจะถูกขับออกทางมูล หากมีการตายของปลาเกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง โปรตีนที่สะสมในตัวปลาจะถูกย่อยสลาย ไปเพิ่มปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนและแอมโมเนียในน้ำภายในภาชนะลำเลียงให้สูงขึ้น ซึ่งมีผลต่อสุขภาพและเป็นอันตรายกับปลาทำให้อัตรารอดในการขนส่งต่ำ รวมทั้งปลาจะฟื้นตัวช้าภายหลังจากการขนส่งและเมื่อปล่อยปลาลงในที่กักขังหรือสิ่งแวดล้อมใหม่ พบว่า มีอัตราการตายสูงในช่วง 5 วันแรก ส่วนปลาที่มีชีวิตรอดจะอ่อนแอ ไม่กินอาหาร ติดเชื้อโรคได้ง่าย และตายอย่างต่อเนื่อง

ดังนั้น การศึกษาระดับที่เหมาะสมของการใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นจะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์โปรตีนในอาหาร เพื่อลดปริมาณการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำระหว่างการขนส่ง ซึ่งจะมีผลให้อัตรารอดและความต้านทานโรคลาหลังการขนส่งดีขึ้น



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศต่อการเจริญเติบโต คุณภาพการแปลงเพศ การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังจากการขนส่ง
2. ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังจากการขนส่ง



การตรวจเอกสาร

ปลานิลเป็นปลาที่นิยมบริโภคและเลี้ยงกันแพร่หลายทั่วโลก ปลานิลถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2508 ตลอดระยะเวลามากกว่า 40 ปี ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงปลาชนิดนี้จากกรมประมงและภาคเอกชน ทั้งทางด้านสายพันธุ์ อาหาร การผลิต การแปรรูป และการตลาด ผลผลิตปลานิลจากการเพาะเลี้ยงเริ่มถูกบันทึกในสถิติกรมประมง ปี พ.ศ. 2524 จำนวน 5,500 ตัน ต่อมาการเพาะเลี้ยงปลานิลมีการขยายตัว และมีผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนในปัจจุบันปลานิลจัดเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีผลผลิตเป็นอันดับหนึ่งของประเทศ ผลผลิตปลานิลในปี พ.ศ. 2548 มีปริมาณ 203,737 ตัน คิดเป็นมูลค่า 7,254.1 ล้านบาท (กรมประมง, 2548) ในปี พ.ศ. 2550 มีผลผลิตปลานิลทั่วโลก 2,600,908 ตัน โดยประเทศจีนผลิตได้มากเป็นอันดับหนึ่ง รองลงมาคือประเทศอียิปต์ ส่วนไทย อินโดนีเซีย และ ฟิลิปปินส์ มีผลผลิตประเทศละ 150,000 ถึง 200,000 ตัน (Fitzsimmons, 2007) ดังนั้น การเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย ยังมีโอกาสขยายตัวเพิ่มขึ้นได้อีก สำหรับปลานิลชนิดที่เลี้ยงกันอย่างแพร่หลายและที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ *Oreochromis niloticus*, *O. mossambicus* และปลานิลแดง (red tilapia)

1. ชีววิทยาของปลานิล

1.1 ปลานิล (nile tilapia)

ปลานิลเป็นปลากระดูกแข็ง จัดอยู่ในครอบครัว Cichlidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* ปลานิลเป็นปลาพื้นเมืองของแอฟริกา เป็นปลาที่แพร่ขยายพันธุ์ได้ดี จึงพบการแพร่กระจายไปทุกภูมิภาคของโลก มีนิสัยรวมฝูงตามแหล่งน้ำต่างๆ ที่เป็นน้ำจืด และน้ำกร่อย เป็นปลาที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี เช่นทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วงกว้างคือ 8-42 องศาเซลเซียส (Philippart and Ruwet, 1982) ทนต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำและความเค็มได้ดี โดยอยู่ได้อย่างปกติในน้ำที่มีความเค็มสูงถึง 20 พีพีที กินอาหารทั้งผิวน้ำ กลางน้ำ และก้นบ่อ ชอบกินอาหารในเวลากลางวันมากกว่ากลางคืน จัดเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) กินซากอินทรีย์ ที่เน่าเปื่อย และพืชน้ำ (Bowen, 1982) ปลานิลเป็นปลาที่กินอาหารไม่เลือก และสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานได้ดี (กรมประมง, 2541)

1.2 ปลานิลแดง (red tilapia)

ปลานิลแดงมีลำตัวเหมือนปลานิล แต่ลำตัวสีแดงส้ม สีชมพู สีขาว สีของนัยน์ตา ต่างๆ กัน ในปี พ.ศ. 2527 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ได้ทรงพระราชทานชื่อว่า “ปลานิลสีแดง” แต่มักจะเรียกทั่วไปว่า ปลานิลแดง

ปลานิลแดงเป็นปลาที่ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์จากกลุ่มธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เจริญโภคภัณฑ์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 ประกอบด้วยสายพันธุ์หลักคือ สายพันธุ์จิตรลดา สายพันธุ์จากอเมริกา สายพันธุ์จากอิสราเอล และสายพันธุ์จากไต้หวัน นำมาผสมข้ามสายพันธุ์จนได้ลักษณะที่ดี เช่น เจริญเติบโตเร็ว กินอาหารเก่ง ปริมาณเนื้อบริโภคต่อน้ำหนักสูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหัวเล็ก โครงกระดูกเล็ก ก้างน้อย ส่วนสันหนา เส้นใยกล้ามเนื้อละเอียดแน่นปราศจากกลิ่นโคลนที่เกิดจากไขมันในตัวปลา ผิวสีแดงอมชมพู เนื้อทุกส่วนมีสีขาว ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี เจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีความเค็มสูงถึง 25 พีพีที และสามารถเลี้ยงในกระชังที่มีความหนาแน่นสูงโดยไม่มีผลกระทบต่อตัวปลา จากลักษณะดังกล่าว ทำให้ปลานิลลูกผสมสายพันธุ์นี้ได้รับความนิยมในการเลี้ยงมากจนกลายเป็นปลาเศรษฐกิจและได้รับพระราชทานนามจากพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เมื่อวันที่ 22 มกราคม พ.ศ. 2541 ว่า “ปลาทับทิม” (อดิสร, 2542)

ปลานิลแดงมีนิสัยก้าวร้าว กินทั้งพืชและสัตว์ เช่นเดียวกับปลานิลทั่วไป แต่ชอบกินสัตว์มากกว่า โดยจะกินปลาอื่นที่มีขนาดเล็กกว่า หรือพ่อแม่ปลามักรั้งจะกินลูกปลา ซึ่งพฤติกรรมเช่นนี้ไม่พบในปลานิลธรรมดา การผสมพันธุ์วางไข่เช่นเดียวกับปลานิลทั่วไป แม่ปลาวางไข่ได้ปีละ 3-4 ครั้ง ตัวเมียจะเริ่มวางไข่เมื่อมีความยาวเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 200-250 กรัม และให้ลูกรุ่นละ 500-1,000 ตัว (มานพ และคณะ, 2527; พรรณศรี, 2531)

ปลานิลแดงยังไม่มีรายงานที่ชัดเจนถึงชนิดที่แท้จริง กรมประมง (2526) รายงานว่า ปลานิลแดงเกิดจากการผ่าเหล่าของปลานิล ส่วน มานพ และคณะ (2527) กล่าวถึงการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ในประเทศฟิลิปปินส์ สรุปว่าปลานิลแดงคือลูกผสมของปลาสกุล *Tilapia* ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป (*Tilapia aurea*, *T. horonorum*, *T. mossambicus* และ *T. niloticus*) สำหรับในประเทศไทย ปลานิลแดงอาจเกิดจากลูกผสมระหว่าง *T. niloticus* กับ *T. mossambicus* โดยการผสมข้ามสายพันธุ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรือ ปลานิลแดงอาจเป็นปลาที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมจากปลานิล *T. niloticus*

พรรณศรี (2531) กล่าวถึงการตรวจสอบโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส ของมหาวิทยาลัยสเตอร์ลิง ประเทศอังกฤษ และมหาวิทยาลัยฟิลิปปินส์ ประเทศฟิลิปปินส์ สรุปว่าปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยในปัจจุบันเป็นลูกผสมระหว่างปลานิล (*O. niloticus*) และปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) โดยมีความถี่ของยีนส์ปลานิล 78 เปอร์เซ็นต์ และปลาหมอเทศ 22 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยมีลักษณะของปลานิลและปลาหมอเทศรวมกัน

Matthew (1992) กล่าวว่า ปลานิลแดงเป็นลูกผสมระหว่างปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) กับปลา *O. hornorum* แต่ ปกรณ์ (2541) กล่าวว่า เกิดจากการกลายพันธุ์ของปลานิลปกติ หรือการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศ นอกจากนี้ Lutz (2001) กล่าวว่า ปลานิลแดงคือปลาหมอเทศที่มีสีแดง (หรือสีทอง) ซึ่งเป็นสีของปลาหมอเทศ ที่มีทั้งหมด 3 สี ได้แก่ สีแดง (gold) สีทองสัมฤทธิ์ (bronze) และสีเทาดำ (gray-black)

เกรียงไกร และ วรางคณา (2549) รายงานว่า ปลานิล (*O. niloticus*) ปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) และปลานิลแดง (red tilapia) ในประเทศไทย มีความคล้ายกันมาก โดยมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ $2n = 44$ แต่มีคาริโอไทป์แตกต่างกัน คาริโอไทป์ของปลานิลประกอบด้วยโครโมโซมแบบสับเมตาเซนตริก 1 คู่ สับทีโลเซนตริก 6 คู่ อะโครเซนตริก 15 คู่ และจำนวนแขนโครโมโซม เท่ากับ 58 ปลาหมอเทศมีคาริโอไทป์ประกอบด้วย โครโมโซมแบบสับเมตาเซนตริก 6 คู่ สับทีโลเซนตริก 2 คู่ อะโครเซนตริก 14 คู่ และจำนวนแขนโครโมโซม เท่ากับ 60 และปลานิลแดงมีคาริโอไทป์ประกอบด้วย โครโมโซมแบบสับเมตาเซนตริก 1 คู่ สับทีโลเซนตริก 3 คู่ อะโครเซนตริก 18 คู่ และจำนวนแขนโครโมโซม เท่ากับ 52 และพบว่าปลานิลแดงในประเทศไทยมีความหลากหลายของคาริโอไทป์น้อยกว่าปลานิลและปลาหมอเทศ

2. การแปลงเพศปลานิล

ด้วยความสามารถในการแพร่พันธุ์ในบ่อเลี้ยงได้เอง ทำให้เกิดปัญหาประชากร มีแต่ปลานิลขนาดเล็กเน้นบ่อ มีผลผลิตสูงแต่ขายไม่ได้ราคาเพราะยังไม่ได้ขนาดบริโภค ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้ด้วยการเลี้ยงปลาเพศเดียว (mono-sex) ปลานิลได้รับความสนใจมากขึ้นหลังจากมีการใช้เทคโนโลยีการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศเมื่อปี พ.ศ. 2533 ด้วยข้อได้เปรียบที่ช่วยลดระยะเวลาการเลี้ยงให้สั้นลง มีอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ต่ำ ปลามีขนาดใหญ่สม่ำเสมอ ทำให้ปัจจุบันปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีผู้นิยมเลี้ยงในเชิงธุรกิจอย่างแพร่หลายในประเทศไทย และนิยมเลี้ยงปลานิลเพศผู้ เนื่องจากเจริญเติบโตเร็วกว่า ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดใหญ่กว่าปลา

นิลเพศเมีย ทำให้มีการพัฒนาวิธีการผลิตลูกปลานิลเพศผู้ล้วนหลายวิธี ทั้งวิธีที่ไม่ใช้ฮอร์โมน (การแยกด้วยมือและการผสมข้ามสายพันธุ์) และวิธีที่ใช้ฮอร์โมนทั้งทางตรงและทางอ้อม

Shelton *et al.* (1981) ได้ทดลองให้ลูกปลานิลอายุ 7-12 วัน กินอาหารผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ความเข้มข้น 30-60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลา 21-28 วัน ให้ผลได้ปลานิลเพศผู้ 95 เปอร์เซ็นต์

Gale *et al.* (1999) ได้ทดลองแช่ลูกปลานิลในฮอร์โมน 3 ชนิด คือ 17- α -methylidihydrotestosterone, trebolone acetate และ 17- α -methyltestosterone ในความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 2 ครั้ง ครั้งแรกที่อายุ 10 วัน ระยะเวลา 3 ชั่วโมง และครั้งที่ 2 ที่อายุ 13 วัน ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ให้ผลได้ปลานิลเพศผู้ 73-92 เปอร์เซ็นต์

Bart *et al.* (2003) ได้ทำการทดลองแช่ลูกปลานิลในฮอร์โมน 2 ชนิด คือ 17- α -methylidihydrotestosterone และ trebolone acetate ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ 100 และ 250 ไมโครกรัม/ลิตร ระยะเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง และใช้ ultrasound (420 โวลท์, 47 กิโลเฮิร์ต) ในระหว่างการแช่ฮอร์โมน ให้ผลได้ปลานิลเพศผู้ 91-98 เปอร์เซ็นต์

นวนลณี และคณะ (2547) สรุปว่า การแปลงเพศปลานิลให้ได้สัดส่วนเพศผู้สูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ อัตรารอดของลูกปลานิลแปลงเพศสูงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ และมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่า 0.30 บาท/ตัว มี 2 วิธี คือ วิธีแรก ให้ลูกปลาระยะงูไข่แดงยุบ อายุ 3-5 วัน กินอาหารผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 21 วัน ลูกปลาแปลงเพศจะมีอัตรารอดเฉลี่ย 83.5 ± 15.7 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนเพศผู้เฉลี่ย 97.9 ± 1.5 เปอร์เซ็นต์ และมีต้นทุนการผลิต ประมาณ 0.29 บาท/ตัว วิธีนี้นิยมใช้ในการผลิตปลานิลเพศผู้เชิงการค้าในปัจจุบัน และ วิธีที่สอง โดยการแช่ลูกปลาระยะงูไข่แดงยุบ อายุ 3-5 วัน ในฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม/ลิตร นาน 3 ชั่วโมง และให้ลูกปลา กินอาหารผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 วัน ลูกปลานิลแปลงเพศจะมีอัตรารอดเฉลี่ย 80.0 ± 12.3 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนเพศผู้เฉลี่ย 98.3 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ และมีต้นทุนการผลิต ประมาณ 0.26 บาท/ตัว

เกรียงศักดิ์ (2549) ได้ทดลองการใช้ฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ผสมในอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ในการแปลงเพศปลานิล 3 สายพันธุ์ คือ กาน้ำ นิลแดง และจิตรลดา เป็นเวลา 21 วัน พบว่าการเปลี่ยนเป็นเพศผู้ของปลานิล ที่ความเข้มข้นของฮอร์โมน 60, 40 และ 0 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่า 91.11, 85.55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. อาหารปลานิล

3.1 อาหารปลาวัยอ่อน

ความต้องการอาหารของสัตว์ทุกชนิดเปลี่ยนแปลงไปตามวงจรชีวิต (life-cycle) ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนทางสัณฐานวิทยา (morphology) และสรีรวิทยา (physiology) ในสัตว์น้ำเริ่มต้นตั้งแต่ระยะตัวอ่อน (larval) ระยะปลานิ้ว (fingerling) และระยะโตเต็มวัย (adult stages) ซึ่งมีความสำคัญต่อการกินอาหารและความต้องการอาหาร สัณฐานวิทยาของระบบทางเดินอาหารในปลาที่โตเต็มวัยมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของปลาและระยะของการพัฒนา การเปลี่ยนแปลงขนาดของปาก จัดว่ามีความสำคัญต่ออาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยมีผลต่อความสามารถในการกินอาหารของสัตว์น้ำนั้น ในปลาวัยอ่อนที่ได้รับอาหารขนาดใหญ่เกินกว่าที่ปากจะกินได้ ปลาจะยอมอดอาหาร ในทางตรงกันข้ามหากขนาดของอาหารเล็กเกินไป ปลาจะต้องใช้พลังงานมากขึ้น เพื่อที่จะรับอาหารเหล่านั้นให้มีจำนวนเพียงพอต่อความต้องการ มีผลทำให้ปลาเจริญเติบโตช้า ดังนั้นสิ่งที่สำคัญที่สุดประการหนึ่งเกี่ยวกับคุณสมบัติของอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนคือ ขนาดของอาหารต้องมีความเหมาะสมกับขนาดของปากปลา

การพัฒนาของระบบทางเดินอาหารในปลาวัยอ่อนเป็นแบบง่ายๆ โดยปลายังไม่มีฟันทางเดินอาหารสั้น มีขนาดครึ่งหนึ่งของความยาวมาตรฐาน เซลล์บุผิว (epithelial cells) ในระบบทางเดินอาหารยังไม่มีแบ่งตัว เซลล์ที่พบส่วนใหญ่เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการดูดซึม (absorptive enterocytes) มีลักษณะเป็นเซลล์ทรงเตี้ย มีไมโครวิลไล (microvilli) มากมายบนผิวของลูเมน (luminal surface) เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการหลั่งสาร (secretory cells) ยังมีจำนวนน้อย

เมื่อสัตว์น้ำเริ่มกินอาหารการเปลี่ยนแปลงเริ่มต้นขึ้นตั้งแต่มีการพัฒนาของมิวโคซาลโฟลด์ (mucosal folds) และพัฒนาการของเซลล์ลำไส้ การดูดซึมสารอาหารในสัตว์เหล่านี้เกิดขึ้นโดยกระบวนการพินโนไซโตซิส (pinocytosis) โดยส่วนของเมมเบรนของเยื่อบุผิวจะทำหน้าที่โอบล้อมและกลืนกินสารโมเลกุลใหญ่ (โปรตีนและไขมัน) สารที่ดูดซึมโดยวิธีนี้ถูกย่อยสลายภายในเซลล์

ต่อมาเมื่อตัวอ่อนมีการพัฒนาในส่วนของฟัน ขากรรไกร กระเพาะอาหาร ไส้ติ่ง (pyloric caecae) และลำไส้มีความยาวมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับความยาวของลำตัวและลำไส้เริ่มขดตัว เกิดการพัฒนาของมิวโคซ่า โดยมีการผลิตเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวกับการย่อยอาหารเกิดขึ้นจำนวนมากในระบบทางเดินอาหาร พัฒนาการดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความถี่ของการกินอาหารและขนาดของอาหาร โดยมีการกล่าวถึงความเหมาะสมของขนาดอาหารกับขนาดของปากปลา การปรับตัวทางสรีรวิทยาของการไม่มีฟันและไม่มีกระเพาะอาหาร แสดงให้เห็นว่าสัตว์น้ำนั้นสามารถหาอาหารได้ง่ายและอาหารถูกย่อยได้ทันทีโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการที่ซับซ้อน การที่ปลาวัยอ่อนมีทางเดินอาหารสั้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณอาหารที่ปลาได้รับแต่ละครั้งมีปริมาณจำกัด การย่อยอาหารต้องเกิดอย่างรวดเร็วและต้องได้รับอาหารบ่อยๆ เพื่อประกันว่าปลานั้นได้รับอาหารในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการ

3.2 อาหารปลานิลระยะแปลงเพศ

อาหารปลานิลระยะแปลงเพศ เป็นอาหารชนิดผง มีความละเอียดสูง และควรมีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ อาหารควรลอยน้ำจะกระตุ้นการกินอาหารของปลานิลได้ดีกว่าอาหารชนิดจม สำหรับวัตถุดิบที่มีรายงานการใช้เป็นอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ได้แก่ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นผสมรำละเอียด หรือ อาหารกึ่งเบอร์ 0 (เรณู และ นพรัตน์, 2549; เสถียรพงษ์, 2550) โดยพิจารณาถึงการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน อัตราการเจริญเติบโตของลูกปลา อัตราแลกเนื้อ ตลอดจนคุณภาพการแปลงเพศและต้นทุนค่าอาหาร

เรณู (2537) รายงานว่า อาหารเพื่อการแปลงเพศปลานิลที่มีส่วนผสมระหว่างรำ และปลาป่นในอัตรา 3 ต่อ 1 ผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone เข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีความเหมาะสมที่สุด และปลานิลมีอัตราการแปลงเพศสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ลูกปลามีความยาวเฉลี่ย 3.29 เซนติเมตร ในเวลา 21 วัน

Toyama *et al.* (2000) กล่าวว่า การเสริมวิตามินแร่ธาตุ และไขมันที่จำเป็นน่ามีความสำคัญในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ โดยการเสริมวิตามินซี 800 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะทำให้ลูกปลาแข็งแรง และเจริญเติบโตเร็ว

Shalaby *et al.* (2006) กล่าวว่า อาหารผสมฮอร์โมนเพื่อการแปลงเพศปลานิล ควรมีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะช่วยเพิ่มอัตราการรอด และประสิทธิภาพการแปลงเพศได้ ส่วน เรณู และ

นพพันธ์ (2549) รายงานว่า ส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ คือ รำ และปลาป่น หรือส่วนประกอบอื่นที่เหมาะสม อาหารต้องมีขนาดเล็ก 0.42-0.59 มิลลิเมตร ก่อนใช้ควรร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.6 มิลลิเมตร ในสัปดาห์แรกของการให้อาหาร สำหรับสัปดาห์ต่อไปสามารถเพิ่มขนาดของอาหารเป็น 0.59-0.84 มิลลิเมตร เสถียรพงษ์ (2550) รายงานว่า การใช้ปลาป่น 70 เปอร์เซ็นต์ ผสมรำ 30 เปอร์เซ็นต์ ผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone เข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ใช้เป็นอาหารเพื่อการแปลงเพศปลานิล นาน 21 วัน เหมาะสมที่สุดในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศเชิงพาณิชย์ พบว่าลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 0.265 กรัม อัตรารอดตาย 97.7 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการแปลงเพศเป็นเพศผู้ 97.3 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อ 1.52 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน 1.77 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 70.41 สำหรับการใส่ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ พบว่าลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 0.266 กรัม อัตรารอดตาย 97.3 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการแปลงเพศเป็นเพศผู้ 97.7 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อ 1.51 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน 1.49 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 60.78 แต่พบว่า มีต้นทุนการผลิตที่สูงกว่า

Phelps and Popma (2000) กล่าวว่า ฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ที่ผสมในอาหารมักไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ หรือไขมัน ที่นิยมใช้คือ เอทิลแอลกอฮอล์ เมื่อใช้เป็นตัวทำละลายฮอร์โมนแล้วต้องตากอาหารไว้ในที่ร่ม มีอากาศถ่ายเท เพื่อให้แอลกอฮอล์ระเหยออกไป โดยความชื้นในอาหารปลานิลเพื่อการแปลงเพศไม่ควรเกิน 10 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Varadaraj *et al.* (1994) กล่าวว่าอาหารที่ผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone แล้ว ต้องเก็บให้พ้นแสงและความร้อน เช่นเดียวกับการเก็บสารละลายฮอร์โมน ต้องเก็บในที่มืด ในขวดสีชา และเก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หากโดนแสงสว่างหรือความร้อนเพียง 11 วัน ประสิทธิภาพในการแปลงเพศปลานิลจะลดลงเหลือ 55 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

นอกจากนี้ มีรายงานเกี่ยวกับปริมาณและความถี่ในการให้อาหารปลานิลระยะแปลงเพศ เช่นในการศึกษาของ Phelps and Popma (2000) กล่าวว่า ปริมาณการให้อาหารผสมฮอร์โมนเพื่อการแปลงเพศปลานิล สัปดาห์แรก 20 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่สอง 15 เปอร์เซ็นต์ และสัปดาห์ที่สาม 10 เปอร์เซ็นต์/น้ำหนักตัว/วัน สำหรับ Bocek *et al.* (1992) รายงานว่า ความถี่ในการให้อาหารผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone วันละ 2 ครั้ง สัปดาห์ละ 5 วัน และให้วันละ 4 ครั้ง สัปดาห์ละ 7 วัน ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการแปลงเพศแตกต่างกัน (97 เปอร์เซ็นต์) แต่การให้อาหารวันละ 4 ครั้ง พบว่าลูกปลามีการเจริญเติบโตดีกว่า เช่นเดียวกับการทดลองของ Sanches and Hayashi (2001) พบว่า การให้อาหารผสมฮอร์โมนเพื่อการแปลงเพศ วันละ 2 ครั้ง ลูกปลาเจริญเติบโตช้ากว่าการให้

อาหาร 3-4 ครั้ง และเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศ ควรให้อาหาร วันละ 4-5 ครั้ง

3.3 อาหารปลานิลระยะอนุบาล

อาหารปลานิลระยะอนุบาลเป็นอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปลานิล อาจเป็นอาหารชนิดผง หรืออาหารชนิดเม็ดลอยน้ำ ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและขนาดของลูกปลา การใช้อาหารชนิดเม็ดลอยน้ำเป็นอาหารปลานิลระยะอนุบาล จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเนื่องจากอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำเป็นอาหารที่ใช้เทคโนโลยีขั้นสูงด้วยวิธีการ extrudtion

3.3.1 การ extrudtion

เป็นกระบวนการที่ใช้ความร้อนทั้งแบบแห้งและแบบชื้น เพื่อทำให้วัตถุดิบอาหารสัตว์โดยเฉพาะพวกแป้งสุกในระดับที่เหนียวคล้ายแป้งเปียก (gelatin) หรือเรียกว่าทำให้เกิด gelatinization วัตถุดิบจะอยู่ในสภาพอัดตัวพร้อมที่จะปรับเปลี่ยนรูปร่างได้ จึงอัดผ่านหน้าแวน (die) ที่มีรูปร่างต่างๆ ตามที่ต้องการ และเมื่อวัตถุดิบหลุดออกมาจากเครื่องอัดเม็ดลอยน้ำ (extruder) ไปกระทบกับความเย็นจะทำให้เม็ดอาหารพองตัวและความหนาแน่นเปลี่ยนไป

3.3.2 การผลิตอาหารเม็ดลอยน้ำ

การผลิตอาหารเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดลอยน้ำแบบเปียก (wet extruder) นิยมใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ปีก อาหารสุนัข อาหารแมว และสามารถผลิตอาหารเม็ดลอยน้ำให้ปลาที่กินอาหารบริเวณผิวน้ำ เช่น ปลาคู และปลานิลได้ดี เนื่องจากอาหารเม็ดลอยน้ำมีลักษณะเบาและลอยน้ำได้ ซึ่งเม็ดอาหารมีความถ่วงจำเพาะประมาณ 0.25-0.30 กรัม/มิลลิลิตร

3.3.3 ขั้นตอนการทำงานของเครื่องอัดเม็ดลอยน้ำ

การทำงานของเครื่องเริ่มจากการนำอาหารที่ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องผสมอาหารในสภาพแห้ง มาใส่ในภาชนะรองรับ (live bottom holding bin) จากนั้นอาหารผสมจะถูกลำเลียงด้วยเกลียว (feeder screw) เข้ามาในห้องผสมน้ำและไอน้ำ (mixing cylinder หรือ conditioning cylinder) ที่มีลักษณะเป็นกระบอกเดี่ยว หรือ กระบอกคู่ และมีหัวตีอาหารช่วยให้

อาหารผสมกับน้ำและไอน้ำร้อนได้ดีขึ้น ภายในห้องผสมน้ำและไอน้ำจะมีการฉีดน้ำและไอน้ำร้อนเข้ามาผสมกับอาหารประมาณ 20-24 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมความร้อนและอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 125-150 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวจะทำให้อาหารสุก ส่วนระยะเวลาผสมภายในห้องผสมน้ำและไอน้ำขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น สูตรอาหารที่มีไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ ควรผสมไม่เกิน 120-180 วินาที แต่ถ้ามีไขมันมากถึง 22 เปอร์เซ็นต์ (อาหารปลาเซตหนาว) จะผสมได้ถึง 290 วินาที (Kearns, 1989) จากนั้นอาหารผสมดังกล่าวจะถูกลำเลียงมายังกระบอบกอัด (extruder barrel) ที่มีเกลียวอัดอาหารทำหน้าที่อัดอาหารผ่านหน้าแวนด้วยความดันและอุณหภูมิสูง เมื่ออาหารถูกอัดออกมาจะมีความดันลดลง และน้ำในอาหารระเหยเป็นไอ มีผลทำให้อาหารพองตัว เบาและลอยน้ำได้ ข้อดีของการผลิตอาหารเม็ดลอยน้ำ นอกจากอาหารจะลอยน้ำทำให้สังเกตการกินอาหารของปลาได้แล้วยังทำให้แบ่งเกือบทั้งหมดสุกทำให้ปลาสามารถย่อยอาหารและดูดซึมอาหารได้ดีขึ้น แต่ก็ควรระวังความร้อนที่สูงมาก ซึ่งอาจทำลายวิตามินบางชนิดที่ไม่ทนความร้อนโดยเฉพาะวิตามินซี ดังนั้นจึงควรผสมวิตามินซีให้มากกว่าปกติระหว่างการสร้างสูตรอาหาร หรือใช้วิตามินซีชนิดมีสารเคลือบ (coating form) หรือชนิดอนุพันธ์ (derivatives)

4. การย่อยอาหารของปลา

การย่อยอาหารเป็นกระบวนการที่อาหารในท่อทางเดินอาหารถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงเพื่อดูดซึมเข้าผนังทางเดินอาหารเข้าไปในเส้นเลือด โดยโปรตีนจะถูกย่อยเป็นกรดอะมิโน ไขมันจะถูกย่อยเป็นกรดไขมันและกลีเซอริน ส่วนคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยเป็นน้ำตาล กระบวนการเหล่านี้มีเอนไซม์ย่อยอาหารมาทำหน้าที่ย่อยอาหารให้มีขนาดเล็กลงเพื่อนำไปเผาผลาญให้ได้พลังงานต่อไป การย่อยอาหารของปลาเกิดขึ้นที่กระเพาะอาหารและลำไส้ เนื่องจากมีเอนไซม์ย่อยอาหารอยู่หลายชนิด มีปลาเพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีการย่อยอาหารที่ปากและคอหอย (วิรพงษ์, 2536)

4.1 เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteinases)

เป็นเอนไซม์ที่พบในกระเพาะอาหารและลำไส้ เช่น เปปซิน เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบในกระเพาะอาหารของปลาจะมีประสิทธิภาพในการทำงานมากกว่าเปปซินของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมประมาณ 150 เท่า (Ananichev, 1959) เปปซินจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้ดีในสภาพที่เป็นกรด และพบว่าในปลาหากยังไม่มีการกินอาหารจะไม่มีการหลั่งกรดเกลือ ทำให้กระเพาะอาหารของปลามีสภาพเป็นกลาง แต่เมื่อปลากินอาหารจะมีการหลั่งกรดเกลือและทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดอย่างรวดเร็ว เช่นปลาหมอเทศ และปลานิล จะมีพีเอชลดลงเป็น 1.25-1.5 และ 1.4-

1.6 ตามลำดับ และเมื่อเสร็จสิ้นการย่อยอาหารก็จะมีสภาพเป็นกลางดั้งเดิม ปลากินเนื้อจะมีประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เปปซินมากกว่าปลากินพืช (วีรพงศ์, 2536)

Moriarty (1973) กล่าวว่า กระเพาะอาหารตอนต้นของปลานิลมีน้ำย่อยที่มีความเป็นกรดสูง พีเอชอาจต่ำกว่า 1.5 นอกจากนี้ ปลานิลมีการหลั่งเอนไซม์ที่ใช้ย่อยผนังเซลล์พืช โดยหลั่งเอนไซม์ เพคตินเอสเตอเรส (pectinesterase) และโพลีกาแลคตูโรเนส (polygalacturonase) ในกระเพาะ สามารถย่อยผนังเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีเพคติน (pectin) เป็นองค์ประกอบได้ ทำให้มีประสิทธิภาพการย่อยและการใช้ประโยชน์จากแพลงก์ตอนสูง (วีรพงศ์, 2536; อรพินท์, 2550)

เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบในลำไส้ส่วนใหญ่มาจากการหลั่งของผนังลำไส้และตับอ่อน ส่วนน้อยได้จากการหลั่งจากตับ ม้าม ถุงน้ำดี และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณลำไส้ เอนไซม์ที่พบได้แก่ ทริปซิน คัยโมทริปซิน คาร์บอกซีเปปติเดส และอีลาสเตส ลำไส้ปลาส่วนใหญ่จะมีพีเอชอยู่ในช่วง 7-9 แต่เมื่อมีการย่อยอาหารจะมีพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารจะไม่มีการหลั่งกรดเกลือออกมาแต่จะมีการย่อยโปรตีนที่ลำไส้เท่านั้น

Jobling (1986) ศึกษากลไกของน้ำย่อยในกระเพาะอาหารขณะที่ปลายังไม่ได้กินอาหาร และการได้รับอาหารธรรมชาติประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ต่อกระบวนการย่อยและการดูดซึมในลำไส้ พบว่าอาหารที่มีพลังงานสูงและขนาดเล็กจะผ่านลำไส้ไปอย่างรวดเร็วทำให้ประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ลดลง Kawai and Ikeda (1971) พบว่าลำไส้ปลามีเอนไซม์มอลเตส และอะไมเลสมากซึ่งการทำงานเกิดขึ้นในลำไส้ส่วนต้น โดยจะทำหน้าที่อย่างเฉพาะเจาะจงในปลาวัยรุ่น และในปลาวัยรุ่นนี้ พบว่ามีเอนไซม์ไลพ์ทริพซินและมอลเตสน้อยในคอหอย แต่จะมีปริมาณมากในหลอดอาหาร ในปลากินเนื้อโดยเฉพาะปลา red sea bream จะมีปริมาณเอนไซม์มอลเตสมากในระบบย่อยอาหาร

4.2 เอนไซม์ย่อยไขมัน (lipases)

เอนไซม์ย่อยไขมันพบตลอดทางเดินอาหารตั้งแต่กระเพาะอาหาร ไพโลริก ซีกา และลำไส้ เอนไซม์ที่พบส่วนใหญ่จะเป็น ไลเปส ซึ่งจะย่อยไตรกลีเซอไรด์ของกรดไขมัน ในขณะที่เอสเตอเรส (esterases) จะย่อยเอสเทอร์ เอนไซม์เหล่านี้มาจากการหลั่งของผนังลำไส้และตับอ่อน (Hepher, 1988) นอกจากนี้ Pentankar (1973) รายงานว่า ปลากินเนื้อมีการทำงานของเอนไซม์เอสเตอเรสมากกว่าปลากินแพลงก์ตอน ปลากินพืช และปลากินพืชและเนื้อ การทำงานของไลเปสของ

ปลาพบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ย่อยไขมันในกระเพาะอาหารต่ำกว่าในลำไส้ เนื่องจากในกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดสูง ดังนั้นในกระเพาะอาหารจึงทำหน้าที่เพียงบดผสมไขมันแล้วส่งเข้าสู่ลำไส้เพื่อย่อยไขมันให้สมบูรณ์ต่อไป

4.3 เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต (carbohydrases)

ปลาแต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตต่างกันมาก แอลฟา อะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกลูโคส และมอลโตส เอนไซม์อะไมเลสของปลา กินพืช และปลากินพืชและเนื้อ ส่วนใหญ่ได้จากการหลั่งของผนังลำไส้ ผนังกระเพาะอาหาร ตับ ตับอ่อน และไพโลริก ซีกา ในขณะที่ปลากินเนื้อจะหลั่งมาจากตับอ่อนเพียงแห่งเดียว ทำให้ปลากินเนื้อมีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าปลากินพืช

Singh and Nose (1967) กล่าวว่าปลาเรนโบว์ เทร้า ซึ่งเป็นปลากินเนื้อ สามารถย่อยแป้งที่มีอยู่ในอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์ ได้ถึง 69 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าปริมาณแป้งในอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ กลับพบว่าย่อยแป้งได้เพียง 26 เปอร์เซ็นต์ และสามารถย่อยอาหารที่มีเด็กซ์ตรินอยู่ 20 เปอร์เซ็นต์ ได้ถึง 77 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าปริมาณเด็กซ์ตรินเพิ่มขึ้นเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ จะย่อยเด็กซ์ตรินได้เพียง 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างชัดเจนกับปลานิล เมื่อเพิ่มปริมาณเด็กซ์ตรินและแป้งในอาหารพบว่าปลานิลมีความสามารถในการย่อยได้เพิ่มขึ้น เช่นในการศึกษาของ Anderson *et al.* (1984) พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีเด็กซ์ตรินและแป้งข้าวโพดในปริมาณ 10, 25 และ 40 เปอร์เซ็นต์ จะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อได้รับเด็กซ์ตรินและแป้งข้าวโพดที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตที่พบในกระเพาะอาหารและลำไส้ ได้แก่ กลูซิเดส (glucosidases) มอลเตส (maltase) ซูเครส (sucrase) แลคเตส (lactase) และเซลลูโลส (cellulase) ซึ่งมีหน้าที่ย่อยอาหารที่มีความซับซ้อนแตกต่างกันไป ปลาส่วนใหญ่ไม่สามารถหลั่งเอนไซม์เซลลูโลสออกมาย่อยเซลลูโลสได้ด้วยตัวเอง เช่น ปลานิล ปลาเงา ปลาหมอเทศ ปลาไน และปลานวลจันทร์ ซึ่งปลาเหล่านี้สามารถย่อยเซลลูโลสได้เนื่องจากมีการหลั่งเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ในลำไส้ เช่น *Vibrio* และ *Aeromonas* จุลินทรีย์ในลำไส้เหล่านี้ยังมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์วิตามินและกรดอะมิโนบางชนิดอีกด้วย (วีรพงศ์, 2536)

5. ความต้องการสารอาหารของปลานิล

5.1 โปรตีน

ปลาต้องการโปรตีนในปริมาณสูง เมื่อเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์แล้วปลาต้องการโปรตีนในอาหารสูงกว่าสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพราะปลามีประสิทธิภาพในการใช้คาร์โบไฮเดรตได้ต่ำ จำนวนโปรตีนที่ให้ส่วนใหญ่นำมาซึ่งความสามารถในการย่อยได้ของปลา และองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโปรตีนนั้น ปลาแต่ละชนิดต้องการโปรตีนในระดับที่ต่างกัน ปลากินเนื้อต้องการโปรตีนสูงกว่าปลากินทั้งพืช และเนื้อ หรือปลากินพืชอย่างเดียว ระดับโปรตีนที่ปลาต้องการขึ้นอยู่กับอายุ (Jauncey and Ross, 1982) โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อเยื่อปลา 65-75 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย ช่วยในการเจริญเติบโต เป็นแหล่งพลังงานสำรองของร่างกาย เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และเป็นส่วนประกอบของสารที่ควบคุมปฏิกิริยาต่าง ๆ เช่น เอนไซม์ ฮอร์โมน สารต้านทานโรค และอีโมโกลบิน เป็นต้น (วีรพงศ์, 2536) สัตว์มีกระดูกสันหลังในกลุ่มปลา และสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric animal) ต้องการโปรตีน 20-50 เปอร์เซ็นต์ (National Research Council [NRC], 1993) สำหรับปลานิลมีความต้องการโปรตีนในอาหารอยู่ในช่วง 25-40 เปอร์เซ็นต์ ปลานิลขนาดเล็กต้องการโปรตีนสูงกว่าปลานิลขนาดใหญ่ (Tacon, 1981)

Santiago *et al.* (1985); Chang *et al.* (1988) สรุปว่า อาหารที่มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้ออนบาลปลานิล ทำให้มีการเจริญและอัตราการรอดสูง และเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อใช้อาหารที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ และรายงานว่าการปลานิลระยะเริ่มกินอาหาร (first feeding fry) ต้องการโปรตีน 45-50 เปอร์เซ็นต์ ลูกปลานิลขนาด 0.02-2.0 กรัม ต้องการโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ปลานิลขนาด 2.0-35 กรัม ต้องการโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ และปลานิลขนาด 35 กรัม ถึงขนาดตลาด ต้องการโปรตีน 30-32 เปอร์เซ็นต์

Jauncey and Ross (1982) รายงานว่า ปลานิลขนาด 0.5-1.0 กรัม ต้องการโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ และปลานิลขนาด 10-30 กรัม ต้องการโปรตีน 25-30 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Croz and Laudencia (1977) ที่ทดลองเลี้ยงปลาหมอเทศ (*Tilapia mossambica*) โดยใช้อาหารผสมที่มีโปรตีนในระดับต่างๆ กัน พบว่าปลาหมอเทศขนาด 1.0-2.5 กรัม เจริญเติบโตดีที่สุดจะต้องได้รับอาหารที่มีโปรตีน 29-38 เปอร์เซ็นต์

นันทยา และคณะ (2530) รายงานว่า อาหารที่มีโปรตีนต่ำกว่า 24 เปอร์เซ็นต์ ไม่ควรใช้เลี้ยงลูกปลานิลแดง เพราะจะทำให้อัตราการรอดตายต่ำลงได้ Lim and Webster (2006) ได้สรุปความต้องการโปรตีนของปลานิลชนิดต่างๆ ในบางระยะของการเจริญเติบโต และพบว่าปลานิลแดงลูกผสม ขนาด 0.2 กรัม จะต้องการโปรตีนคุณภาพดี 35-45 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความต้องการโปรตีนของปลานิลชนิดต่างๆ ในบางระยะของการเจริญเติบโต

ชนิดปลา	แหล่งโปรตีน	ขนาดปลา (กรัม)	ความต้องการ โปรตีน (%)
<i>O. aureus</i>	casein/ egg	fry-2.5	56
	albumin	2.5-7.5	34
	soybean or fish meal	0.3-0.5	36
<i>O. niloticus</i>	fish meal	0.8	40
		40	30
	casein	0.012	45
		3.5	30
		9.0	25
<i>O. mossambicus</i>	fish meal	fry	40
		0.5-1.0	30-35
		6-30	30-35
red hybrid tilapia	casein/ gelatin	0.2	35-45

ที่มา: ดัดแปลงจาก Lim and Webster (2006)

Jauncey (1998) รายงานว่า ปลานิลระยะเริ่มกินอาหาร ถึง 0.5 กรัม ต้องการโปรตีน 30-56 เปอร์เซ็นต์ (แนะนำ 40-45 เปอร์เซ็นต์) ปลานิลขนาด 0.5-10.0 กรัม ต้องการโปรตีน 30-40 เปอร์เซ็นต์ (แนะนำ 30-35 เปอร์เซ็นต์) ปลานิลขนาด 10.0-30.0 กรัม ต้องการโปรตีน 25-30 เปอร์เซ็นต์ และปลานิลขนาด 30 กรัม จนถึงขนาดตลาด ต้องการโปรตีน 25-30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ได้สรุปความต้องการสารอาหาร กรดอะมิโน และแร่ธาตุหลักในอาหารของปลานิลระยะต่างๆ ไว้ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความต้องการสารอาหารของปลานิล (เปอร์เซ็นต์ในอาหาร)

สารอาหาร	ขนาดของปลานิล				
	fry	fingerling	juvenile	grower	broodstock
โปรตีน (% ต่ำสุด)	45.0	35.0	30.0	30.0	35.0
กรดอะมิโน (% ต่ำสุด)					
arginine	1.6	1.2	1.1	1.1	1.2
histidine	0.6	0.5	0.4	0.4	0.5
isoleucine	1.2	0.9	0.8	0.8	0.9
leucine	1.5	1.2	1.0	1.0	1.2
lysine	2.0	1.6	1.4	1.4	1.6
methionine	0.9	0.7	0.6	0.6	0.7
phenylalanine	1.4	1.1	1.0	1.0	1.1
threonine	1.5	1.2	1.0	1.0	1.2
tryptophane	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
valine	1.1	0.9	0.8	0.8	0.8
ไขมัน (% ต่ำสุด) ¹	8.0	12.0	8.0	8.0	6.0
คาร์โบไฮเดรต (% สูงสุด) ²	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
เยื่อใย (% สูงสุด)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
แร่ธาตุหลัก					
calcium (% สูงสุด)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
phosphorus (% ต่ำสุด) ³	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

หมายเหตุ ¹มีกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-6 อย่างน้อย 1.0 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร

²digestible carbohydrate

³available phosphorus

ที่มา: ดัดแปลงจาก Jauncey (1998)

5.2 ไขมัน

ไขมันเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญต่อร่างกาย สัตว์น้ำแต่ละชนิดต้องการพลังงานเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตในปริมาณที่ต่างกัน ปลาไม่สามารถใช้พลังงานได้ทั้งหมด ความต้องการพลังงานของปลาจะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของน้ำ การทำงานของร่างกาย วิธีการให้อาหาร ปริมาณแสง สิ่งแวดล้อม องค์ประกอบของอาหาร ขนาด อายุ และชนิดของปลา (Halver, 1989) ปลามีความสามารถในการเก็บสะสมไขมันไว้ในร่างกายปริมาณมาก และไม่ควรให้อาหารที่มีไขมันต่ำกว่า 2.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร ระดับที่เหมาะสมของไขมันควรอยู่ในช่วง 3.5-12 เปอร์เซ็นต์ (Yingst and Stickney, 1980) ขณะที่ NRC (1993) แนะนำว่าระดับที่เหมาะสมของไขมันในอาหารปลาควรอยู่ในช่วง 3-15 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร

ความต้องการพลังงานของสัตว์น้ำมีความสัมพันธ์กับระดับโภชนาอื่นๆ โดยเฉพาะโปรตีน ระดับพลังงานที่สัตว์น้ำต้องการประเมินจากอัตราส่วนของพลังงานที่ย่อยได้ต่อโปรตีนในอาหาร (digestible energy/protein feed, DE/P) ที่ทำให้สัตว์น้ำมีน้ำหนักเพิ่มและองค์ประกอบของเนื้อดีที่สุด ซึ่งเป็นระดับพลังงานในอาหารที่มีผลให้สัตว์น้ำใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากการศึกษาพบว่า ความต้องการพลังงานที่ย่อยได้ต่อโปรตีนในอาหาร (DE/P) ของปลาแซลมอนแอตแลนติก คือ 8.7-9.7 กิโลแคลอรี/กรัมโปรตีน ปลาไน 8.3 กิโลแคลอรี/กรัมโปรตีน ส่วนปลานิลต้องการประมาณ 8.2-9.4 กิโลแคลอรี/กรัมโปรตีน (Lovell, 1993)

FAO/UNDP (1980) รายงานว่า ระดับโปรตีนต้องได้สัดส่วนกับระดับพลังงานในอาหาร เพราะปลาจะกินอาหารตามที่ร่างกายต้องการแล้วจะหยุดกิน พลังงานจึงเป็นตัวควบคุมปริมาณการกินอาหารของปลาในแต่ละวัน ถ้าเตรียมอาหารที่มีพลังงานสูงจำเป็นต้องมีโปรตีนและปริมาณของสารอื่นๆ สูงด้วย อาหารที่มีโปรตีนมากเกินไปและมีพลังงานที่มาจากแหล่งอื่นต่ำ จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาหยุดชะงัก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานมาจากโปรตีนมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารลดลง

El-Sayed and Teshima (1992) ศึกษาค่าโปรตีนต่อพลังงานในปลานิลระยะวัยอ่อน เลี้ยงด้วยอาหารที่มีโปรตีน 5 ระดับ คือ 30, 35, 40, 45 และ 50 เปอร์เซ็นต์ อาหารแต่ละระดับโปรตีนมีพลังงานทั้งหมด 3 ระดับ คือ 300, 400 และ 500 กิโลแคลอรี/อาหาร 100 กรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 400 กิโลแคลอรี/อาหาร 100 กรัม มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

Cowey and Sargent (1979) แนะนำว่าระดับไขมันที่เหมาะสมในอาหารปลาส่วนมากอยู่ในช่วง 10-15 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นระดับที่ทำให้ปลาใช้ประโยชน์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีการเจริญเติบโตปกติ และมีผลต่อคุณภาพซากน้อย เช่นเดียวกับ Chou and Shiau (1996) ศึกษาาระดับของไขมันในอาหารที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิลวัยอ่อนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีไขมัน 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตสูงสุด

ปลานิลใช้ไขมันจากน้ำมันถั่วเหลืองและข้าวโพด ที่มีกรดไขมันไลโนลิอิก (18:2n-6; ω -6) เพื่อการเจริญเติบโตดีกว่าน้ำมันปลา (eicosapentaenoic acid; EPA; 20:5n-3) และน้ำมันวัว (โอลิอิก; 18:1n-9) ปลานิลต้องการกรดไขมันจำเป็นในกลุ่มไลโนลิอิก ซึ่งพบมากในน้ำพืชมากกว่ากรดไขมันในกลุ่มไลโนลิอิก (18:3n-3; ω -3) โดยพบว่าอาหารที่มีกรดไขมันกลุ่มไลโนลิอิกมากเกินไปจะทำให้ปลาโตช้า (Stickney and Hardy, 1989) ส่วนแหล่งที่มาและระดับของไขมันในอาหารตั้งแต่ 6-14 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาแตกต่างกัน (Gatlin and Stickney, 1982)

วิล (2536) กล่าวว่า ปลานิลต้องการไขมันในกลุ่มโอเมก้า-6 ในอาหารอย่างน้อย 1.5 เปอร์เซ็นต์ และ Watanabe (1988) รายงานว่า ปลานิลต้องการกรดไขมันไลโนลิอิก 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ หรืออะราชิโดนิก (20:4n-6) 1.0 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร เช่นเดียวกับ Jauncey (1998) กล่าวว่า ปลานิลมีความต้องการไขมันในเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างตามระยะของการเจริญเติบโต แต่ในอาหารควรมีกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-6 อย่างน้อย 1.0 เปอร์เซ็นต์

มานพ และคณะ (2536) รายงานว่า ปลานิลจะใช้ไขมันในอาหารเป็นแหล่งพลังงานและให้กรดไขมัน อาหารปลานิลที่มีไขมันมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เกินจะไม่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ แต่จะไปสะสมตามอวัยวะภายในและกล้ามเนื้อ ถ้าให้ไขมันมากเกินไป 12 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโต เกิดความเครียด และเป็นโรคร่าย

5.3 คาร์โบไฮเดรต

เนื่องจากปลานิลสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสในท่อทางเดินอาหารจึงสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ดี อาหารปลานิลอาจมีวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของแป้งเป็นส่วนผสมได้สูงถึง 30-60 เปอร์เซ็นต์ เวียง (2543) สำหรับอาหารปลานิลขนาดเล็กไม่ควรมีแป้งสูงเกิน 35 เปอร์เซ็นต์ หากเกินจะมีผลเสียต่อการย่อยทำให้ปลาโตช้าและอัตราแลกเนื้อไม่ดี นอกจากนี้

ความสามารถในการย่อยแป้งของปลานิลยังขึ้นอยู่กับความสุกดิบของแป้งด้วย จากรายงานของกลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ (2534) พบว่าปลานิลสามารถย่อยแป้งสาธิตได้ 61 เปอร์เซ็นต์ ย่อยแป้งข้าวโพดได้ 45 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าทำให้แป้งสุกจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้สูงขึ้นอีก 25-30 เปอร์เซ็นต์

วีระพงศ์ และ Wee (2532) รายงานว่า สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนเท่ากันเมื่อเพิ่มระดับแป้งมันสำปะหลังขึ้นจะมีผลให้ไขมันในซากปลานิลเพิ่มขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย แป้งที่ปลาได้รับจะนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในขณะที่โปรตีนถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงพบอยู่เสมอว่าปลาที่ได้รับแป้งมากขึ้นจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

5.4 วิตามิน

Anadu *et al.* (1990) ศึกษาผลของวิตามินซีในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินซี มีการเจริญเติบโตดีกว่าอาหารที่เสริม cobalt choride และอาหารที่มีเสริมวิตามินซี อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับ อรุณี และ รัชณี (2546) ศึกษาในปลานิลขนาด 1.0-1.5 กรัม เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมวิตามินซี พบว่าลูกปลาที่ได้รับวิตามินซีครบถ้วนมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดดีกว่าปลาที่ขาดวิตามินซี และในปลาที่ขาดวิตามินซี ระยะแรกจะเบื่ออาหาร วายน้ำแยกจากกลุ่ม ลำตัวสีคล้ำ ในสัปดาห์ที่ 6 จะมีอาการรุนแรงมากขึ้น ท้องป่อง มีเลือดมากที่เหงือก ลำตัวสีคล้ำมาก เสียการทรงตัว ครีบกร่อน และลำตัวคดงอ

Shelton and Hsu (1999) ศึกษาปริมาณวิตามินซีในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิลลูกผสม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณวิตามินซีที่สะสมในตัวเพิ่มขึ้นตามปริมาณที่ได้รับจากอาหาร วิตามินซีในรูป L-ascorbyl-2-monophosphate-Na (AMP-Na) ที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตเท่ากับ 63.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และวิตามินซีในรูป L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg (AMP-Mg) ปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต เท่ากับ 40.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และสรุปว่าวิตามินซีในรูป AMP-Mg มีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินซีในรูป AMP-Na ถึง 85 เปอร์เซ็นต์

อาหารปลานิลใน 1 กิโลกรัม ควรมีวิตามินบี 2 ในปริมาณ 5-6 มิลลิกรัม วิตามินบี 6 ในปริมาณ 10 มิลลิกรัม (มานพ และคณะ, 2536) ปลานิลสามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 และอินโนซิโตนจากจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ (Lovell, 1989) จึงไม่จำเป็นต้องเติมวิตามินบี 12 ในอาหาร เพราะปลา

นิลมีแหล่งของวิตามินบีโดยเฉพาะวิตามินบี 1 บี 2 และไบโอตินจากแหล่งที่ค่อนข้างดีซึ่งเป็นอาหารหลัก (Lovell and Limsuwan, 1982)

Stickney and Hardy (1989) กล่าวว่า ปลานิลต้องการวิตามินซี 50 มิลลิกรัม วิตามินดี 0.4 มิลลิกรัม ส่วนความต้องการวิตามินอีขึ้นอยู่กับปริมาณของไขมันและการหีนของอาหาร อาหารที่มีไขมัน 3 เปอร์เซ็นต์ ควรมีวิตามินอี 10 มิลลิกรัม อาหารที่มีไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ควรมีวิตามินอี 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แต่ถ้าอาหารที่มีไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ และมีสารกันหีนอยู่ด้วยอาจลดปริมาณวิตามินอีลงเหลือ 25 เปอร์เซ็นต์ ก็เพียงพอ

Thompson *et al.* (1993) ทดสอบผลของวิตามินซี ต่อการลดความเครียดและระบบภูมิคุ้มกันในปลา Atlantic salmon โดยผสมวิตามินซีในอาหารให้กินที่ระดับ 0.082, 0.44, และ 3.17 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 23 สัปดาห์ จากนั้นนำมาพักขังเพื่อให้เกิดความเครียดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าความเครียดทำให้กิจกรรมการใช้ออกซิเจนของเม็ดเลือดขาว (leucocyte respiratory burst) และประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียลดลง และความเครียดทำให้การสร้างแอนติบอดีลดลง โดยเฉพาะกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีต่ำ

5.5 เกลือแร่

Robinson *et al.* (1984) รายงานว่า ปลานิลที่ขาดแคลเซียมจะเจริญเติบโตช้า การใช้ประโยชน์อาหารไม่ค่อยดี พบปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระดูกต่ำ ปลานิลขนาดเล็ก น้ำหนัก 0.4-14 กรัม ต้องการฟอสฟอรัสในอาหารประมาณ 0.46 เปอร์เซ็นต์ เพื่อการเจริญเติบโต และการสร้างกระดูก และพบว่าปลานิล *Oreochromis aureus* ต้องการแคลเซียม ประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ จะเจริญเติบโตดี

6. การประเมินคุณค่าอาหารปลา

การประเมินคุณค่าอาหารปลามีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ทราบประสิทธิภาพอาหารต่อการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีประสิทธิภาพแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลจากการทดลองอาหารกับตัวสัตว์ตามหลักและวิธีการทดลองที่กำหนด การประเมินคุณค่าอาหาร โดยทั่วไปพิจารณาจาก

6.1 การประเมินคุณภาพโปรตีน

โปรตีนเป็นสารอาหารที่ช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตให้แก่องค์กรและเป็นสารอาหารที่มีมูลค่าสูงที่สุดในสูตรอาหาร ซึ่งสัตว์น้ำต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพ โปรตีนที่สัตว์น้ำได้รับจากอาหารเมื่อมีการย่อยและดูดซึมแล้วส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้เพื่อการดำรงชีพ ส่วนที่เหลือนำไปสร้างผลผลิต ในการดำรงชีพนั้นร่างกายต้องการโปรตีนเพื่อใช้ซ่อมแซมเซลล์ที่สึกหรอ หลุดร่วง สร้างเม็ดเลือดแดง สร้างน้ำย่อย และสร้างฮอร์โมน เป็นต้น ดังนั้นความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพจึงมีปริมาณเท่ากับปริมาณโปรตีนที่ถูกขับถ่ายออกนอกร่างกายหรือสลายไปในรูปไนโตรเจนที่ถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะ (endogenous urinary nitrogen) ไนโตรเจนที่ถูกขับออกทางอุจจาระ (metabolic fecal nitrogen) และไนโตรเจนที่สูญหายไปในรูปแบบขน หนัง เกล็ด เมือก และเหงือก สำหรับการประเมินคุณภาพโปรตีนในเบื้องต้นพิจารณาจาก

6.1.1 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER)

เป็นการประเมินความสามารถของโปรตีนในอาหารที่มีผลให้น้ำหนักสัตว์เพิ่มขึ้นโดยคิดเป็นอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของสัตว์กับน้ำหนักของโปรตีนที่ให้สัตว์กิน ตามวิธีการของ Zeitoun *et al.* (1973) ค่า PER ไม่มีเกณฑ์กำหนดที่ชัดเจนว่ามีค่าเท่าไรจึงจัดว่าดี แต่ใช้เพื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง

$$\text{PER} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}} \times 100$$

6.1.2 คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU; เปอร์เซ็นต์)

เป็นค่าที่ศึกษาประสิทธิภาพของโปรตีนซึ่งสัตว์น้ำได้รับจากอาหารโดยการศึกษากميةโปรตีนสะสมหรือกักเก็บในร่างกายสัตว์ต่อปริมาณโปรตีนในอาหารที่สัตว์น้ำได้รับ คำนวณได้จากสัดส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเนื้อที่เพิ่มขึ้นต่อโปรตีนในอาหารที่กิน ตามวิธีการของ Robinson and Wilson (1985) ค่า aNPU ไม่มีเกณฑ์กำหนดที่ชัดเจนว่ามีค่าเท่าไรจึงจัดว่าดี แต่ใช้เพื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง

$$\text{aNPU} = \frac{(\% \text{โปรตีนตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \% \text{โปรตีนตัวปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

6.2 การประเมินคุณภาพของอาหารโดยรวม

เป็นการพิจารณาภาพรวมของคุณภาพอาหารที่ต้องการทดสอบซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต อันเนื่องมาจากคุณภาพโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน หรือสารอาหารอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร การประเมินประสิทธิภาพของอาหารเป็นการเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักตัวสัตว์ที่เพิ่มขึ้นกับน้ำหนักของอาหารที่ได้รับ โดยทั่วไปประเมินจาก

6.2.1 อัตราการเจริญเติบโต (growth rate)

อัตราการเจริญเติบโตเป็นหลักเกณฑ์ที่นิยมมากที่สุด เพราะมีความสะดวกในการคำนวณ อย่างไรก็ตาม การเจริญของปลาอาจไม่ได้เกิดจากการสังเคราะห์โปรตีนเท่านั้น อาจเกิดจากการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อ การทำอาหารทดสอบโดยทั่วไปเมื่อนำไปให้ปลากิน นิยมวัดอัตราการเจริญเติบโตจากน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate)

ก. น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, DWG; กรัม/ตัว/วัน)

$$\text{DWG} = \frac{(\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง (วัน)}}$$

ข. เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, % WG; เปอร์เซ็นต์)

$$\% \text{ WG} = \frac{(\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

ก. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR; เปอร์เซ็นต์/วัน)

$$\text{SGR} = \frac{(\ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง (วัน)}} \times 100$$

6.2.2 อัตราการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion ratio, FCR)

อัตราการเปลี่ยนอาหารหรือประสิทธิภาพการใช้อาหาร เป็นค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักของอาหารที่ให้กิน (dry weight) ต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของสัตว์น้ำ (wet weight) โดยคำนวณตามวิธีการของ Steffens (1989)

$$\text{FCR} = \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

6.2.3 ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion efficiency, FCE)

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารหรือประสิทธิภาพอาหาร (feed efficiency, FE) เป็นค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของตัวสัตว์ต่อน้ำหนักอาหารที่ให้กิน โดยคำนวณตามวิธีการของ Steffens (1989)

$$\text{FCE} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}$$

7. วัตถุดิบแหล่งโปรตีนหลักในการผลิตอาหารปลานิล

7.1 ปลาป่น (fish meal)

ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ที่สำคัญ ให้โปรตีนสูงและมีคุณภาพดี เพราะมีกรดอะมิโนใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์น้ำ โดยมีกรดอะมิโนไลซีน และเมทไธโอนีนสูง รวมทั้งมีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีสูง ปลาป่นที่ผลิตในประเทศไทยมีคุณภาพหลากหลาย และมีความผันแปรทางโภชนาการสูงเนื่องจากการไม่มีการคัดคุณภาพและชนิดของปลาที่นำมาผลิตปลาป่น สำหรับปลาป่นจากต่างประเทศจะมีการคัดคุณภาพและชนิดของปลาทำให้คุณภาพปลาป่นคงที่มีโปรตีนสูงกว่า 63 เปอร์เซ็นต์ จึงนิยมใช้ในสัตว์น้ำวัยอ่อน ที่ระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ หรือในสัตว์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารได้ต่ำ เช่น กุ้ง ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่มีราคาแพง จึงมักถูกปลอมปนด้วยวัสดุอื่นๆ เช่น ทราย เปลือกหอยบด ยูเรีย และขี้ไก่ ทำให้คุณค่าทางอาหารของปลาป่นลดลง ต้องระมัดระวังในการเลือกใช้ เนื่องจากมีผลทำให้สูตรอาหารที่คำนวณไว้ มีค่าโภชนาการไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์ได้

7.2 ถั่วเหลือง (soybean)

ถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูง มีกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิดใกล้เคียงกับปลาป่น แต่มีกรดอะมิโนซิสทีน และ เมทไธโอนีนต่ำ โดยเฉพาะเมทไธโอนีน พบว่า ต่ำกว่าระดับที่ควรจะมี (sub optimal) ดังนั้น เมทไธโอนีนจึงเป็นกรดอะมิโนที่เป็นตัวจำกัดตัวแรก (first limiting amino acid) ในถั่วเหลือง (Jauncey and Ross, 1982) ถั่วเหลืองที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์มีใช้ทั้งที่เป็นถั่วเมล็ด (soy grain) ถั่วอบ ไขมันเต็ม (full fat soybean) และกากถั่วเหลือง (soybean meal)

7.2.1 ถั่วเหลืองเมล็ด (soy grain)

ถั่วเหลืองเมล็ดที่ใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ จะมีโปรตีน 36-38 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมันสูงประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองเมล็ดที่ยังดิบ พบว่ามีสารพิษ ทั้งสารที่เป็นตัวกระตุ้นและตัวแก่แย่ง รวมทั้งสารที่ทำให้เกิดการแพ้ (allergenic) สารเหนียวนาโคหอยพอก (goitrogenic) สารที่ทำให้เกิดการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง และสารด้านการแข็งตัวของเลือด (hemagglutinins) สารซาโปนิน (saponin) ซึ่งเป็นสารขัดขวางการทำงานของน้ำย่อยโคโมทรินพซิน และไลซิโนอะลานีน ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนไลซีนลดลง และที่สำคัญคือ สารยับยั้งการทำงานของ

ของน้ำย่อยทริปซิน (trypsin inhibitor) สารพิษเหล่านี้จะสลายได้ด้วยความร้อน ดังนั้นถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนจึงมีคุณค่าของโภชนะสูงกว่าถั่วเหลืองดิบ แต่ถ้าให้ความร้อนสูงเกินไปจะทำให้เสียคุณค่าทางโภชนะได้ ซึ่งจะมีผลทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนไลซีน และ อาร์จินีน ลดลง

7.2.2 ถั่วอบไขมันเต็ม (full fat soybean)

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองเมล็ดดิบที่ทำให้สุกด้วยเครื่อง extruder โดยอาศัยแรงอัดและเสียดสีเป็นเวลา 15-30 วินาที จนเกิดความร้อน อุณหภูมิ 135-150 องศาเซลเซียส จะมีผลทำให้ถั่วเหลืองสุก มีโปรตีน 36-38 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันสูง 18 เปอร์เซ็นต์ เป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย มีค่าการใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตสูง การย่อยได้ของวัตถุดิบดี และมีกรดไขมันไลโนลีนิกสูง ใช้ได้ดีในอาหารกึ่ง และอาหารปลา ไม่จำเป็นต้องเติมไขมันจากแหล่งภายนอก ถั่วเหลือง extrude ที่จำหน่ายในประเทศไทยมีชื่อทางการค้า ต่างๆ กัน เช่น ยูนิโกร โปรตีน (unigrow protein) เอเจมิลค์ (AJ milk) ซอยส์ มิลค์ (soy milk)

7.2.3 กากถั่วเหลือง (soybean meal)

กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันเมล็ดถั่วเหลือง เมื่อสกัดเอาน้ำมันออกแล้วจะมีโปรตีนเฉลี่ย 44 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับวิธีสกัดน้ำมัน และขนาดของเมล็ด กากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ในทางการค้า แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

ก. กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal solvent extracted) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันด้วยสารละลายอินทรีย์ วิธีการนี้จะต้องใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิต ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอื่นใดเจือปนและปริมาณเยื่อใยต้องไม่เกินมาตรฐานกำหนด กากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันทั้งเปลือกและเนื้อถั่วเหลือง มีโปรตีน 44 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูง ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์

ข. กากถั่วเหลืองจากการสกัดน้ำมันด้วยการหีบหรืออัด (soybean meal mechanical extracted) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันด้วยวิธีหีบอัดทางกายภาพ โดยใช้ความร้อนในกรรมวิธีในการผลิต โปรตีนประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5-6 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูง

6-7 เปอร์เซ็นต์ ถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์ ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอื่นใดเจือปนอยู่เกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเชื้อยีสต์ต้องไม่เกินมาตรฐานกำหนด

ค. กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือกนอกออกแล้วสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal dehulled solvent extracted) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลืองที่เอาเปลือกนอกออกแล้วสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ และใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิตเนื้อถั่วเหลืองที่ได้ต้องไม่มีสิ่งเจือปนและปริมาณเชื้อยีสต์ไม่เกินมาตรฐานกำหนด มีโปรตีน 46-48 เปอร์เซ็นต์ บางแหล่งมีโปรตีนสูงมาก 48-50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ เชื้อยีสต์น้อยประมาณ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะมีโปรตีนสูง แต่รูปแบบของกรดอะมิโนไม่แตกต่างกัน มีคุณค่าทางอาหารมากกว่ากากถั่วเหลืองไม่กะเทาะเปลือก 10-20 เปอร์เซ็นต์

7.3 ถั่วเขียว (mung bean)

7.3.1 ประวัติและถิ่นกำเนิด

ถั่วเขียวหรือรู้จักกันในชื่อ ถั่วทอง (golden gram) เป็นพืชล้มลุกตระกูลถั่วประเภทใบเลี้ยงคู่ อยู่ในวงศ์ Leguminosae มีชื่อพฤกษศาสตร์ว่า *Vigna radiate* (L) Wilzek, *Phaseolus aureus* Roxb., *Phaseolus radiates* L., *Vigna aureus* Roxb. (Daisy, 1979; Duke, 1981) มีถิ่นกำเนิดในประเทศพม่า และอินเดีย ปลูกกันอย่างแพร่หลายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกา จีน และสหรัฐอเมริกา (Sathe, 1996) เป็นพืชอายุสั้น มีช่วงอายุการเก็บเกี่ยว 65-70 วัน สำหรับประเทศไทยสายพันธุ์ที่นิยมปลูก มี 4 ชนิด โดยแบ่งตามรูปร่าง ลักษณะเมล็ด และสีของเปลือก (เพิ่มพูน, 2531; จินตนา และคณะ, 2538) ได้แก่ ถั่วเขียวธรรมดาหรือถั่วเขียวเมล็ดดำ เป็นพันธุ์ที่นิยมใช้ทำถั่วงอก รุ้นเส้น และส่งออก ถ้าปลูกในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์จะให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าพันธุ์อื่นๆ ประมาณ 400 กิโลกรัม/ไร่ ถั่วเขียวสีทองหรือถั่วทอง เป็นพันธุ์ที่เนื้อมีสีเหลืองทอง นิยมใช้ทำขนม เช่น ขนมถั่วแปบ ขนมลูกชุบ เต้าส่วน และเม็ดยอด เพราะมีสีเหลืองน่ารับประทาน ถั่วเขียวผิวมันเมล็ดใหญ่ เป็นพันธุ์ที่มีเมล็ดเป็นมัน มีสีดำ ขนาดใหญ่กว่าพันธุ์อื่น นิยมปลูกกันคือ สายพันธุ์กำแพงเพชร 1 กำแพงเพชร 2 ชัยนาท 72 ชัยนาท 36 และอุททอง 1 เพื่อส่งออกไปสิงคโปร์ฮ่องกง จีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา ถั่วเขียวผิวดำ เป็นพันธุ์ที่เมล็ดมีสีดำ นิยมใช้เพาะถั่วงอกอาหารสัตว์ ทำปุ๋ย และเพื่อส่งออกไปญี่ปุ่น ได้แก่พันธุ์อุททอง 2 และพิษณุโลก 2

7.3.2 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการ

โครงสร้างของเมล็ดถั่วเขียวประกอบด้วย 3 ส่วน คือ เปลือกนอก (seed coat หรือ hull) ประมาณ 12.1 เปอร์เซ็นต์ ใบเลี้ยง (cotyledon) 85.6 เปอร์เซ็นต์ และต้นอ่อน (hypocotyl) 2.3 เปอร์เซ็นต์ ของเมล็ดทั้งหมด (Singh *et al.*, 1968) ถั่วเขียวมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีน 23.6 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเพียงพอ เป็นแหล่งของไลซีนที่ดี แต่มีกรดอะมิโนเมทไธโอนีน และซิสตีนต่ำ (ตารางที่ 4) ส่วนแร่ธาตุและวิตามินในถั่วเขียวจะมีโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสสูง แต่มีปริมาณแคลเซียม เหล็ก และโซเดียมต่ำ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียว

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
ความชื้น	9.7
โปรตีน	23.6
ไขมัน	1.2
เยื่อใย	3.3
เถ้า	4.0
คาร์โบไฮเดรต	58.2

ที่มา: Purseglove (1977)

ก. โปรตีน จะสะสมอยู่ในเมล็ด เกาะรวมกันอยู่เป็นกลุ่ม เรียกกลุ่มของโปรตีนว่าโปรตีนบอดี (protein bodies) ถั่วเขียวมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทุกชนิด โดยมีกรดอะมิโนลิวซีน และไลซีน มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของ FAO/WHO แต่มีปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน และกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ คือ เมทไธโอนีน ต่ำกว่ามาตรฐาน (ตารางที่ 4) ทำให้โปรตีนถั่วเขียวมีข้อจำกัดด้านคุณค่าทางโภชนาการ (limiting amino acid) (Coffmann and Garcia, 1977; Sathe, 1996)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น (กรัม/16 กรัม ไนโตรเจน) ของถั่วเขียว

ชนิดของกรดอะมิโน	เมล็ดถั่วเขียว	โปรตีนถั่วเขียวไฮโซเลท	มาตรฐาน FAO/WHO
อาร์จินีน	6.3	7.0	-
ฮิสติดีน	2.7	2.5	-
ไอโซลิวซีน	6.3	5.5	4.2
ลูซีน	7.7	9.3	4.8
ไลซีน	7.3	6.8	4.2
เมทไธโอนีน	1.5	1.3	2.2
เฟนิลอะลานีน	5.3	6.8	2.8
ทรีโอนีน	3.4	1.8	2.8
ทริปโตเฟน	0.4	-	1.4
วาเลีน	6.9	6.7	4.2

ที่มา: ดัดแปลงจาก Coffmann and Garcia (1977); Sathe (1996)

ข. ไขมัน เมล็ดถั่วเขียวสะสมไขมันไว้ในเมล็ด เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม เรียกว่า spherosomes ในปริมาณต่ำ 2.14-3.00 เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบของไขมันในเมล็ดถั่วเขียว มีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) 27.7 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) 72.8 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณไขมันทั้งหมด โดยกรดไขมันอิ่มตัวประกอบด้วยกรดปาล์มิติก (palmitic acid) 14.1 เปอร์เซ็นต์ และกรดสเตียริก (stearic acid) 4.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวประกอบด้วยกรดโอเลอิก (oleic acid) 20.8 เปอร์เซ็นต์ กรดไลโนลีนิก (linoleic acid) 16.3 เปอร์เซ็นต์ และกรดไลโนลินิก (linolenic acid) 35.7 เปอร์เซ็นต์ (Sathe, 1996)

ค. คาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่เป็นน้ำตาล และโพลีแซ็กคาไรด์ ส่วนที่เป็นน้ำตาลได้แก่ โมโนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส 0.05 เปอร์เซ็นต์ โอลิโกแซ็กคาไรด์ ชนิดไดแซ็กคาไรด์ เช่น ซูโครส 0.3-2.0 เปอร์เซ็นต์ และไตรแซ็กคาไรด์ เช่น ราฟฟิโนส (raffinose) 0.3-2.6 เปอร์เซ็นต์ สตาคิโอส (stachyose) 1.2-2.8 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลเวอร์บาสโคส (verbascose) 1.7-3.8 เปอร์เซ็นต์ (Naivikul and D'Applonia, 1978; Reddy *et al.*, 1984) สำหรับโพลีแซ็กคาไรด์แบ่งได้ 2 ส่วน ส่วนแรกคือ โพลีแซ็กคาไรด์ที่เก็บไว้ในเมล็ด (storage polysaccharide) ได้แก่ สตาร์ช 37.0-53.6 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยอะไมโลแพกติน 70-80 เปอร์เซ็นต์ อะไมโลส 20-

28 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารทั้งหมด ส่วนที่สอง เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง (structural polysaccharide) ได้แก่ เส้นใย (crude fiber) 1.2-12.8 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยลิกนิน (lignin) 2.7-7.2 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส (cellulose) 2.5-4.6 เปอร์เซ็นต์ และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) 0.3-9.1 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณเส้นใยทั้งหมด (Daisy, 1979; Reddy *et al.*, 1984)

ง. เกลือแร่ เมล็ดถั่วเขียวจัดเป็นแหล่งของเกลือแร่ที่ดี โดยมีโพแทสเซียม 1,132 มิลลิกรัม พบมากที่ต้นอ่อน ฟอสฟอรัส 330 มิลลิกรัม แคลเซียม 105 มิลลิกรัม พบมากที่เปลือก นอก โซเดียม 6.0 มิลลิกรัม และเหล็ก 7.1 มิลลิกรัม/100 กรัมของเมล็ด (Duke, 1983)

จ. วิตามิน ประกอบด้วย วิตามินบี 1 (thiamin) 0.5 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 (riboflavin) 0.3 มิลลิกรัม ไนอาซิน (niacin) 2.5 มิลลิกรัม และ กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 4.0 มิลลิกรัม/ 100 กรัมของเมล็ดทั้งหมด (Duke, 1983) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของแร่ธาตุและวิตามินของถั่วเขียว

องค์ประกอบ	ปริมาณ (มิลลิกรัม/100 กรัม)
แคลเซียม	105
ฟอสฟอรัส	330
โพแทสเซียม	1,132
เหล็ก	7.1
โซเดียม	6.0
วิตามินบี 1	0.5
วิตามินบี 2	0.3
ไนอาซิน	2.5
กรดแอสคอร์บิก	4.0

ที่มา: ดัดแปลงจาก Duke (1983)

7.3.3 โปรตีนถั่วเขียว

โปรตีนถั่วเขียวเป็นโปรตีนก้อนกลม (globular protein) ประกอบด้วยส่วนของโปรตีนสะสม (storage proteins) และส่วนที่เป็นเมตาบอลิกโปรตีน (metabolic proteins) สำหรับส่วนของโปรตีนสะสมประกอบด้วยโปรตีนกลอบูลิน (globulin) และโปรตีนอัลบูมิน (albumin) เป็นหลักโดยโปรตีนกลอบูลินมีปริมาณมากที่สุดเป็นโปรตีนที่สามารถละลายได้ในสารละลายเกลือเจือจาง (Sathe *et al.*, 1984) โปรตีนกลอบูลินจะอยู่ในรูปของ วิซิลิน (vicilin; 7S protein) เลกูมิน (legumin; 11S protein) และเบสิก (basic; 8S protein) (Mendoza *et al.*, 2001) ส่วนโปรตีนอัลบูมินละลายได้ในน้ำ และเมตาบอลิกโปรตีนทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมระหว่างการพัฒนาของเมล็ด (Sathe *et al.*, 1984)

7.3.4 สตาร์ชถั่วเขียว

สตาร์ชถั่วเขียวใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นเส้นและการผลิตเส้นชำหริ่มในระดับอุตสาหกรรม วุ้นเส้นมีลักษณะเนื้อใส เส้นมีความสม่ำเสมอ ไม่เปื่อยยุ่ยง่าย (เพิ่มพูน, 2531) เมล็ดสตาร์ช (starch granule) เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีลักษณะค่อนข้างกลมรีคล้ายรูปไตและมีผิวเรียบ

7.3.5 การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียว

ก. การใช้ประโยชน์จากเมล็ดถั่วเขียว เมล็ดถั่วเขียวมีคาร์โบไฮเดรต 73.09 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 19.92 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.25 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 10.11 เปอร์เซ็นต์ และ เยื่อใย 3.21 เปอร์เซ็นต์ (สมชาย, 2526) การใช้ประโยชน์จากเมล็ดถั่วเขียว อาจอยู่ในรูปของเมล็ดพันธุ์ (seed) เพื่อเพาะปลูกและเมล็ด (grain) เพื่อเพาะถั่วงอก โดยพันธุ์ที่นิยมนำมาเพาะถั่วงอกคือถั่วเขียวผิวดำซึ่งจะให้ถั่วงอกที่ขาวอวบและไม่มีกลิ่นเหม็นเขียว นอกจากนี้ถั่วเขียวยังสามารถนำมาทำขนมต่างๆ เช่น ถั่วเขียวต้มน้ำตาล ถั่วกวน เต้าส่วน ขนมจีนน้ำพริก นอกจากการใช้ประโยชน์เหล่านี้แล้ว ถั่วเขียวยังสามารถใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ อีก เช่น สารสกัดจากถั่วเขียวมีคุณสมบัติในการเป็นต้านออกซิเจน (antioxidants)

ข. การใช้ประโยชน์จากเปลือกถั่วเขียว สาร methanolic ที่สกัดได้จากเปลือกถั่วเขียวสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และ non-lipid oxidation ได้เนื่องจาก

สารเมทาโนอิก มีความสามารถในการจับโลหะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุมูลเปอร์ออกซิซึ่งช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และ non-lipid oxidation จึงช่วยลดปัญหากลิ่นและรสชาติอันไม่พึงประสงค์ของอาหารระหว่างการเก็บรักษา (Duh *et al.*, 1999) นอกจากนี้ โปรตีนถั่วเขียวที่มีเปลือกติดมาเรียกว่า กากถั่วเขียว จะมีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยสูง 15-20 เปอร์เซ็นต์ และมีสารสีแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) ใช้เป็นวัตถุเติมให้สารสีในอาหารสัตว์ (อรพินท์, 2550)

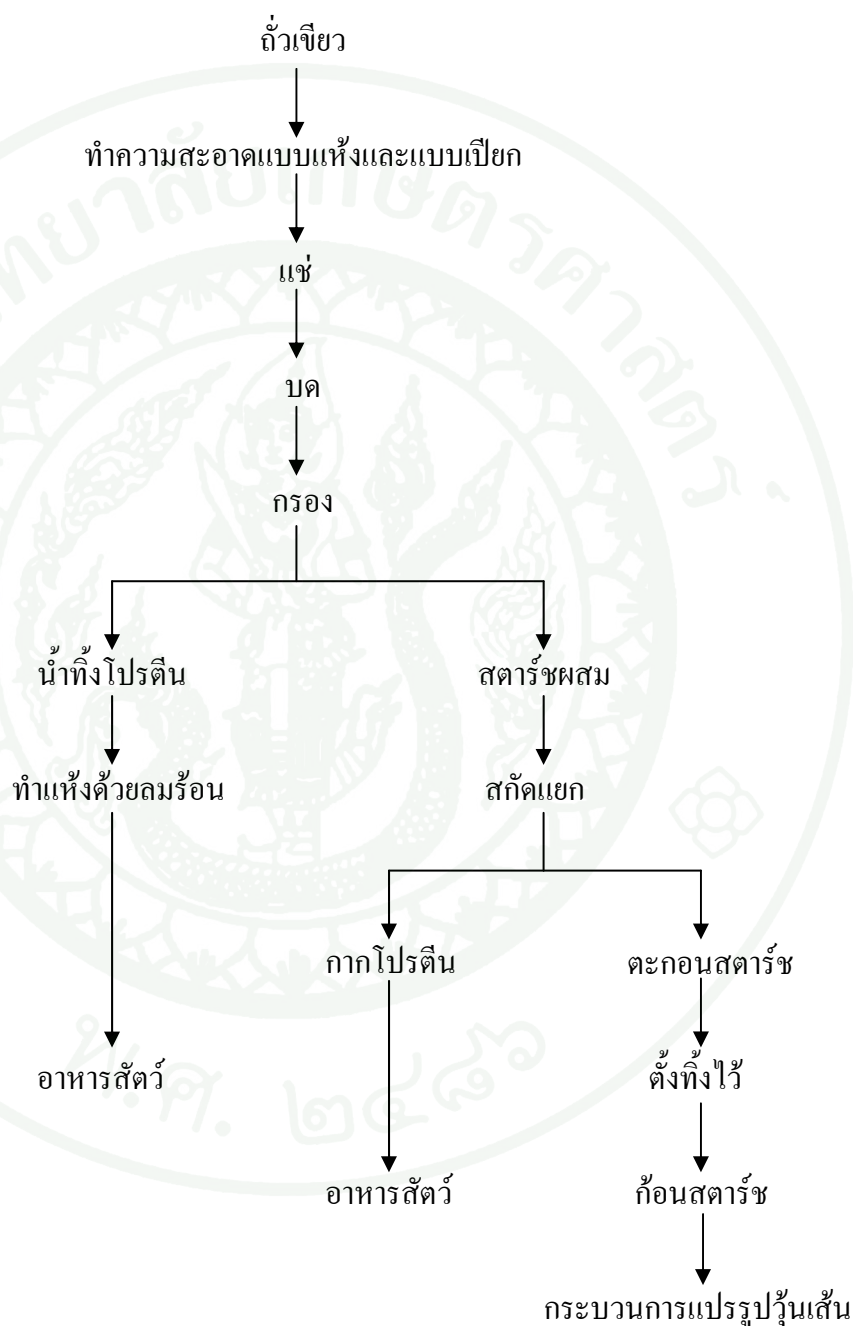
ค. การใช้ประโยชน์จากแป้งถั่วเขียว เช่น ใช้ทดแทนไขมัน โดยการเติมเพสท์ถั่วเขียวเพื่อทดแทนไขมันในเนยถั่วลิสงในปริมาณร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 ในการผลิตคุกกี้ได้ ซึ่งเป็นผลดีต่อผู้บริโภคที่ต้องการรับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำ

ง. การใช้ประโยชน์จากสตาร์ชถั่วเขียว สตาร์ชจากถั่วเขียวใช้เป็นแหล่งของวัตถุดิบในการผลิตวุ้นเส้นและการผลิตเส้นซำหริ่มในระดับอุตสาหกรรม และใช้สตาร์ชจากถั่วเขียวในการผลิตเด็กซ์ตริน (dextrin) ด้วยวิธีเด็กซ์ตรินในเซชัน (dextrinization) โดยการใช้ความร้อนร่วมกับกรดเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะทำให้แป้งมีอุณหภูมิในการเกิดเจลลิ่งในที่สูงขึ้น (Nakasawa, 2003) ได้เด็กซ์ตรินที่เรียกว่า naegeli dextrins ที่ทนต่อกระบวนการผลิตที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง และแป้งที่ได้จะมีความหนืดลดลงทำให้สามารถเติมแป้งในปริมาณที่สูงได้ ซึ่งเป็นที่ต้องการในบางอุตสาหกรรม เช่น ลูกกวาด ลูกอม และซุปรกึ่งสำเร็จรูป

7.3.6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate)

เป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมวุ้นเส้น ซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมการแปรรูปวุ้นเส้นของไทยใช้ถั่วเขียวเป็นวัตถุดิบเริ่มต้น กระบวนการแปรรูปแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนได้แก่ ขั้นตอนการผลิตสตาร์ชถั่วเขียว และ ขั้นตอนการผลิตวุ้นเส้น กระบวนการผลิตสตาร์ชถั่วเขียว (ภาพที่ 1) เริ่มจากทำความสะอาดถั่วเขียวโดยแยกเปลือกและสิ่งแปลกปลอมออก นำไปล้าง แขน้ำ บด และแยกเอาสตาร์ชผสมออกจากน้ำที่มีโปรตีนละลายอยู่ ส่วนของสตาร์ชผสมจะถูกผ่านเข้าเครื่องสกัดแยก (turbo extracting) เพื่อแยกเอาโปรตีนส่วนที่เป็นของแข็ง (residue) ออกไป หลังจากนั้นจะกรองตะกอนสตาร์ชอีก 2-3 ครั้ง เพื่อแยกเอาโปรตีนที่เหลือออกไปอีก จะได้สตาร์ชที่มีคุณภาพสูง เพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์วุ้นเส้นต่อไป (Anantraksakul, 1989) ส่วนตะกอนโปรตีนและของเหลือที่เป็นสารละลายโปรตีน จะนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์ราคาถูกซึ่งมีเป็นจำนวนกว่า 54,000 ตัน/ปี (Jantawat *et al.*, 1998) หรือนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการทำซอสปรุงรส (มลศิริ, 2544) โปรตีนถั่วเขียวที่เป็นผลพลอยได้ คิดเป็น 27 เปอร์เซ็นต์ ของถั่วเขียวที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

(Jantawat *et al.*, 1998) องค์ประกอบทางเคมีของของเหลือสารละลายโปรตีนจากโรงงานผลิตวุ้นเส้นประกอบด้วย ความชื้น 94.92 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 71.65 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.22 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 19.47 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 8.66 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (Anantraksakul, 1989)



ภาพที่ 1 แผนผังกระบวนการผลิตสตาร์ชถั่วเขียว

ที่มา: Anantraksakul (1989)

ก. การสกัดและการทำแห้งโปรตีนถั่วเขียว การแยกโปรตีนถั่วเขียวสามารถทำได้หลายวิธีซึ่งอาจทำได้โดยการตกตะกอนโดยใช้เกลือและแยกตะกอนด้วยวิธีอัลตราฟิลเตรชัน (Anantraksakul, 1989) แต่วิธีที่นิยมคือการตกตะกอนโปรตีนถั่วเขียวจากสารละลายที่จุดไอโซอิเล็กทริก (isoelectric point: pI) โดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโปรตีนด้วยกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดอะซิติกจนถึงจุดไอโซอิเล็กทริกในช่วงความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.0-4.5 ที่ช่วงไอโซอิเล็กทริกนี้โปรตีนจะมีการละลายน้อยที่สุดเนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีประจุสุทธิเท่ากับศูนย์จึงทำให้แรงผลักระหว่างโมเลกุลของโปรตีนต่ำ และแรงดึงดูดกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนมีมากกว่าแรงผลักระหว่างโมเลกุลของโปรตีนต่ำ และแรงดึงดูดกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนมีมากกว่าแรงดึงดูดระหว่างโปรตีนกับน้ำ โปรตีนจึงจับตัวกันเป็นกลุ่มโปรตีน (protein aggregate) และตกตะกอน สามารถแยกตะกอนของโปรตีนออกมาด้วยการหมุนเหวี่ยง จากนั้นจึงทำแห้งโปรตีนถั่วเขียวด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การทำแห้งแบบระเหิด (freeze drying) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) หรือวิธีการทำแห้งด้วยลมร้อนแบบถาด (tray drying) เป็นต้น (พงศสันต์, 2548; อรพิน, 2531; Coffmann and Garcia, 1977)

ข. การใช้ประโยชน์จากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น พบว่ามีรายงานการใช้โปรตีนถั่วเขียวไปผลิตเป็นเนื้อเทียมหรือโปรตีนเกษตร (จินตนา และคณะ, 2538) และทำให้เข้มข้นเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตซอสปรุงรส (มลศิริ, 2544) มีการศึกษาโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mungbean protein concentrates) และโปรตีนถั่วเขียวสกัด (mungbean protein isolates) เพื่อนำไปผลิตเป็นนํ้านมถั่วเขียว (สมจิต, 2529) อาหารว่างชนิดฟองตัวโปรตีนสูง (พจนนา, 2536) คัสตาร์ดแช่เย็น (angel parfait) (Sung and Kyung, 1993) และฟิล์มรับประทานได้ (edible film) (ชัยญาภรณ์, 2540) และยังมีการศึกษาการผลิตโปรตีนถั่วเขียวไฮโดรไลเซต (mungbean protein hydrolysates) เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบปรุงแต่งรสอาหารอีกด้วย (Jantawat *et al.*, 1998)

Jantawat *et al.* (1998) รายงานว่า ในประเทศไทยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ถูกนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์ราคาสูง มากกว่า 54,000 ล้านบาท/ปี และจากการสำรวจของ พงศสันต์ และคณะ (2548) พบว่า มีโรงงานแปรรูปขึ้นเส้นในประเทศไทย ที่นำของเหลือซึ่งเป็นสารละลายโปรตีนถั่วเขียวไปจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์ ในรูปของโปรตีนถั่วเขียวทำแห้ง มีปริมาณการผลิตจาก 7 โรงงาน รวม 102.88 ตัน/วัน ราคาเฉลี่ย 12.56 บาท/กิโลกรัม

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ที่มีโปรตีนสูง 68-72 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนกรดอะมิโน ใกล้เคียงกับกากถั่วเหลือง จึงใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองได้สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเขียวชนิดที่มีโปรตีน

ประมาณ 18-21 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เลี้ยงสุกรรุ่นขุน โดยใช้ทดแทนรำละเอียดได้ทั้งหมด หรือใช้ในระดับ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ในสัตว์กระเพาะรวม สามารถใช้กากถั่วเขียว (ชนิดที่มีโปรตีน 18-21 เปอร์เซ็นต์) ได้สูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารขุน โดยอาจใช้ร่วมกับยูเรีย หรือร่วมกับใบกระถิน เพื่อเป็นการลดต้นทุนค่าอาหาร สำหรับข้อจำกัดในการใช้คือ กากถั่วเส้นชนิดตกตะกอนด้วยการหมัก มีกลิ่นเหม็น ถ้าใช้ในระดับสูง อาหารผสมจะมีกลิ่นเหม็นสัตว์ไม่ชอบ และกากถั่วเส้นชนิดที่มีส่วนเปลือกมาก มีเยื่อใยสูงไม่เหมาะจะนำไปใช้เลี้ยงสุกรเล็ก แต่ในสัตว์กระเพาะรวมสามารถใช้ได้

7.4 การใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารสัตว์น้ำ

Henley (1987) พบว่าปลานิลขนาด 33 กรัม มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลือง 91 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่น 86 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพด 83 เปอร์เซ็นต์ ข้าวสาลี 75 เปอร์เซ็นต์ ไคโรงไก่ป่น 74 เปอร์เซ็นต์ และกากเบียร์ 63 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวมในการย่อยไขมันพืชเท่ากับ 93 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่น 80 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพด 76 เปอร์เซ็นต์ ข้าวสาลี 58 เปอร์เซ็นต์ ไคโรงไก่ป่น 59 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลือง 56 เปอร์เซ็นต์ และกากเบียร์ 30 เปอร์เซ็นต์ และสรุปว่าปลานิลสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนและพลังงานจากวัตถุดิบต่ออาหารที่มาจากสัตว์ได้มากกว่าพืช

วิจิตร (2529) ได้ทดลองใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลแดง ขนาด 1.75-1.77 กรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สรุปว่า แม้ปลานิลแดงจะย่อยกากถั่วเหลืองได้ดี แต่ยังคงทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น พบว่าการเจริญเติบโตของปลายังลดลง

Davis and Stickney (1978) ทดลองใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น ในการเลี้ยงปลานิล พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตดีที่สุด สำหรับ ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นมีอยู่สูงในปลาป่น

Jackson *et al.* (1982) รายงานการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น ในการเลี้ยงปลาหมอเทศ พบว่า การใช้กากถั่วเหลืองแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญเติบโตของปลาดีกว่า การทดแทนที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด และอาหารสูตรที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด

Nyirenda *et al.* (2000) ศึกษาในปลานิล *Oreochromis karongae* ขนาด 4-5 กรัม ในประเทศมาลาวี พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนแหล่งโปรตีนจากสัตว์ (ปลาป่น และเนื้อกระดูกป่น) ที่มีสัดส่วนโปรตีนจากสัตว์ต่อกากถั่วเหลือง 10:0, 5:5 และ 0:10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร 3 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG) อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) และประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (protein efficiency ratio, PER) ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) และสามารถใช้อากถั่วเหลืองได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารปลานิล

Huang (2004) รายงานการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง dehulled soybean meal ในอาหารทดลอง 4 สูตร ที่มีสัดส่วนของปลาป่น 0, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (หรือ 57, 50, 43 และ 29 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลือง) ในปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) ขนาด 155 กรัม เลี้ยงในบ่อคอนกรีตที่มีระบบน้ำหมุนเวียน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (protein efficiency ratio, PER) และองค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงทั้งตัว (muscle composition) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

Goda *et al.* (2007) ได้ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืช 3 ชนิด คือ กากถั่วเหลือง extrude ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และโปรตีนข้าวโพด ในอาหารปลานิล โปรตีน 28 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 19 เมกกะจูล/กิโลกรัม โดยชุดควบคุมเป็นอาหารที่มีแหล่งโปรตีนหลักจากปลาป่น และอาหารทดลองที่ใช้โปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่น มีการเติม แอล-ไลซีน และ ดีแอล-เมทไธโอนีน ให้ครบตามความต้องการของปลานิล นำมาเลี้ยงปลานิล 2 ชนิด คือ *Oreochromis niloticus* และ *Sarotherodon galilaeus* เป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ($P<0.05$) น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย ปริมาณอาหารที่ให้ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าต่ำสุดในปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนข้าวโพด เป็นแหล่งโปรตีน ปลานิลทั้งสองชนิดสามารถใช้ประโยชน์โปรตีนจากกากถั่วเหลืองอีกทอด ในอาหารต่อการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับอัตราแลกเนื้อ พบว่าการใช้ถั่วเหลืองไขมันเต็มเป็นแหล่งโปรตีน มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้พืชโปรตีนชนิดอื่น ส่วนพารามิเตอร์ของคุณค่าประโยชน์ในอาหาร ได้แก่ protein productive value (PPV) fat retention (FR) และ energy retention (ER) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในปลานิลทั้งสองชนิด โดยปลานิล *O. niloticus* สามารถใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลือง extrude และถั่วเหลืองไขมันเต็ม ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพและไม่เกิดผลกระทบต่อ

เจริญเติบโต สำหรับปลานิล *S. galilaeus* พบว่าการใช้กากถั่วเหลือง extrude ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารจะยับยั้งการเจริญเติบโตและคุณภาพของอาหาร

Solton *et al.* (2008) ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชผสม 5 ชนิด ได้แก่ cottonseed, sunflower, canola, sesame meals และ linseed meals ในอาหารปลานิล พบว่าการทดแทนที่ระดับ 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ (apparent digestibilities coefficient, ADC) เมื่อทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในระดับที่สูงขึ้น 60, 75, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารลดลง ($P < 0.05$) สำหรับอาหารปลานิลสามารถใช้โปรตีนพืชทดแทนปลาป่นได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนอาหารต่อกิโลกรัม และราคาอาหารต่อกิโลกรัมปลาที่เพิ่มขึ้น ได้ 11.40 และ 6.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Rizal and Khajareern (2007) ศึกษาการใช้โปรตีนถั่วเขียว 2 ชนิด (70 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน) เพื่อใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อ ในลูกไก่อายุ 1 วัน สรุปว่า โปรตีนถั่วเขียวชนิด 70 เปอร์เซ็นต์โปรตีน สามารถใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองได้ ที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ จะให้ประสิทธิภาพการผลิตไก่เนื้อ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงสุด ส่วนโปรตีนถั่วเขียวชนิด 75 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไม่สามารถใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารไก่เนื้อได้

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ชนิดที่มีโปรตีนสูง 68-72 เปอร์เซ็นต์ จะมีสัดส่วนของกรดอะมิโนใกล้เคียงกับกากถั่วเหลือง (ตารางที่ 6) จึงใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองได้สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเขียวชนิดที่มีโปรตีนประมาณ 18-21 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้เลี้ยงสุกรรุ่นขุน โดยใช้ทดแทนรำละเอียดได้ทั้งหมด หรือใช้ในระดับ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ในสัตว์กระเพาะรวม สามารถใช้กากถั่วเขียว ชนิดที่มีโปรตีน 18-21 เปอร์เซ็นต์ ได้สูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารขุน โดยอาจใช้ร่วมกับยูเรีย หรือร่วมกับไบโกระถิน เพื่อเป็นการลดต้นทุนค่าอาหาร

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนาการของปลาป่น กากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น

ส่วนประกอบ (%)	ปลาป่น		กากถั่วเหลือง		โปรตีนถั่วเขียว
	เกรด 60%	เกรด 55% ¹	เกรด 48% ¹	เกรด 44%	เข้มข้น ¹
โปรตีน	60.00	55.00	48.50	44.00	68.00
กรดอะมิโน					
arginine	3.52	3.22	3.51	3.80	4.70
histidine	1.26	1.15	1.22	1.11	-
isoleucine	2.59	2.37	2.40	2.17	3.66
leucine	4.19	3.84	3.37	3.39	-
lysine	4.57	4.15	3.02	2.73	4.57
methionine	1.57	1.44	0.66	0.59	1.03
phenylalanine+tyrosine	4.16	4.00	4.21	3.82	-
threonine	2.44	2.24	1.91	1.72	1.18
tryptophane	0.62	0.60	0.65	0.59	-
valine	2.95	2.70	2.47	2.24	-
ความชื้น	8.00	8.00	10.00	10.00	8.00
ไขมัน	10.00	8.00	1.00	1.00	0.26
เยื่อใย	0.00	1.00	3.50	7.00	3.20
เถ้า	19.00	26.00	6.00	6.00	2.20
คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ (NFE)	3.00	2.00	31.00	32.00	18.34
แร่ธาตุหลัก					
calcium	5.00	7.70	0.25	0.25	0.13
phosphorus	3.00	3.80	0.20	0.20	0.04
พลังงานที่ย่อยได้ในปลา ²	3,275.00	2,890.00	2,795.00	2,640.00	3,199.30
(digestible energy; Kcal/Kg)					

หมายเหตุ ¹ เป็นเกรดที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

$$^2 \text{พลังงานที่ย่อยได้ในปลา} = \% \text{ โปรตีน} \times 4.0 + \% \text{ ไขมัน} \times 8.0 + \% \text{ NFE} \times 2.5$$

(NRC, 1983)

ที่มา: คัดแปลงจาก อรพินท์ (2550)

Jauncey and Ross (1982) กล่าวว่า สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitor) จะถูกทำลายเมื่อผ่านไอน้ำเดือด 15 นาที สำหรับสารยับยั้งการเจริญเติบโต (haemagglutinin) ที่พบในถั่วเหลือง จะถูกทำลายด้วยความร้อน และ Wilson and Poe (1985) กล่าวว่า สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน ในถั่วเหลือง ถ้าไม่ถูกทำลายถึง 83 เปอร์เซ็นต์ จะไม่ทำให้การเจริญเติบโตของปลาดีขึ้น

Jackson *et al.* (1982); Viola *et al.* (1983) พบว่า สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน จะถูกทำลาย 95-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้ความร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ขึ้นไป และพบว่า สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน ที่ยังเหลืออยู่ในกากถั่วเหลืองที่ผลิตขายในทางการค้า ไม่ได้เป็นปัจจัยจำกัด (limiting factor) ในการเจริญเติบโตของปลา แต่เป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณไม่เพียงพอ ซึ่งจากการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีอยู่ในอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองแทนปลาป่น พบว่า ในกากถั่วเหลืองจะมีกรดอะมิโนเมทไธโอนีน เป็นตัวจำกัด และถ้าหากในอาหารมี เมทไธโอนีน ต่ำกว่า 0.65 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลงอย่างรวดเร็ว จึงแนะนำว่าในอาหารอย่างน้อยควรมีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนตั้งแต่ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และกล่าวว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมัน และไม่ได้สกัดน้ำมัน พบว่า เจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน

7.5 สารไฟโตเอสโตรเจน ในถั่วเขียว

มีรายงานว่าพบสารไฟโตเอสโตรเจนสูงในเมล็ดธัญพืช ผลเบอร์รี่ และพืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเขียว และถั่วเหลือง ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน มีผลโดยตรงต่อการแสดงลักษณะของเพศหญิง กระบวนการเมตาบอลิซึม การทำงานของเอนไซม์ การสร้างโปรตีน และการทำงานของ growth factor ที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ นอกจากนี้ไฟโตเอสโตรเจนจะยับยั้งการแสดงฤทธิ์ของเอสโตรเจนในร่างกาย โดยไฟโตเอสโตรเจนจะแย่งจับ estrogen receptor กับฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงสามารถช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นได้ด้วยฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Helferich *et al.*, 2008) ไฟโตเอสโตรเจนแบ่งออกได้ 3 ชนิด คือ ไอโซฟลาโวน (isoflavone) คูเมสแตน (coumestans) และ ลิกแนน (lignan) ไอโซฟลาโวนซึ่งมีฤทธิ์เหมือนเอสโตรเจนพบในถั่วหลายชนิด และพบมากในถั่วเหลือง ไอโซฟลาโวนที่สำคัญได้แก่ เดดซีน (daidzein) และ จินิสทีน (genistein)

Bennetav-Pelissero *et al.* (2001) กล่าวว่า สาร genistein ที่ความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดการยับยั้งฮอร์โมนเอนโดรเจน เทสโทสเตอโรน ในปลาเรนโบว์เทรา และมียางานว่าสาร genistein และ quercetin มีผลต่ออัตราส่วนเพศของปลา โดย Tzchori *et al.* (2004) รายงานว่า ปลา European eel (*Anguilla anguilla*) ที่ได้รับอาหารที่มีสาร genistein พบว่าอัตราส่วนของปลาเพศเมียสูงกว่าปลาในชุดควบคุม 5 เปอร์เซ็นต์

De-Oca (2005) ได้ทดลองเสริม quercetin ที่ระดับ 10 กรัม/กิโลกรัม เสริม genistein ที่ระดับ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเสริม 17- α -methyltestosterone ที่ระดับ 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในอาหาร ทดลองในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพศเมียล้วน ขนาด 10 มิลลิกรัม/ตัว (first feeding fry) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การเสริม quercetin และ genistein ในอาหาร ไม่มีผลต่ออัตรารอด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ในปลานิลเพศเมีย ส่วนการเสริมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ทำให้ปลานิลเพศเมียเปลี่ยนแปลงเพศเป็นเพศผู้ 86 เปอร์เซ็นต์

Yilmaz *et al.* (2009) ทดลองแช่ลูกปลา Sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) วัยอ่อน ขนาด 2.27 ± 0.12 กรัม/ตัว ด้วยสารไฟโตเอสโตรเจนในรูป genistein (ชื่อการค้าของ genistein) ทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน แล้วเลี้ยงต่ออีก 90 วัน พบว่า ปลาเพศเมียมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสาร genistein ที่ได้รับ แต่ความเข้มข้นของสาร genistein ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลาเพศผู้ พบว่าอัตราส่วนเพศเป็น 1:1 ที่ความเข้มข้น 0, 210 และ 420 มิลลิกรัม/น้ำ 30 ลิตร ของสาร genistein สำหรับที่ความเข้มข้น 630 มิลลิกรัม/น้ำ 30 ลิตร มีอัตราส่วนปลาเพศเมีย 69.77 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเมื่อลูกปลาได้รับสาร genistein ในความเข้มข้นที่สูงกว่า 630 มิลลิกรัม/น้ำ 30 ลิตร ทำให้เปอร์เซ็นต์ปลาเพศเมียเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสาร genistein

8. โรคของปลานิล

โรคเป็นอุปสรรคที่สำคัญอย่างหนึ่งของการเพาะเลี้ยงปลานิล โดยระยะหลังพบว่า ปลานิลเป็นโรคได้ง่ายขึ้น ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ การปล่อยปลาหนาแน่น และขาดการจัดการด้านการเลี้ยงที่ดี ปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรม และการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่ฉับพลัน การตายของปลานิลในบ่อและกระชังบ่อยครั้งมีสาเหตุมาจากคุณภาพน้ำ เช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำ โดยเฉพาะในช่วงที่อุณหภูมิสูง รวมทั้งปริมาณแอมโมเนียสูง จะทำให้ปลา

เกรียคและอ่อนแอ เป็นสาเหตุหนึ่งที่เหนี่ยวนำให้เกิดการระบาดของโรคปลาได้ เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำเหล่านี้มีผลในการตรวจสอบการระบาดของโรค (ชนกันต์, 2548)

โรคของปลานิล สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ โรคติดเชื้อ (infectious diseases) และโรคไม่ติดเชื้อ (non-infectious diseases) โรคติดเชื้อ มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส ปรสิตหรือเชื้อรา เชื้อโรคส่วนใหญ่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมหรือติดมากับปลาซึ่งเป็นพาหะของโรค โรคเหล่านี้สามารถติดต่อกันได้ (contagious diseases) ต้องการการรักษา และการจัดการเพื่อควบคุมการระบาดของโรค ส่วนโรคไม่ติดเชื้อ เกิดจากสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม การขาดสารอาหาร หรือความบกพร่องทางพันธุกรรม ซึ่งเป็นโรคที่ไม่ติดต่อและไม่สามารถใช้ยาในการรักษาได้

8.1 โรคติดเชื้อ (infectious diseases)

8.1.1 โรคติดเชื้อที่เกิดจากปรสิต

ปรสิตจะพบได้ทั่วไป โดยเฉพาะบริเวณเหงือกและผิวหนัง ปลาจะมีเมือกมากผิดปกติ เพื่อพยายามที่จะกำจัดปรสิตให้หลุดออกไป อาจสังเกตเห็นแผลตามลำตัว ปรสิตบางชนิดทำให้ปลาเป็นจุดขาวบนลำตัว สีของปลาที่มีปรสิตเกาะอาจจะซีดหรือเข้มผิดปกติ ปลาวัยน้ำทูลนทุ ราย เนื่องจากกระคายเคือง และพบว่าปลาที่มีปรสิตเกาะจะโตช้า เกิดแผล และติดเชื้อโรคได้ง่าย ตัวอย่างของปรสิตที่พบบ่อยในปลานิลได้แก่

ก. เห็บระฆัง (*Trichodina sp.*) มีลักษณะคล้ายระฆังคว่ำ มีขนรอบตัว (cilia) บริเวณผิวด้านล่างมีอวัยวะยึดเกาะตัวปลาค่ายงจักร พบบริเวณเหงือกและผิวหนังปลานิล ปลาที่มีปรสิตชนิดนี้เกาะมากๆ จะเบื่ออาหาร วัยน้ำพลิกตัวไปมา ปลาจะใช้ลำตัวถูกับภาชนะเพื่อให้ปรสิตหลุด และอาจทำให้ลูกปลานิลขนาดเล็กตายในปริมาณมากได้ พบการระบาดในบ่อที่มีการเลี้ยงหนาแน่นและมีสารอินทรีย์สูง การป้องกันโดยตรวจสอบปรสิตในปลาก่อนนำมาเลี้ยง หากปลาที่มีปรสิตต้องกำจัดโดยใช้ฟอร์มาลิน 25-50 พีพีเอ็ม แช่ตลอด หรือ 100-200 พีพีเอ็ม แช่นาน 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง

ข. ปลิงใส (monogenes) พบเกาะอยู่ตามซี่เหงือกและบริเวณผิวหนัง พบบ่อยในปลาน้ำจืด คือ ชนิด *Gyrodactylus sp.* และ *Dactylogyrus sp.* ส่วนปลิงใสที่พบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดไจรัส (*Cichlidogyrus sp.*) ปลาที่มีปรสิตชนิดนี้เกาะลำตัวจะมีสีเข้มกว่าปกติ เบื่ออาหาร

หากเกาะบริเวณซึ่งเหงือกจำนวนมาก ทำให้เหงือกบวม อักเสบ และการแลกเปลี่ยนออกซิเจนของ ปลาตกลง มีผลให้ปลาตายได้ วิธีการรักษาใช้ฟอร์มาลิน 25-40 พีพีเอ็ม แช่ 24 ชั่วโมง หรือใช้ดิฟเทอริ็กซ์ 0.25-0.50 พีพีเอ็ม แช่ 24 ชั่วโมง

ค. เห็บปลา เห็บปลามีรูปร่างกลมสีเขียวปนน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 5-7 มิลลิเมตร พบตามลำตัวและครีบในปลามีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาไน ปลาตะเพียน และปลาช่อน ปลาที่มีปรสิตชนิดนี้เกาะจะเกิดแผลตกลือด ปลาว่ายน้ำทวนทวน ปลาจะพยายามงูตัวกับภาชนะเพื่อให้ปรสิตหลุดออก การรักษาโดยการแช่ปลาในดิฟเทอริ็กซ์ 0.25-0.50 พีพีเอ็ม

ง. หมัดปลา หมัดปลามีลำตัวยาวรีและเป็นปล้อง มีสีแดงเข้มจนเกือบดำ ปลาที่มีหมัดปลาเกาะจะว่ายน้ำทวนทวน กระโดดขึ้นผิวน้ำ หมัดจะดูดเลือดปลาเป็นอาหาร ถ้าหมัดเกาะเป็นจำนวนมากทำให้ปลาตายได้ ปลาที่พบ ได้แก่ ปลานิล ปลาสวาย และปลาบึก การรักษาโดยแช่ในดิฟเทอริ็กซ์ 0.25-0.50 พีพีเอ็ม สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกัน 3-4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม การใช้ดิฟเทอริ็กซ์ 0.25 พีพีเอ็ม มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ควบคุมการทำงานของระบบประสาทให้ลดลงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่ทำให้ปลาตาย (Guimaraes *et al.*, 2007)

8.1.2 โรคติดเชื้อจากไวรัส

ปลาที่ติดเชื้อไวรัส หากในการตรวจวินิจฉัยและไม่มียารักษา สำหรับปลานิลในประเทศไทยไม่มีรายงานการเกิดโรคจากเชื้อไวรัส

8.1.3 โรคติดเชื้อจากเชื้อรา

สปอร์ของเชื้อราพบอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำ เชื้อราที่พบบ่อยได้แก่ *Saprolegnia* ส่วนใหญ่จะติดเชื้อในไข่ที่มีการฟักไม่ดี เมื่อปลาเกิดบาดแผล เกิดการบอบช้ำจากการขนส่ง หรือการติดเชื้อจากปรสิตหรือไวรัส เชื้อราสามารถเจริญบนบาดแผลดังกล่าวได้ ทำให้เห็นเชื้อราเป็นปุยสีขาวหรือน้ำตาลปรากฏอยู่ สารเคมีที่ใช้ในการกำจัดเชื้อราคือ ฟอร์มาลิน และ ด่างทับทิม เนื่องจากการติดเชื้อจากเชื้อรา จะมาจากสาเหตุอื่นเหนี่ยวนำ ดังนั้นต้องตรวจสอบสาเหตุเบื้องต้นของการติดเชื้อรา เพื่อจะได้แก้ไขปัญหาค้นหาที่ต้นเหตุ

8.1.4 โรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียพบได้ทั่วไปและมีอยู่แล้วในน้ำ ดิน อากาศ และในตัวปลา เชื้อแบคทีเรียสามารถแบ่งตัวได้อย่างรวดเร็ว เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่น อุณหภูมิ พีเอช และอาหารที่เหมาะสม อุณหภูมิสูงจะช่วยให้เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ โดยจะพบปลาป่วยจากเชื้อแบคทีเรียในฤดูร้อนมากกว่าฤดูหนาว แบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคมักจะทำอันตรายต่อปลาเมื่อปลาอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง มีปรสิตภายนอกจำนวนมากเกาะตามตัว หรือปลาได้รับอาหารที่ไม่เหมาะสม สิ่งต่างๆ เหล่านี้จะเป็นสาเหตุโน้มนำให้ปลาอ่อนแอ แล้วเชื้อแบคทีเรียเข้าซ้ำเติม

แบคทีเรียแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่มีรูปร่างกลม ซึ่งส่วนใหญ่จะติดสีแกรมบวก (สีม่วง) และกลุ่มที่มีรูปร่างเป็นแท่ง โดยส่วนใหญ่จะติดสีแกรมลบ (สีแดง) เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะสร้างสารพิษ (toxin) เช่น สารพิษทำลายเม็ดเลือด (hemolytic toxin) สารพิษทำลายโปรตีน (proteolytic toxin) ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะทำให้ปลานิลป่วยและตายจำนวนมาก ในกรณีทำลายเม็ดเลือดจะทำให้ปลาขาดเลือด เลือดจาง ไม่สามารถนำออกซิเจนไปเลี้ยงร่างกายได้ ปลาจะแสดงอาการขาดออกซิเจน ว่ายผิวน้ำ สูดอากาศที่ผิวน้ำ นอกจากนี้ลักษณะเด่นของการติดเชื้อจากแบคทีเรีย คือ มีการตกเลือด ท้องบวม กกหุบม มีน้ำในช่องท้อง มีแผลตามลำตัว มีอาการตัวเหลือง และปลาไม่กินอาหาร เชื้อแบคทีเรียที่พบในปลานิลมีหลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila* เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* ทั้งชนิด *S. agalactiae* และ *S. iniae* และ *Flavobacterium columnaris* (หรือ *Flexibacter columnaris*)

ก. โรคเกิดจากเชื้อแอโรโมแนส (*Aeromonas hydrophila*) เป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจมากในการเลี้ยงปลาคู ปลานิล กบและปลาน้ำจืดอื่นๆ และมักพบบ่อยในบ่อที่เลี้ยงโดยให้อาหารสดหรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน โดยพบเชื้อชนิดนี้มากในแหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง สาเหตุที่เหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อ ได้แก่ ความเครียดจากการขนส่ง ปริมาณออกซิเจนต่ำ การให้อาหารที่ไม่เหมาะสม และมีปรสิตเกาะตามตัวเป็นจำนวนมาก พบว่าปลาที่ติดเชื้อจะว่ายน้ำเฉื่อยชา ไม่กินอาหาร ครีบก้อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผลเป็นหลุม ลึก ท้องบวม ตับเหลือง มีการตกเลือดบริเวณอวัยวะภายใน

ข. โรคเกิดจากเชื้อแฟล็กซ์แบคเตอร์ (*Flexibacter columnaris*) หรือโรคคอลิมนาริส ปลาจะติดเชื้อชนิดนี้ได้ง่ายเมื่อเกิดความเครียดจากการขนส่ง โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อน และ

ช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงของอากาศอย่างกะทันหัน พบว่า ปลาจะตัวค้ำงซีดเป็นแถบๆ มีเมือกมาก ผิดปกติ ครีบกร่อน และเหงือกกร่อน อาจพบการสร้างสารสีเหลืองเกิดขึ้นบริเวณบาดแผล

ค. โรคติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* sp.) ปลาชนิดที่ติดเชื้อแบคทีเรียนี้จะมีตาโปน ตาขุ่นขาว ว่ายน้ำช้าๆ ลอยนิ่ง รอบๆ ช่องขับถ่ายจะบวมแดง มักจะระบากรุนแรงในหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง เชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย แต่ที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากคือเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* ซึ่งเรียกว่าโรคสเตรปโตคอคคัสซิส (streptococcosis) (จิระศักดิ์, 2551)

8.1.5 โรคสเตรปโตคอคคัสซิสในปลานิล

ก. สาเหตุของโรค เกิดจากแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* โดยมีสาเหตุโน้มนำมาจากคุณภาพน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น อุณหภูมิสูง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ ปริมาณแอมโมเนียสูง อาหารมีคุณภาพไม่เหมาะสม มีสารพิษในแหล่งน้ำ เช่น ยาฆ่าแมลง รวมทั้งสารพิษจากสาหร่าย ซึ่งมีผลทำให้ปลาอ่อนแอ และเกิดความเครียด แล้วมีเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เข้าแทรกซ้อน มีหลักฐานรายงานในต่างประเทศอย่างกว้างขวาง ว่า ปลานิลที่ป่วย ตรวจพบเชื้อ *S. agalactiae* และ *S. iniae* ส่วนในประเทศไทยมีรายงานว่าสาเหตุของโรคสเตรปโตคอคคัสซิส เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* เป็นส่วนใหญ่ (ชาญณรงค์, 2551) จากรายงานของ นเรศ และคณะ (2548) พบเชื้อ *S. agalactiae* ในปลานิลและปลากะพงขาว ในภาคใต้ของประเทศไทย สำหรับ นิลุบล และคณะ (2549) รายงานว่า *S. agalactiae* เป็นสาเหตุของโรคสเตรปโตคอคคัสซิสในปลานิล ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย นอกจากนี้ รัชต์ และ ดวงพร (2550) ได้แยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตคอคคัส ที่ก่อโรคในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ด้วยวิธีอนุชีววิทยา สรุปว่า เกิดจากเชื้อ *S. iniae* และเป็นการยืนยันการพบเชื้อ *S. iniae* ครั้งแรกในประเทศไทย

ข. ลักษณะของแบคทีเรีย แบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตคอคคัสจะมีรูปร่างกลม ข้อมดัดสีแกรมบวก (gram positive) มีการเรียงตัวของเซลล์เป็นแบบสายโซ่ เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 ไมครอน ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างน้ำย่อยออกซิเดส (oxidase-negative) ไม่สร้างน้ำย่อยคะตะเลส (catalase-negative) ไม่เคลื่อนที่ ใช้คาร์โบไฮเดรตได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน (facultative anaerobe) และเป็นแบคทีเรียที่ค่อนข้างเพาะเลี้ยงได้ยาก (fastidious bacteria) ดังนั้น

อาหารที่เลี้ยงต้องเป็นอาหารที่อุดม (enrich media) ที่ต้องเติมเลือด พลาสมา ซีรัม หรือน้ำไขสันหลัง ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น trypticase soy agar (TAS)+5 % sheep blood agar เมื่อแบคทีเรียเจริญ บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดเป็นส่วนประกอบจะพบการสลายเซลล์เม็ดเลือดแดง (hemolysis) สังเกต ได้จากการเกิดเป็นส่วนในสโตรบๆ โคลน

ค. การก่อโรคของแบคทีเรีย แบคทีเรียสเตปโตคอคคัส พบว่าเชื้อจะเข้าสู่ ร่างกายของปลาทางปาก เหงือก หรือบาดแผล เข้าสู่ระบบเลือด และเข้าทำลายอวัยวะภายใน โดย การปล่อยน้ำย่อยและสารพิษ ปลาที่ติดเชื้อจะมีการดังนี้

1) อาการภายนอก (external signs) ปลาที่ติดเชื้อจะว่ายน้ำหมุนเป็นวงกลม เลื้อยขา ตัวงอ ตาโปนและขาวขึ้นข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง เป็นฝีนองโดยพบตุ่มหนองเล็กๆ บริเวณกรามล่างด้านในปาก เมื่อตุ่มหนองแตกจะเกิดเป็นแผลหลุมที่มีเลือดออก (hemorrhagic ulcer) นอกจากนี้อาจพบตุ่มหนองขนาดใหญ่บริเวณกรีบอกและโคนหาง พบเลือดออกที่ผิวหนัง (skin haemorrhages) บริเวณรอบปากและทวารหนัก หรือฐานของกรีบ (Evans and Pasnik, 2006)

2) อาการภายใน (internal signs) ปลาที่ติดเชื้อระยะแรกไม่พบอาหารใน กระเพาะอาหาร ปลาไม่มีกิจกรรมของระบบทางเดินอาหารโดยสังเกตได้จากการขยายใหญ่ของถุง น้ำดี พบการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) โดยพบอาการมีเลือดออกและการอักเสบของตับ ม้าม ไต หัวใจ ตา สมอง และลำไส้ ตับและม้ามจะขยายใหญ่ สมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และพบ การอักเสบของเยื่อช่องท้อง (peritonitis)

ง. ระบาดวิทยาของโรค โรคสเตปโตคอคคโคซิสพบการระบาดในหลาย ประเทศในเอเชีย ได้แก่ ไทย จีน มาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ และญี่ปุ่น สำหรับชนิด ของปลาที่พบโรคนี้นี้ ได้แก่ ปลานิล ปลานิลแดง ปลาเรนโบว์ เทร้าท์ และปลาหางเหลือง มีอัตราการ ตายมากกว่า 30-50 เปอร์เซ็นต์ โดยพบการเกิดโรคในปลาที่มีขนาดตั้งแต่ 10 กรัม ถึง 1 กิโลกรัม ปลาที่มีขนาดใหญ่ 100 กรัม ถึง 1 กิโลกรัม จะไวต่อการติดเชื้อมากกว่าปลาขนาดเล็ก (Office International des Epizooties [OIE], 2007)

จ. การวินิจฉัยโรค วินิจฉัยจากอาการและลักษณะภายนอก แล้วทำการเพาะ แยกเชื้อจากอวัยวะต่างๆ ของปลา เช่น ตับ ม้าม ไต และสมอง ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด trypticase soy agar (TSA), blood agar (BA) หรือ brain heart infusion agar (BHIA) เพื่อพิสูจน์เชื้อโดยอาศัย

ลักษณะของหมวดหมู่และคุณสมบัติทางชีวเคมี หรือใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) และ เทคนิคดีเอ็นเอ ไฮบริไดซ์เซชัน (DNA hybridization) ซึ่งมีความแม่นยำสูงและเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน

ฉ. การป้องกันโรค เน้นการเฝ้าระวัง หมั่นตรวจสอบสภาพปลา และปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสม อย่าให้ปลาเกิดความเครียด หากพบปลาป่วยให้แยกออกจากบ่อ และนำปลาป่วยไปเผาหรือฝัง ควรใช้ยาฆ่าเชื้อในน้ำ เช่น โปวิโดน ไอโอดีน หรือ เบเคซี (benzalkonium chloride) ถ้าอุณหภูมิอากาศสูง ควรพรางแสงแดด ไม่ให้แสงลงบ่อมากเกินไป ส่วนอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ภายในฟาร์ม ควรทำความสะอาดและใช้แยกบ่อ

อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศที่กล่าวถึงการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียชนิดนี้ เช่น นิลบล และคณะ (2549) ทดลองใช้วัคซีนเชื้อตายของ *Streptococcus agalactiae* กับปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง ในแม่น้ำชี จังหวัดมหาสารคาม พบว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดตายสูงกว่าปลานิลกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน 40 เปอร์เซ็นต์

Klesius *et al.* (2006) ได้ทดลองแช่ปลานิลขนาดน้ำหนัก 0.1-10 กรัม ในวัคซีนจากเชื้อ *Streptococcus iniae* พบว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน 46 เปอร์เซ็นต์

ซ. การรักษาโรค เนื่องจากเป็นการติดเชื้อภายใน ซึ่งต้องรักษาโดยผสมยาปฏิชีวนะในอาหาร กลุ่มยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย ได้แก่ ออกซิเททราไซคลิน เทตราซัยคลิน ออกโซลินิกแอซิด (oxolinic acid) นาลิดิกแอซิด (nalidixic acid) และ ซัลฟาเมทอซอล/ไตรเมโทพริม (sulfamethoxazole/trimethoprim) ควรใช้ยาดัดต่อกัน 5-14 วัน แล้วแต่ชนิดของยา อย่างไรก็ตาม ไม่ควรใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันโรค เพราะจะทำให้เกิดการดื้อยา และควรหยุดใช้ยาอย่างน้อย 21 วัน ก่อนจับขาย เพื่อป้องกันการตกค้างของยาในสัตว์น้ำ (จิระศักดิ์, 2551)

อย่างไรก็ตาม การใช้ยาปฏิชีวนะบางครั้งไม่ได้ผล เนื่องจากเชื้อที่ก่อโรคคือยา โดยยานั้นเคยถูกใช้มาก่อนจากฟาร์มเพาะพันธุ์ลูกปลา หรือเกิดจากปลาที่ป่วยไม่กินอาหารทำให้ได้รับยาในปริมาณที่ไม่เพียงพอ นอกจากนี้ ยังพบปลามีอาการดีขึ้น มีอัตราการตายลดลงหลังการให้ยา แต่พบปลาเริ่มป่วยใหม่อีกครั้งหลังจากหยุดให้ยา ทั้งนี้เนื่องจาก ยังมีเชื้อนี้อยู่ในตัวปลา โดยเชื้อสามารถ

ซ่อนอยู่ในเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจของปลาได้ จึงควรให้ยาคิดต่อกันหลายวัน และควรเสริมอาหารด้วยวิตามินบำรุงเลือดปลา (Shoemaker *et al.*, 2006)

8.2 โรคไม่ติดเชื้อ (non-infectious diseases)

8.2.1 โรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม

โรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่มีสาเหตุจากปัญหาออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ (ไม่ควรต่ำกว่า 3 พีพีเอ็ม) หรือมีปริมาณแอมโมเนียที่สูง (ไม่ควรเกิน 0.02 พีพีเอ็ม) หรือปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่น ปลาจะแสดงอาการว่ายน้ำลอยหัวในช่วงเช้ามืด ปลาจะตายจับปล้นในจำนวนมาก การแก้ปัญหา โดยการเปลี่ยนถ่ายน้ำ หรือใช้เครื่องตีน้ำหรือเครื่องให้อากาศเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในบ่อ นอกจากนี้สารพิษจากยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช หรือ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาจทำให้ปลาตายจำนวนมาก โดยปลาจะจับเมื่อออกจากตัว กระพุ้งแก้มเปิดกว้าง การตายในลักษณะนี้แก้ไขได้ยาก จำเป็นต้องมีการป้องกันที่ดี

8.2.2 ปัญหาความแปรปรวนของสภาพอากาศ

ปัญหานี้เป็นปัญหาที่อยู่เหนือการควบคุมได้ เกษตรกรต้องเฝ้าระวังไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำอย่างรวดเร็วเกินไป การจัดการคุณภาพน้ำที่ดีจะเป็นวิธีการในการป้องกันโรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมได้

8.2.3 ปัญหาด้านการจัดการระหว่างการเลี้ยง

การจัดการระหว่างการเลี้ยงควรระมัดระวังอย่าให้ปลาบอบช้ำเมื่อมีการขนย้าย อาจใช้เกลือแกง (NaCl) 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดความเครียดระหว่างการขนส่ง รวมทั้งการสะสมเลนและของเสียต่างๆ ที่พื้นบ่อ จะทำให้ปลาโตช้า เกิดโรคได้ง่าย และทำให้ปลามีกลิ่นโคลน ดังนั้น ก่อนปล่อยปลาทุกครั้งต้องมีการเตรียมบ่อที่ดี กำจัดเลนก้นบ่อ ตากบ่อให้แห้งสนิท ปรับสภาพพื้นบ่อด้วยปูนขาว รวมทั้งการจัดการด้านอาหารและการให้อาหารที่ดี

9. การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและสารอาหารที่มีผลต่อสุขภาพปลา

9.1 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลา

ในสัตว์ชั้นสูงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune response) เป็นปฏิกิริยาตอบสนองสิ่งแปลกปลอมหรือ antigen ที่เข้าสู่ร่างกาย แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทแรก การตอบสนองแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immune response) เป็นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการทำงานของเซลล์ polymorphonuclear cell และ macrophage โดยกระบวนการ phagocytosis ซึ่งกระบวนการนี้จะเกิดได้ดีเมื่อได้รับการช่วยเหลือจาก antibody และ complement และประเภทที่ 2 การตอบสนองแบบจำเพาะเจาะจง (specific immune response) เป็นการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เป็น antigen โดยการทำงานร่วมกันของ cell macrophage, T-lymphocyte และ B-lymphocyte แบ่งได้ 2 แบบคือ แบบแรก การตอบสนองทางด้านการสร้าง antibody ที่จำเพาะต่อ antigen ในการกำจัด antigen (humoral immune response) โดยการทำงานของ B-lymphocyte และ plasma cell และแบบที่ 2 คือ การตอบสนองทางด้านเซลล์ (cell-mediated immune response) เป็นการตอบสนองของ T-lymphocyte ร่วมกับเซลล์ชนิดอื่น เช่น active macrophage และ natural killer cell เพื่อทำหน้าที่กำจัด antigen (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537)

ปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดแรกที่มีระบบภูมิคุ้มกันแต่พัฒนาการของระบบภูมิคุ้มกันแตกต่างจากสัตว์บกและสัตว์เลื้อยคลาน โดยระบบภูมิคุ้มกันทั่วไปจะมีการทำงานร่วมกันทั้ง สารน้ำ (humoral immunity) และเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (cell-mediated immunity) แต่ในปลาจะเป็นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเป็นหลัก ในการป้องกันร่างกายโดยมีกระบวนการ phagocytosis เป็นกระบวนการแรกที่จะช่วยป้องกันสิ่งแปลกปลอมไม่ให้เข้าสู่ตัวปลา โดยเฉพาะในระยะที่ระบบภูมิคุ้มกันยังพัฒนาไม่เต็มที่ (Mannig and Mughal, 1985) อวัยวะและเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลาประกอบด้วย

9.1.1 อวัยวะน้ำเหลือง (lymphoid organ)

ในปลากระดูกแข็งได้แก่ ต่อมไขมัส ที่ประกอบด้วย lymphocyte ที่กำลังพัฒนาจำนวนมาก ใต้ผิวหนัง ประกอบด้วย haemopoietic tissue ที่มีเซลล์ lymphocyte, macrophage และ plasma cell ซึ่งทำหน้าที่สร้างแอนติบอดี และม้ามประกอบด้วยหลอดเลือดขนาดเล็ก (ellipsoid) ที่มี macrophage และ reticular fiber จำนวนมาก ม้ามทำหน้าที่ทำลายเม็ดเลือดแดง และ

เก็บสะสมเหล็กเพื่อนำกลับมาสร้างเม็ดเลือด การพัฒนาของอวัยวะน้ำเหลืองในปลาพิจารณาจากการพบ lymphocyte ในอวัยวะดังกล่าว ในปลาส่วนใหญ่จะมีการพัฒนาที่ต่อมไขกระดูกเป็นอวัยวะแรก ถัดมาเป็นไตส่วนหน้าและม้ามตามลำดับ การพัฒนาของต่อมไขกระดูกและไตส่วนหน้ามีความสัมพันธ์กับขนาด น้ำหนักตัวปลา มากกว่าอายุ และมีความแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด (Ellis, 1988)

9.1.2 เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (cell-mediated immunity)

ในปลากระดูกแข็งประกอบด้วย lymphocyte, plasma cell, macrophage, basophil, eosinophil และ neutrophil โดยจะมี monocyte หรือ macrophage และ neutrophil เป็นหลัก macrophage ของปลาพบในช่องกะตัว (body cavity) เหงือก ม้าม และ endothelial cells ในไต ซึ่งเป็น lymphoid organ ของปลา และพบ natural cytotoxic cell ที่ทำหน้าที่เหมือนกับ natural killer cell ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Iwama and Nakanishi, 1996)

Tizard (2004) กล่าวว่า การสร้างแอนติบอดีของปลาแตกต่างจากสัตว์เลือดอุ่นในส่วนของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง และชนิดของแอนติบอดี สารน้ำในระบบภูมิคุ้มกันของปลา (humoral immunity) มีทั้ง คอมพลีเมนต์ (complement) และ อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) ที่พบได้ในซีรัมและของเหลวในตัวปลา อิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ชั้นสูงทั่วไป มี 5 ชนิด คือ IgG, IgM, IgE, IgA และ IgD แต่ในปลาจะพบมีเพียง IgM เท่านั้น และเป็น tetramer (มี 4 แขน หรือ 4 domains) แตกต่างจาก IgM ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่เป็น pentamer (มี 5 แขน หรือ 5 domains) จึงทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของ IgM ในปลาคือต่ำกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

9.2 สารอาหารที่มีผลต่อสุขภาพปลา

อาหารมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับการเกิดโรค หากร่างกายขาดสารอาหารที่จำเป็นจะทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมีการเปลี่ยนแปลง (McKenzie *et al.*, 1998) ส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอและติดเชื้อโรคได้ง่าย Tewe (1985) รายงานว่า โปรตีนทั้งหมดในซีรัม และอัลบูมิน จะได้รับอิทธิพลโดยตรงจากทั้งคุณภาพและปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร เช่นเดียวกับ Keneko *et al.* (1997) กล่าวว่า ค่าโปรตีนทั้งหมดในซีรัมเป็นค่าแสดงภาวะทางโภชนาการ และการสูญเสียโปรตีนในเบื้องต้นได้ดี สำหรับ Agbede and Aletor (2003) กล่าวว่า แหล่งโปรตีนในอาหารและคุณภาพโปรตีนไม่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์โปรตีนทั้งหมดในซีรัม อัลบูมิน และ กลอบูลิน

Bansal and Ochoa (2003) กล่าวว่า กรดอะมิโนอาร์จินีน เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญ โดยเป็นสารตั้งต้นของกรดอะมิโนซิทรูลีนในระบบภูมิคุ้มกัน โดย อาร์จินีน จะชักนำให้ phagolysosome ที่อยู่ในเซลล์แมคโครฟาจให้สังเคราะห์ ไนตริก ออกไซด์ ส่งออกภายนอกเซลล์เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของกรดอะมิโนอาร์จินีน และซิทรูลีน ในพลาสมาลดลงอย่างชัดเจนในภาวะที่ร่างกายขาดโปรตีน เช่น อดอาหาร มีแผลบาดเจ็บ เกิดการอักเสบ และการติดเชื้อจากแบคทีเรีย

จุไลวรรณ และคณะ (2551) กล่าวว่า การเสริมซีลีโนเมทไธโอนีน 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ร่วมกับการเสริมวิตามินอี 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร สามารถเพิ่มการเจริญเติบโต เสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus sp.* ในปลากะพงขาวได้

Hseu *et al.* (2003) กล่าวว่า อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้าที่มีการเสริมกรดอะมิโนทริปโตเฟน 0.36 หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร (หรือคิดเป็นปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน สุทธิ 0.044 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง) จะช่วยลดการกินกันเอง (cannibalism) ของปลาเก๋า (juvenile grouper) ได้ และจากรายงานของ Lepage *et al.* (2003) พบว่า การเสริมกรดอะมิโนทริปโตเฟนในอาหารจะสามารถหยุดยั้งสารตัวกลางของคอร์ติซอลในระบบภูมิคุ้มกันของปลาเรนโบว์ เทร้าได้

10. การขับถ่ายของเสียของปลานิล

Savitz (1971) รายงานว่า มูลของปลาประกอบด้วยอาหารที่เหลือจากการย่อยและสิ่งปลอมปน โดยเฉพาะไนโตรเจนในท่อนำเดินอาหารที่มาจากเอนไซม์ จุลินทรีย์ และเซลล์เยื่อบุชั้นในสุดของท่อนำเดินอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบในอาหาร และพบว่า อัตราการขับถ่ายแอมโมเนียสูงขึ้นเมื่อมีการให้โปรตีนแก่ปลามากขึ้น

เปี่ยมศักดิ์ (2538) กล่าวว่า สารประกอบไนโตรเจนที่ร่างกายสังเคราะห์แล้วจะอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์สะสมในเนื้อเยื่อบางส่วนจะถูกขับออกสู่แหล่งน้ำ ได้แก่ โปรตีน ยูเรีย และกรดยูริก สำหรับ Walsh and Wright (1995) รายงานว่า ความไม่สมดุลทางโภชนาการ จะเพิ่มผลภาวะจากการสะสมของเสียประเภท ไนโตรเจน เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท และของเสียประเภทฟอสฟอรัส ทั้งในดินและน้ำ

บรรเจิด (2546) ได้ศึกษาการจับถ่ายในโตรเจนและฟอสฟอรัสของปลานิลแดง ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา หลังจากได้รับอาหารเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในปลานิลแดง 3 ขนาด คือ 29.57 กรัม 143.59 กรัม และ 300.46 กรัม พบว่า อัตราการจับถ่ายในโตรเจนรวมในน้ำ มีค่าเท่ากับ 16.42, 18.50 และ 7.95 มิลลิกรัมไนโตรเจน/กิโลกรัมปลา/ชั่วโมง ตามลำดับ และกล่าวว่า ในปลานิลแดงขนาดเล็กมีแนวโน้มของการจับถ่ายในโตรเจนรวมในน้ำมากกว่าปลาขนาดใหญ่

Raa (1996) กล่าวว่า การรวมกลุ่มกันของเซลล์แมคโครฟาจในปลาที่มีกระดูกสันหลัง มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบ humoral และเป็นการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมบางประการ เช่นเดียวกับ Fournie *et al.* (2001) รายงานว่า ปลาเมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีสารพิษจะมีการสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้น และพบว่า เซลล์แมคโครฟาจจะมารวมกลุ่มกันมากขึ้น เมื่อปลาอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรม มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำ หรือปนเปื้อนตะกอนดินสูง นอกจากนี้ Douglas *et al.* (2005) ได้ใช้การรวมกลุ่มกันของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage aggregation) ในปลา rock bass (*Ambloplites rupestris*) เป็นดัชนีทางชีววิทยาเพื่อบ่งชี้ถึงสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนตะกอนและสารอินทรีย์ในปริมาณสูง

ชลประภา (2547) ได้ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาตะเพียน (*Barbodes gonionotus* Bleeker) ในบ่อดินที่มีการเตรียมบ่อเลี้ยงแตกต่างกัน พบว่า ปลานิลและปลาตะเพียนที่เลี้ยงในบ่อที่มีการเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การกลืนทำลาย (phagocytosis) ของเซลล์แมคโครฟาจจากไตส่วนต้นต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงในบ่อที่ไม่มีการเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.0008$) ซึ่งเป็นบ่อที่มีปริมาณค่าเฉลี่ยของแบคทีเรียในกลุ่ม *Aeromonads* สูงสุด และกล่าวว่า พิเศษของน้ำ ความเป็นด่าง และความโปร่งแสงของน้ำ ไม่มีความเกี่ยวข้องกับอัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจ แต่คุณภาพน้ำอย่างอื่น ได้แก่ แอมโมเนีย ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และปริมาณตะกอนดินอาจมีผลต่ออัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจของปลานิลและปลาตะเพียนได้

11. ความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียของปลานิล

Philippart and Ruwet (1982) กล่าวว่า ปลานิลมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้ดี เช่น ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 8-42 องศาเซลเซียส ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำ โดยพบว่า พีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 5.5-6.5 จะพบการตาย 10 เปอร์เซ็นต์ ถ้าพีเอชอยู่ในช่วง 4.5-5.5 จะพบการตาย 70 เปอร์เซ็นต์ และจะตายทั้งหมด

เมื่อพีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 3.5-4.5 สำหรับการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำ พบว่า ปลานิลสามารถอยู่ได้อย่างปกติในน้ำที่มีความเค็มสูงถึง 20 พีพีที

Villaluz (1983) รายงานระดับความทนทานของปลาบางชนิดในสภาพการเลี้ยงปกติ ไว้ว่า ปลานิล ปลาดุก ปลาแรด ปลาไน ปลา mud carp และปลา black carp เป็นปลาที่มีความทนทานสูง ส่วนปลา bighead carp, grass carp และ Indian carp เป็นปลาที่มีความทนทานปานกลาง สำหรับ ปลา silver carp เป็นปลาที่มีความทนทานต่ำ

Wong (1989) รายงานว่า ปลานิลมีความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียได้สูง สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีมลพิษหรือในน้ำสกปรกได้ Daud *et al.* (1988) รายงานว่า ปลานิลแดงลูกผสม (red hybrid tilapia) ขนาดความยาว 8.945 เซนติเมตร มีความทนทานต่อแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ โดยพบว่า ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง มีค่า 6.6 มิลลิกรัม/ลิตร

Beni and Koksai (2003) ได้ทดสอบแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ (un-ionised ammonia; mg/l NH_3-N) ในปลานิล *Oreochromis niloticus* ระยะวัยอ่อน น้ำหนัก 0.056 กรัม/ตัว และระยะปลาน้ำหนัก 10.114 กรัม/ตัว พบว่า ค่า 48 hr- LC_{50} มีค่า 1.009 ± 0.02 และ 7.40 ± 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ จากการตรวจสอบทางพยาธิสภาพของเหงือกปลา พบว่า เกิด hyperplasia ที่ gill lamella โดยเซลล์ของ gill lamella ขยายขนาดและเพิ่มจำนวนจนเชื่อมติดกัน และไม่สามารถแลกเปลี่ยนก๊าซได้ดีเมื่อน้ำมีปริมาณแอมโมเนียสูง

Lin and Pan (2004) รายงานว่า ปลานิลแดงที่ได้รับพิษของแอมโมเนีย 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวจะเพิ่มจำนวนขึ้นจาก 17.57×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เป็น 23.26×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร

12. การลำเลียงขนส่งปลา

การจับและการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำ เป็นขั้นตอนสุดท้ายที่มีความสำคัญ เนื่องจากขณะที่จับและขนส่งจะมีผลกระทบต่อคุณภาพและอัตราการตายของสัตว์น้ำค่อนข้างสูง สัตว์น้ำขณะจับหรือขนส่งจะเสียสมดุลของระบบสรีระภายใน หากขาดจัดการหรือการป้องกันที่ดีจะทำให้เสียคุณภาพหรือทำให้สัตว์น้ำตายได้ ซึ่งมีผลให้มูลค่าของสัตว์น้ำลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับ

ราคาสัตว์น้ำที่คุณภาพดีและยังมีชีวิตอยู่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องรักษาคุณภาพและชีวิตของสัตว์น้ำไว้ให้มากที่สุด (เกรียงศักดิ์, 2549)

12.1 ปัจจัยที่มีผลกระทบ

12.1.1 การหายใจของสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำหายใจเข้าเพื่อนำออกซิเจนไปใช้ในการเผาผลาญให้เกิดพลังงาน หายใจออกเพื่อนำคาร์บอนไดออกไซด์ออกและสะสมอยู่ในน้ำที่ใช้ในการลำเลียงขนส่ง หากน้ำที่ใช้ในการลำเลียงมีปริมาณออกซิเจนมากพอและมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์น้อย การลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำก็ไม่เกิดปัญหา แต่ถ้าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มากเกินไปจนถึงขีดอันตราย อาจจะทำให้สัตว์น้ำตายได้ สัตว์น้ำส่วนใหญ่หายใจทางเหงือก ที่บริเวณเหงือกมีเส้นเลือดฝอยกระจายอยู่ในเส้นเลือดฝอยมีเม็ดเลือดแดงซึ่งมีฮีโมโกลบินเป็นตัวรับออกซิเจนเข้าสู่ร่างกาย ถ้ามีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายอยู่ในน้ำมาก คาร์บอนไดออกไซด์จะถูกดึงไปสะสมในเม็ดเลือดแดง และทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถนำเอาออกซิเจนไปใช้ได้อีกต่อไป สำหรับการหายใจของสัตว์น้ำภายในภาชนะลำเลียงได้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของน้ำ ซึ่งมีผลกระทบดังนี้

ก. ผลกระทบจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลจากการหายใจของปลาระหว่างการลำเลียงขนส่ง จะเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้ปลาตาย ถ้ามีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์สูง ทั้งในน้ำที่ใช้ในการขนส่ง และในเลือดปลา

วิรัช (2544) กล่าวว่า ปลาสามารถทนคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 60 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำที่มีออกซิเจนเพียงพอ แต่ถ้าออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง ความทนทานต่อคาร์บอนไดออกไซด์ของปลาลดลงเหลือ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์จะไปขัดขวางการรับออกซิเจนของเซลล์เม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกับ โชคชัย (2548) กล่าวว่า ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นอันตรายกับสัตว์น้ำได้หากออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงเหลือ 3-5 มิลลิกรัม/ลิตร

เกรียงศักดิ์ (2549) กล่าวว่า คาร์บอนไดออกไซด์ที่สะสมในเลือดสูง ประกอบกับที่ละลายอยู่ในน้ำระหว่างการขนส่งสูง ส่งผลให้คาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดไม่สามารถขับออกจากตัวปลาได้ จะกลายเป็นพิษโดยขัดขวางการนำออกซิเจนไปใช้ในการหายใจ คาร์บอนไดออกไซด์สูงทำให้ปลาตายได้แม้จะมีออกซิเจนเหลืออยู่ในน้ำในภาชนะลำเลียงสูงก็ตาม

ข. ผลกระทบจากก๊าซออกซิเจน ออกซิเจนมีความจำเป็นสำหรับการหายใจของปลาและสัตว์น้ำ สัตว์น้ำต่างชนิดหรือชนิดเดียวกันแต่ต่างขนาด จะมีความต้องการออกซิเจนสำหรับหายใจในปริมาณต่างกัน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีอุณหภูมิเป็นปัจจัยเกี่ยวข้อง กล่าวคือ ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูง เมื่ออุณหภูมิของน้ำต่ำลง และเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในน้ำจะลดลง ประกอบกับสัตว์น้ำจะหายใจเร็วและใช้ออกซิเจนในปริมาณสูงเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น

เกรียงศักดิ์ (2549) กล่าวว่า การใช้ออกซิเจนของลูกปลาแต่ละชนิด มีความสัมพันธ์กับขนาดหรือน้ำหนัก โดยลูกปลาวัยอ่อน (larvae) จะหายใจเอาออกซิเจน 2-5 เท่าของลูกปลา (fry) โดยน้ำหนัก

ค. ผลกระทบจากแอมโมเนีย แอมโมเนียที่เกิดขึ้นในภาชนะลำเลียงสัตว์น้ำ มาจากการขับถ่ายของเสีย และการสลายตัวของสารอินทรีย์จากสัตว์น้ำที่ตายและเน่าเปื่อย ในขณะที่ลำเลียงขนส่งแอมโมเนียที่ละลายในน้ำจะเป็นพิษโดยตรงต่อสัตว์น้ำ ระดับความเป็นพิษจะมีมากหรือน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ นอกจากนี้พบว่า ปริมาณแอมโมเนียมีผลต่อระดับความเครียดและทำให้ปลามีน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ซึ่ง Roche and Boge (1996) รายงานว่า ปลามีระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นเมื่อเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากพิษของแอมโมเนีย และพบว่าระดับน้ำตาลในพลาสมาใช้เป็นพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงความเครียดของปลาได้

จากรายงานของ Lin and Pan (2004) ในปลานิลแดงขนาด 157.37 กรัม ที่ได้รับพิษของแอมโมเนียมคลอไรด์ 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด แต่ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นได้เมื่อปลาได้รับพิษอย่างต่อเนื่อง มากกว่า 48 ชั่วโมง แม้จะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์ต่ำเพียง 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ก็ตาม

ง. ผลกระทบจากฟิเอชของน้ำ จากการศึกษาฟิเอชของน้ำที่ใช้ในการลำเลียงขนส่งลูกปลา พบว่าฟิเอชของน้ำที่ระดับ 6.8-8.1 จะทำให้ปลาสามารถนำออกซิเจนไปใช้ประโยชน์ได้สูงสุด นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ฟิเอชของน้ำเปลี่ยนแปลง ดังนั้น ฟิเอชของน้ำที่ใช้ในการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำจึงเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่ต้องพิจารณาถึงผลกระทบ เช่น มีการเติมสาร sodium phosphate เพื่อรักษาสภาพเป็นกลางของน้ำระหว่างการขนส่ง ในอัตราความเข้มข้น 1.5 กรัม/ลิตร (เกรียงศักดิ์, 2549)

จ. ผลกระทบจากการเสียสมดุลออสโมติก ในระหว่างการลำเลียงขนส่ง ปลาจะเกิดความเครียดและตื่นตกใจง่าย และร่างกายจะเสียสมดุลออสโมติก การเติมโซเดียมคลอไรด์ในน้ำที่ใช้ลำเลียงขนส่งจะช่วยลดแรงดันออสโมติกระหว่างเลือดปลากับน้ำในภาชนะลำเลียง (โชคชัย, 2548) เช่นเดียวกับ Miles *et al.* (1974); Nikinmaa *et al.* (1983) กล่าวว่า ความเครียดขณะขนส่งทำให้ค่าฮีมาโตคริตในเลือดเพิ่มขึ้นจากการบีบตัวของม้าม และการเสียสมดุลออสโมติก ปลาน้ำจืดจะเสียเกลือแร่คัลเซียม และโซเดียมออกนอก ให้แก่น้ำที่ใช้ขนส่ง

12.1.2 อุณหภูมิของน้ำ

ในการลำเลียงขนส่งอุณหภูมิของน้ำมีผลกระทบโดยตรงต่อการหายใจของปลา เมื่ออุณหภูมิสูงจะทำให้สัตว์น้ำหายใจเร็วและมีความสัมพันธ์กับการใช้ออกซิเจนและการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น ในทางตรงกันข้ามหากอุณหภูมิของน้ำต่ำจะมีผลให้สัตว์น้ำหายใจช้า ปลามีการใช้ออกซิเจนและปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์น้อยลง ดังนั้น ในการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำ จึงควรเลือกช่วงเวลาในการลำเลียงที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น ช่วงเช้า เย็น หรือกลางคืน หากลำเลียงในช่วงเวลาอื่นหรือขณะที่มีอุณหภูมิสูง ต้องลดอุณหภูมิของน้ำในภาชนะลำเลียงลง เกรียงศักดิ์ (2549) รายงานว่า อุณหภูมิของน้ำที่เหมาะสมที่ใช้ในการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำในประเทศไทย ประมาณ 15-23 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ Hartley (2001) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมที่ใช้ในการลำเลียงขนส่งลูกพันธุ์ปลานิลเชิงการค้าในประเทศไทย คือ 20-22 องศาเซลเซียส

12.1.3 การตื่นตกใจของสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำมักตื่นตกใจระหว่างการขนส่ง เนื่องจากการเคลื่อนที่ของมวลน้ำในภาชนะลำเลียง และการอยู่อย่างหนาแน่นในพื้นที่จำกัด การตื่นตกใจทำให้สัตว์น้ำมีกิจกรรมเพิ่มมากขึ้น เช่น กระโดด หายใจเร็ว ทำให้ต้องการออกซิเจนสูง การแก้ปัญหาการตื่นตกใจของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับปลาได้แก่ การใช้สารเคมีจำพวกยาสลบ (anesthetic) เพื่อลดการเคลื่อนไหวและการหายใจ ยาสลบที่นิยมสลบปลาใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ quinaldine sulphate, tricane methane sulfonate (MS 222) และ 2-phenoxyethanol เป็นต้น

12.2 การเตรียมการลำเลียงขนส่ง

12.2.1 การเตรียมสัตว์น้ำ

ก. การป้องกันโรคและปรสิต สัตว์น้ำที่เป็นโรคและพยาธิจะอ่อนแอ และตายง่ายระหว่างการลำเลียงขนส่ง เชื้อโรคหรือปรสิตต่างๆ สามารถติดต่อกับสัตว์น้ำตัวอื่นๆ ที่อยู่ในภาชนะลำเลียงอันเดียวกันได้ง่าย ดังนั้นก่อนการขนส่งสัตว์น้ำควรฆ่าเชื้อโรคและปรสิต เช่น ใช้ด่างทับทิม เกลิโอ หรือ ฟอรัมาลิน และใช้ยาเหลือง (acriflavin) เพื่อลดเชื้อแบคทีเรีย

ข. การให้สัตว์น้ำอดอาหาร สัตว์น้ำที่ถูกลำเลียงจำเป็นต้องให้อาหารอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ให้อาหารในกระเพาะอาหารถูกใช้ให้หมด เพื่อลดปริมาณการขับถ่ายของเสียลงในภาชนะลำเลียง เนื่องจากของเสียดังกล่าวจะมีผลต่อคุณภาพน้ำในภาชนะลำเลียง เช่น ความเป็นพิษที่เกิดจากแอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ และซัลไฟด์สะสมในน้ำ ซึ่งเป็นสาเหตุการตายของสัตว์น้ำระหว่างการลำเลียงขนส่ง

ค. การคัดขนาดสัตว์น้ำ ควรคัดขนาดสัตว์น้ำให้มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อลำเลียงในภาชนะเดียวกัน เพราะสัตว์น้ำที่อดอาหารจะแสดงอาการคร่ำครวญ หงุดหงิด และชอบทำร้ายตัวที่อ่อนแอหรือเล็กกว่า ในสัตว์น้ำมีเงี่ยง หรือกริควรตัดหรือสวมสิ่งป้องกันการทิ่มแทง หรือใช้ยาสลบ

12.2.2 ภาชนะและความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่ง

ก. ภาชนะแบบเปิด เป็นภาชนะที่ใช้ลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำแบบเปิดฝา หรือปิดฝาแต่มีรูระบายอากาศเข้า-ออกได้ ภาชนะดังกล่าวอาจทำด้วยโลหะ พลาสติก หรือไม้ มีการพัฒนาภาชนะแบบเปิดสำหรับลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำ เช่น กุ้ง หรือปลา ที่ต้องการขนส่งจำนวนมากในระยะทางไกล โดยมีการติดตั้งเครื่องให้อากาศ หรือใช้ท่อระบายน้ำให้หมุนเวียนน้ำไปยังถังลำเลียงโดยตรง วิธีการดังกล่าวใช้กับการลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำที่มีมูลค่าสูง เช่น การลำเลียงปลาเก๋า ปลากระพง ปลานวล และปลานิลแดงที่มีชีวิต

สำหรับความหนาแน่นในการบรรจุสัตว์น้ำเพื่อการขนส่งนั้น มีความแตกต่างกันไปตามชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ รวมทั้งระยะเวลาและวิธีการลำเลียงขนส่ง จากรายงานของ Hartley (2001) ได้ศึกษาถึงความหนาแน่นที่เหมาะสมและระบบการลำเลียงขนส่งลูกพันธุ์ปลานิลแปลงเพศเชิงการค้าในประเทศไทย พบว่า ความหนาแน่นในการขนส่งโดยใช้ถังระบบเปิด ที่มีการให้ออกซิเจน คือ 30 กรัม/ลิตร ในลูกปลานิลขนาด 1 นิ้ว และ 120 กรัม/ลิตร ในลูกปลานิลขนาด 3 นิ้ว ภายในระยะเวลาการขนส่ง 12 ชั่วโมง ดังตารางที่ 7

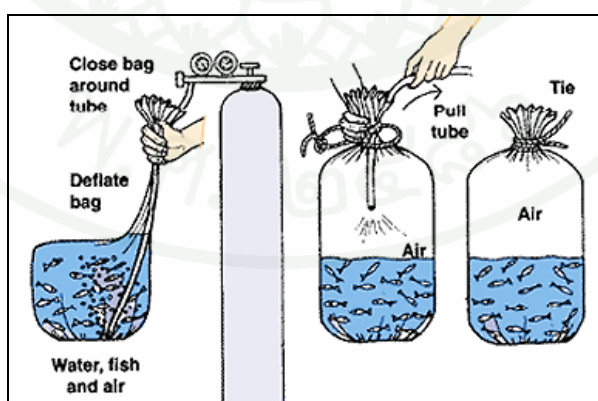
ตารางที่ 7 ความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่งปลานิลบางขนาดในถังระบบเปิดที่มีการให้ออกซิเจนตลอดการขนส่ง

ขนาดของปลานิล	ความหนาแน่น (กรัม/ลิตร) ที่ระยะเวลาการลำเลียง			
	1 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
ลูกปลาวัยอ่อน	nr	nr	nr	nr
ขนาด 1 นิ้ว	120	60	30	30
ขนาด 2 นิ้ว	240	180	120	120
ขนาด 3 นิ้ว	360	240	120	120
ขนาด 8 นิ้ว	360	360	240	180
ปลาขนาดใหญ่	480	480	360	240

หมายเหตุ nr คือ ไม่มีการบันทึก

ที่มา: ดัดแปลงจาก Hartley (2001)

ข. ภาชนะแบบปิด เป็นภาชนะลำเลียงที่นิยมในปัจจุบัน เหมาะสำหรับการขนส่งสัตว์น้ำขนาดเล็กในระยะทางไกลๆ ภาชนะที่นิยมใช้คือ ถุงพลาสติกขนาด 20 x 30 นิ้ว บรรจุ น้ำ 3-5 ลิตร อัดออกซิเจน แล้วรวบปากถุงให้พองลม รัดด้วยยางจนแน่น (โชคชัย, 2548) ดังภาพที่



ภาพที่ 2 การบรรจุลูกปลาลงในถุงพลาสติกเพื่อการลำเลียงขนส่ง

ที่มา: Geer and Singh (2005)

อำพล และ อารีย์ (2532) กล่าวว่า ความหนาแน่นที่เหมาะสมในการลำเลียงขนส่งลูกพันธุ์ ปลานิล ขนาดความยาว 1.0-2.5 เซนติเมตร คือ 1,500 ตัว/ถุง 1,000 ตัว/ถุง และ 500 ตัว/ถุง ในเวลา 6-12 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยบรรจุลูกปลาในถุงพลาสติกขนาด 20 x 30 นิ้ว ใส่ น้ำ 8-10 ลิตร และอัดอากาศด้วยออกซิเจนจนเต็มปริมาตรถุง ความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำ มีแนวทางดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ความหนาแน่นในการลำเลียงลูกพันธุ์สัตว์น้ำบางชนิดในถุงพลาสติก

ชนิดของสัตว์น้ำ	ขนาด (ซม.)	ความหนาแน่น (ตัว/ถุง) ที่ระยะเวลาการลำเลียง		
		6-12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ปลานิล	1.0-2.5	1,500	1,000	500
ปลาไน	1.0-2.0	2,500	1,500	500
ปลาสร้อย	1.5-2.5	1,500	500	500
ปลาดุก	2.0-3.0	2,000	-	-
	3.0-5.0	-	1,500	500
ปลาหมอสี	2.0-2.5	500	500	-
ปลาตะเพียนขาว	1.5-3.0	1,000	-	-
กุ้งก้ามกราม	ระยะครีว	2,000-2,500	-	-
	2.0-2.5	1,500	-	-

หมายเหตุ ถุงพลาสติกขนาด 20 x 30 นิ้ว ใส่ น้ำ 8-10 ลิตร และอัดอากาศด้วยออกซิเจนจนเต็มถุง

ที่มา: ดัดแปลงจาก อำพล และ อารีย์ (2532)

Bocek (2001) ได้ศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมในการลำเลียงขนส่งลูกปลานิลบางขนาด โดยการบรรจุในถุงพลาสติก ขนาด 18 x 32 นิ้ว ใส่ น้ำ 7.6 ลิตร และอัดออกซิเจนเพื่อการลำเลียงขนส่งในระยะเวลาต่างๆ พบว่า ความหนาแน่นในการบรรจุที่เหมาะสมคือ 100 กรัม/ลิตร ในลูกปลานิลขนาด 1 นิ้ว และ 105 กรัม/ลิตร ในลูกปลานิลขนาด 3 นิ้ว ภายในระยะเวลาการขนส่ง 12 ชั่วโมง ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ความหนาแน่นในการลำเลียงขนส่งปลานิลบางระยะในถุงพลาสติก

ขนาดของปลานิล	ความหนาแน่น (กรัม/ลิตร) ที่ระยะเวลาการลำเลียง			
	1 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
ระยะฟักออกเป็นตัว	120	80	40	10
1/4 นิ้ว (0.64 ซม.)	60	50	40	20
1 นิ้ว (2.54 ซม.)	120	100	75	40
2 นิ้ว (5.08 ซม.)	120	105	90	40
3 นิ้ว (7.62 ซม.)	120	105	90	40
ปลาขนาดใหญ่	480	180	120	60

หมายเหตุ ถุงพลาสติกขนาด 18 x 32 นิ้ว ใส่ น้ำ 7.6 ลิตร และอัดอากาศด้วยออกซิเจนจนเต็มถุง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Bocek (2001)

12.2.3 ยานพาหนะ

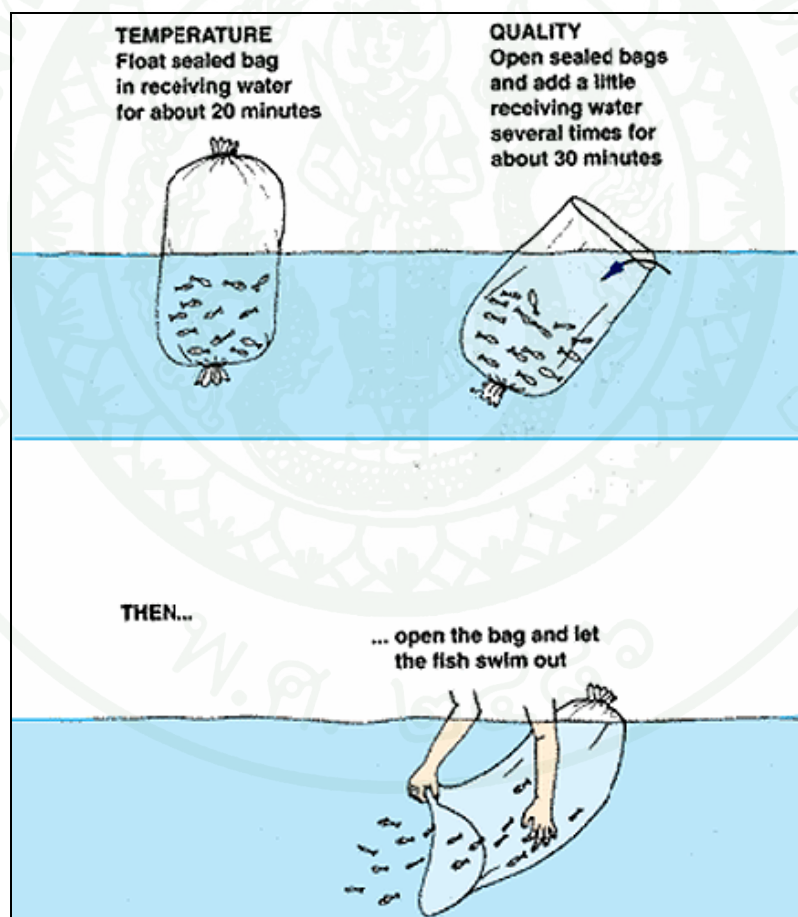
ก. เครื่องบิน การลำเลียงขนส่งทางเครื่องบิน ในปัจจุบันทำกันอย่างแพร่หลาย โดยบรรจุสัตว์น้ำลงในถุงพลาสติก อัดออกซิเจนแล้วใส่ลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งบรรจุอยู่ สวมด้วยกล่องกระดาษอีกชั้นหนึ่ง ปิดฝาให้มิดชิด แล้วลำเลียงขนส่ง

ข. รถปรับอากาศ เป็นรถยนต์ที่ประดิษฐ์ขึ้นมาโดยเฉพาะ มีเครื่องปรับอากาศ สามารถปรับอุณหภูมิได้ เช่น รถห้องเย็นทั่วไป

ค. รถกระบะและรถบรรทุกขนาดเล็ก เป็นรถกระบะบรรทุกดัดแปลงเพื่อการลำเลียงขนส่งสัตว์น้ำ ลักษณะมีหลังคาผ้าใบ ปูพื้นด้วยกระสอบชุ่มน้ำ แล้วนำเอาน้ำแข็งห่อด้วยกระสอบใส่ขี้เลื่อยรองพื้น เพื่อรักษาอุณหภูมิให้เย็นคงที่ตลอดการลำเลียงและกันไม่ให้อากาศภายนอกที่มีอุณหภูมิสูงกว่าเข้ามาภายใน

ง. เรือขนส่ง เรือขนส่งสัตว์น้ำจะใช้ในท้องที่ที่รถยนต์ไม่สามารถเข้าถึง เช่น บริเวณชายฝั่งทะเล ป่าชายเลน หรือในฟาร์มที่อยู่ห่างไกล โดยดัดแปลงท้องเรือเป็นห้องๆ ขนาดความกว้าง 1 เมตร ยาว 2 เมตร ลึก 0.5 เมตร เพื่อใส่น้ำลำเลียงปลา

หลักการโดยทั่วไปในการขนส่งสัตว์น้ำไม่ว่าจะเลือกใช้วิธีการใดในการลำเลียงขนส่ง จำเป็นต้องพิจารณาถึงปัจจัยอันเป็นเหตุให้สัตว์น้ำตายระหว่างการขนส่ง และเมื่อถึงปลายทางก่อนปล่อยปลา ควรพิจารณาถึงคุณสมบัติของน้ำในที่กักขังใหม่โดยเฉพาะอุณหภูมิ ควรปรับอุณหภูมิของน้ำในภาชนะลำเลียงให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของน้ำในที่กักขังใหม่ โดยลอยถุงพลาสติกที่บรรจุปลาในน้ำ ประมาณ 20 นาที แล้วเปิดปากถุงให้น้ำในที่กักขังใหม่เข้ามาผสมกับน้ำในถุง ประมาณ 30 นาที แล้วจึงปล่อยปลาให้ว่ายน้ำออกจากถุง ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การปรับอุณหภูมิของน้ำในถุงพลาสติกและการปล่อยปลาหลังการลำเลียงขนส่ง

ที่มา: Geer and Singh (2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

- 1.1 ลูกปลานิลแดง ระยะฟักออกเป็นตัวและถูกไข่แดงขุ่นแล้ว (free-swimming fry) ขนาด 0.860 ± 0.011 กรัม/100 ตัว (0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว) จำนวน 420,000 ตัว
- 1.2 ลูกปลานิลแดง ระยะปลาจิ๋ว (fry marketing size) ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว
- 1.3 ปลานิลแดง ระยะปลานิ้ว (fingerling fish) ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว

2. บ่อทดลอง

- 2.1 บ่อดินขนาด 1 ไร่ จำนวน 2 บ่อ
- 2.2 วัสดุปูน ปูนเคมี และสารเคมีในการเตรียมบ่อ

3. กระชังทดลอง

- 3.1 กระชังในล่อนตาถี่ ขนาด 5 ตารางเมตร ($2.0 \times 2.5 \times 1.0$ เมตร) จำนวน 30 ใบ
- 3.2 กระชังในล่อนตาถี่ ขนาด 10 ตารางเมตร ($2.5 \times 4.0 \times 1.0$ เมตร) จำนวน 18 ใบ
- 3.3 กระชังในล่อนตาห่าง ขนาด 20 ตารางเมตร ($2.5 \times 8.0 \times 1.0$ เมตร) จำนวน 18 ใบ

4. ตะแกรงคัดขนาด และเครื่องมือจับปลา

5. วัตถุดิบอาหารสัตว์

- 5.1 ปลาป่น ความชื้น 8 % โปรตีน 55 % ไขมัน 8 % เถ้า 26 % และเยื่อใย 1 %
- 5.2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ความชื้น 8 % โปรตีน 68 % ไขมัน 0.26 % เถ้า 2.2 % และเยื่อใย 3.2 %
- 5.3 กากถั่วเหลือง ความชื้น 10 % โปรตีน 48.5 % ไขมัน 1 % เถ้า 6 % และเยื่อใย 3.5 %
- 5.4 ข้าวโพด ความชื้น 13 % โปรตีน 8 % ไขมัน 4 % เถ้า 1.3 % และเยื่อใย 2.5 %
- 5.5 รำสาคู ความชื้น 9 % โปรตีน 13.9 % ไขมัน 1 % เถ้า 15 % และเยื่อใย 13 %
- 5.6 มันเส้น ความชื้น 10 % โปรตีน 2.5 % ไขมัน 0.75 % เถ้า 3.7 % และเยื่อใย 3.7 %
- 5.7 แป้งมัน ความชื้น 1 % โปรตีน 0 % ไขมัน 0.75 % เถ้า 3.6 % และเยื่อใย 3.6 %

6. ฮอโมนเพศผู้ 17- α -methyltestosterone

7. อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

- 7.1 เครื่องอัดเม็ดลอยน้ำ (extruder)
- 7.2 เครื่องผสมแนวนอน
- 7.3 เครื่องผสมอาหารแปลงเพศ
- 7.4 เครื่องบดวัตถุดิบ

8. อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและตัวปลา

- 8.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น
- 8.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน
- 8.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน
- 8.4 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า
- 8.5 อุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใย

9. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตปลา

- 9.1 เครื่องวัดความยาวดิจิทัล (venire meter) ของ Sylvac รุ่น S235 PAT
- 9.2. เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัล ของ Shimadzu รุ่น ELB 300
- 9.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก ของ Trade mark รุ่น 15 Kg

10. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับตรวจสอบเพศปลา

- 10.1 เครื่องมือผ่าตัด กระดาษไคโด หลอดหยด และกล้องจุลทรรศน์
- 10.3 สารละลายอะซิโต คาร์มิน (aceto carmine solution)

11. อุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์น้ำ

- 11.1 สารเคมีในการวิเคราะห์น้ำ
- 11.2 เครื่องวัดออกซิเจน ของ YSI รุ่น 550 A-12
- 11.3 เครื่องวัดพีเอชของน้ำ ของ YSI รุ่น pH 10
- 11.4 เทอร์โมมิเตอร์ แบบธรรมดา และแบบ max-min
- 11.5 เครื่องวัดความนำไฟฟ้าของน้ำ ของ YSI รุ่น EC 300
- 11.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของ Shimadzu รุ่น UV 1201V

12. อุปกรณ์และสารเคมีในการลำเลียงขนส่ง
 - 12.1 รถกระบะบรรทุก พร้อมถังออกซิเจน และอุปกรณ์ให้อากาศ
 - 12.2 ถังพลาสติกความจุ 20 ลิตร (20 x 32 x 32 เซนติเมตร) จำนวน 36 ใบ
 - 12.3 ถังพลาสติก หนึ่งยาง และน้ำแข็งพร้อมถังเก็บ
 - 12.4 ถังไฟเบอร์ ปริมาตร 2 ตัน จำนวน 6 ใบ
 - 12.5 กระชังในล่อนเนื้อนุ่ม ขนาด 1 ตารางเมตร จำนวน 4 ใบ
13. อุปกรณ์และสารเคมีในการทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย
 - 13.1 แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)
 - 13.2 แคลเซียมไบคาร์บอเนต (CaHCO_3)
14. อุปกรณ์และสารเคมีในการทดสอบความต้านทานโรค
 - 14.1 ตู้กระจก ขนาด 50 x 60 x 40 เซนติเมตร จำนวน 72 ตู้
 - 14.2 เชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* จากสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง
 - 14.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ trypticase soy agar (TSA) และ brain heart infusion broth (BHI)
 - 14.4 อุปกรณ์การเลี้ยงเชื้อ เครื่องแก้ว และเครื่อง Autoclave ของ Tomy รุ่น SS 320
 - 14.5 เครื่องตกตะกอนแบคทีเรีย (centrifuge) รุ่น Sorval RC 62 Plus
 - 14.6 ชุดทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus spp.* ของ API[®] 20 Strep Biomerieux
15. อุปกรณ์และสารเคมีในการศึกษาค่าโลหิตวิทยา และระบบภูมิคุ้มกัน
 - 15.1 เครื่องวิเคราะห์น้ำตาลในเลือดอัตโนมัติ One touch ultra รุ่น Life scan
 - 15.2 อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์โปรตีนในเลือด
 - 15.3 อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์แอมโมเนียในเลือด
 - 15.4 อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลิน เอ็ม (Ig M)
 - 15.5 อุปกรณ์และสารเคมีในการศึกษากระบวนการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมของ เซลล์เม็ดเลือดขาว (phagocytic activity)
16. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ไกลโคเจน

วิธีการ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในปลานิลแดง (*Oreochromis spp.*) 2 ระยะ คือระยะแรก ศึกษาในปลาขนาดเริ่มต้น 0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว ถึงขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว และระยะที่สอง ศึกษาในปลาขนาดเริ่มต้น 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ถึงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์ ลูกพันธุ์ปลาและสถานที่ดำเนินการทดลองจาก บริษัท น้ำใสฟาร์ม จำกัด โดยในการศึกษากครั้งนี้มีการดูแลและจัดการด้านการเลี้ยงตามมาตรฐานที่ดีและเป็นไปตามเกณฑ์ว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์สภาพวิทย์แห่งชาติ แบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

1. การทดลองที่ 1: ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ต่อการเจริญเติบโต คุณภาพการแปลงเพศ การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังการขนส่ง

1.1 การวางแผนการทดลอง

การศึกษาค้นคว้าการทดแทนปลาป่น (fish meal, FM) ด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate, MBP) ในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน คุณภาพการแปลงเพศ การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานเชื้อโรค หลังการขนส่ง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) มี 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยอาหารทุกสูตรมีโปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ ในสัดส่วนการทดแทนที่ระดับต่างๆ กันดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP; ชุดควบคุม)
- ชุดการทดลองที่ 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP)
- ชุดการทดลองที่ 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP)
- ชุดการทดลองที่ 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP)
- ชุดการทดลองที่ 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 100 % (100% MBP)

อาหารปลานิลระยะแปลงเพศใช้อุณหภูมิปลานิลแดง ขนาดเริ่มต้น 0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว เป็นเวลา 21 วัน เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน คุณภาพการแปลงเพศ และผลของสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียว

เข้มข้นในอาหารต่อการจับถ่ายแอมโมเนีย ในลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ที่ผ่าน การอนุบาล 21 วัน ขนส่งที่ความหนาแน่น 240 และ 400 ตัว/ลิตร ในถังระบบเปิด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบปริมาณการจับถ่ายแอมโมเนียในภาชนะลำเลียง และอัตราการอดในการขนส่ง และหลังจากการขนส่ง ทำการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร

1.2 การเตรียมการทดลอง

1.2.1 อาหารทดลอง

สูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศประกอบด้วยวัตถุดิบ 2 ชนิด คือปลาป่น และ โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นจากโรงงานแปรรูป วัตถุดิบทั้งสองชนิดนำมาร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 250 ไมครอน วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบแล้วประกอบเป็นสูตรอาหารปลานิลระยะ แปลงเพศ 5 สูตร (ชุดการทดลอง) มีโปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกชุดการทดลอง โดยใช้แป้งมัน ลำปะหลังเป็นวัตถุดิบปรับลดโปรตีนในสูตรอาหาร (ตารางที่ 10) อาหารแต่ละสูตรมีส่วนการ ทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นต่างกัน ดังนี้ อาหารสูตร 1 ชุดควบคุม วัตถุดิบ ประกอบด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP) สูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่ว เขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียว 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) อาหารทุกสูตรผสมฮอร์โมนเพศผู้ 17- α - methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม (นวลมณี และคณะ, 2547) โดยละลายฮอร์โมนเพศผู้ ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 240 มิลลิลิตร/อาหาร 1 กิโลกรัม ปั่นคลุกเคล้ากับอาหารใน เครื่องผสมพร้อมกับฉีดพ่นสารละลายฮอร์โมนให้ทั่ว ประมาณ 15 นาที ตากอาหารผสมในที่ร่ม นาน 3-6 ชั่วโมง เพื่อระเหยแอลกอฮอล์ นำอาหารผสมฮอร์โมนที่แห้งแล้วใส่ถุงพลาสติกทึบแสง เก็บในตู้เย็นจนกว่าจะใช้ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ณ ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์และอาหารสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย และความชื้น โดยวิธีของ AOAC (2000) ดังนี้คือ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดย macro-kjeldahl ปริมาณไขมันโดย ether-extraction ปริมาณความชื้นโดย oven-drying ปริมาณเถ้าโดย muffle furnace combustion และ ปริมาณเยื่อใยโดย acid-alkali digestion

ตารางที่ 10 สูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศและองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

วัตถุดิบ	ปริมาณโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)				
	สูตร 1 ¹	สูตร 2 ¹	สูตร 3 ¹	สูตร 4 ¹	สูตร 5 ¹
	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)
ปลาป่น (55 % โปรตีน) (%)	100.00	75.00	50.00	25.00	0.00
โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (%)	0.00	20.20	40.45	60.65	80.90
เป้งมันสำปะหลัง (%)	0.00	2.00	3.75	5.65	7.50
น้ำมันถั่วเหลือง (%)	0.00	2.80	5.80	8.70	11.60
รวม (%)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
องค์ประกอบทางเคมีของอาหารโดยการวิเคราะห์ ตาม AOAC (2000)					
ความชื้น (%)	6.581	4.808	3.762	2.822	1.836
โปรตีน (%)	54.365	55.063	54.642	54.124	55.017
ไขมัน (%)	8.152	8.141	7.971	8.106	7.989
เถ้า (%)	23.115	21.364	19.319	14.917	12.086
เยื่อใย (%)	1.524	2.248	2.779	3.377	4.422
NFE ² (%)	6.265	8.377	11.529	16.655	18.652
DE ³ (Kcal/Kg diet)	2,983.39	3,063.20	3,111.55	3,229.79	3,306.03
GE ⁴ (Kcal/Kg diet)	4,092.59	4,215.44	4,301.65	4,490.18	4,609.42
DE/P ⁵ (Kcal/gram protein)	5.488	5.564	5.695	5.968	6.009

หมายเหตุ ¹สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0% ต่อ ปลาป่น 100% (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25% ต่อ ปลาป่น 75% (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50% ต่อ ปลาป่น 50% (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75% ต่อ ปลาป่น 25% (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100% ต่อ ปลาป่น 0% (100% MBP) โดยอาหารทดลองทุกสูตรมีการเสริมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

²Nitrogen free extract = 100 - (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เถ้า + %เยื่อใย)

³DE คือ พลังงานที่ย่อยได้ = (%โปรตีน x 4.0) + (%ไขมัน x 8.0) + (%NFE x 2.5) ในหน่วยกิโลแคลอรี/100 กรัม อาหาร (NRC, 1983)

⁴GE คือ พลังงานรวมในอาหาร = (%โปรตีน x 5.65) + (%ไขมัน x 9.45) + (%NFE x 4.00) ในหน่วยกิโลแคลอรี/100 กรัม อาหาร (Halver and Hardy, 2002)

⁵DE/P คือ พลังงานที่ย่อยได้ต่อโปรตีนในอาหาร ในหน่วยกิโลแคลอรี/กรัมโปรตีน

1.2.2 สัตว์ทดลอง

ลูกปลานิลแดง ระยะ free-swimming fry ที่ฟักออกเป็นตัวและถุงไข่แดงยุบแล้ว น้ำหนักเฉลี่ย 0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว จำนวน 720,000 ตัว

1.2.3 บ่อ และกระชัง

บ่อดินขนาด 1 ไร่ ตากบ่อให้แห้ง 2 สัปดาห์ ตัดหญ้ารอบคันบ่อ ทำความสะอาด และคลุมบ่อด้วยตาข่ายป้องกันนก โรยปูนขาว (Ca(OH)_2) 200 กิโลกรัม ไตรคลอโรฟอน 400 กรัม ปุ๋ยเคมีสูตร 16-20-0 จำนวน 30 กิโลกรัม เติมน้ำเข้าบ่อสูง 50 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 4-5 วัน เติมน้ำเข้าบ่อจนได้ระดับความลึก 120 เซนติเมตร และติดตั้งใบตื้นน้ำ ทิ้งไว้อีก 2-3 วัน แล้วตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น โดยเฉพาะพีเอชของน้ำ ควรมีค่า 7.5-8.3 แล้วจึงวางกระชังในล่อนตาถี่ (1.27 x 1.27 มิลลิเมตร) ขนาด 5 ตารางเมตร (2.0 x 2.5 x 1.0 เมตร) จำนวน 15 ใบ โดยจัดวางกระชังรอบบ่อ ให้กระชังห่างจากขอบบ่อประมาณ 1 เมตร

1.2.4 การให้อาหาร

ให้อาหารตามชุดการทดลอง เป็นเวลา 21 วัน ความถี่ในการให้อาหาร 5 ครั้งต่อวัน (8.00, 9.30, 11.30, 13.30 และ 16.30 นาฬิกา) มีโปรแกรมการให้อาหารดังนี้

- วันที่ 1-5 ให้อาหาร 70 กรัม/กระชัง/วัน
- วันที่ 6-10 ให้อาหาร 150 กรัม/กระชัง/วัน
- วันที่ 11-15 ให้อาหาร 250 กรัม/กระชัง/วัน
- วันที่ 16-21 ให้อาหาร 420 กรัม/กระชัง/วัน

1.3 การดำเนินการทดลอง

1.3.1 ศึกษาการเจริญเติบโต และคุณภาพการแปลงเพศ

ลูกปลานิลแดง ระยะถุงไข่แดงยุบ (free-swimming fry) ปล๋อยเลี้ยงในกระชังในล่อนตาถี่ (1.27 x 1.27 มิลลิเมตร) ขนาด 5 ตารางเมตร (2.0 x 2.5 x 1.0 เมตร) แขนงลอยในบ่อ

ดินขนาด 1 ไร่ อัตราปล่อย 28,000 ตัว/กระชัง (5,600 ตัว/ตารางเมตร) ให้ลูกปลากินอาหารตามชุดการทดลอง เป็นเวลา 21 วัน ตามโปรแกรมการให้อาหารข้างต้น

ก. คุณภาพน้ำและการจัดการ วัดคุณภาพน้ำทุกวันตลอดการเลี้ยง ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ พีเอช อุณหภูมิของน้ำ ความเป็นด่าง (alkalinity) ความกระด้าง (hardness) ความเค็ม (salinity) ความนำไฟฟ้าของน้ำ (conductivity) คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ (CO_2) และ ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; total $\text{NH}_3\text{-N}$) เปลี่ยนกระชังใหม่เมื่ออนุบาลลูกปลาได้ 10 วัน ระหว่างการเลี้ยงมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ และปรับพีเอชน้ำด้วยหินปูนแคลเซียม (CaCO_3) ตามความเหมาะสม

ข. การเก็บข้อมูล เมื่อครบ 21 วัน คัดขนาดลูกปลาด้วยตะแกรงคัดขนาด (ภาพที่ 4) มีรูพรุน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ($\varnothing$) 0.6 เซนติเมตร เพื่อคัดแยกลูกปลาออกเป็น 2 ขนาด คือ ปลาจิ๋ว (fry marketing size, 0.21-0.30 กรัม/ตัว) และปลาใบมะขาม (below fry marketing size, $\leq$ 0.20 กรัม/ตัว) ดังตารางที่ 11

ตะแกรงคัดขนาดลูกปลา



ภาพที่ 4 ตะแกรงคัดขนาดลูกปลานิล ภายในมีรูพรุนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร

ตารางที่ 11 ขนาดของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ แบ่งตามเกรดจากการคัดแยกด้วยตะแกรงคัดขนาด

เกรดของปลา	น้ำหนัก (กรัม/ตัว)	การคัดแยกด้วยตะแกรงคัดขนาด
ปลาจิ๋ว (fry marketing size)	0.21-0.30	ไม่สามารถลอดผ่านตะแกรงคัด ขนาด Ø 0.6 ซม.
ปลาใบมะขาม (below fry marketing size)	≤ 0.20	ลอดผ่านตะแกรงคัด ขนาด Ø 0.6 ซม.

สุ่มลูกปลาทั้งสองขนาดด้วยสวิงเน็อนีม ให้ได้ประมาณ 100 กรัม ทำให้ลูกปลาสะเด็ดน้ำ แล้วชั่งน้ำหนัก และนับจำนวนตัว จากนั้นชั่งน้ำหนักรวมของลูกปลาทั้งหมดแยกตามขนาด บันทึกจำนวน น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการรอดของลูกปลาทุกเช้าในทุกชุดการทดลอง เพื่อการคำนวณค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

1) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, DWG; กรัม/ตัว/วัน)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง (วัน)}}$$

2) เปอร์เซนต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain; เปอร์เซนต์) ตามวิธีของ De Silva and Anderson (1995)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

3) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR; เปอร์เซ็นต์/วัน) ตามวิธีของ Steffens (1989)

$$= \frac{(\ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง (วัน)}} \times 100$$

4) อัตรารอด (survival rate; เปอร์เซ็นต์) ตามวิธีของ Steffens (1989)

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

5) คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU; เปอร์เซ็นต์) ประเมินจากโปรตีนที่สะสมในตัวปลา ตามวิธีการของ Robinson and Wilson (1985)

$$= \frac{(\% \text{ โปรตีนตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \% \text{ โปรตีนตัวปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลาบริโภคตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

6) ประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio, PER) เป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ที่มีผลให้น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ตามวิธีการของ Zeitoun *et al.* (1973)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลาบริโภค (กรัม)}} \times 100$$

7) อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ตามวิธีการของ Steffens (1989)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

8) คุณภาพการแปลงเพศ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆละ 300 ตัว อนุบาลในกระชังในล่อน มีฝาปิดขนาด 5 ตารางเมตร ในบ่อดินให้อาหารอนุบาลชนิดผง 32 เปอร์เซ็นต์โปรตีน 3 ครั้งต่อวัน เป็นเวลา 60 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการตรวจสอบเพศปลา ตามวิธีการของ นวลมณี และคณะ (2538) โดยใช้กรรไกรผ่าตัด เปิดช่องท้องปลา เชี่ยววัยวะภายในออก จะเห็นอวัยวะสืบพันธุ์ (gonads) ของปลานิล มีลักษณะคล้ายเส้นด้าย 2 เส้น ติดกับผนังช่องท้องด้านบนยาวตามแนวกระดูกสันหลัง ใช้ปากคีบดึงเอาอวัยวะสืบพันธุ์ ทั้ง 2 เส้น ตัดด้วยกรรไกร วางบนแผ่นสไลด์ หยดสารละลายอะซิโต คาร์มิน (aceto carmine solution) 1-2 หยด ใช้สไลด์อีกแผ่นกดทับและบีบขี้ตัวอย่าง นำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 ถึง 400 เท่า บันทึกผล และคำนวณเปอร์เซ็นต์เพศผู้

1.3.2 ศึกษาการจับถ่ายแอมโมเนียระหว่างการลำเลียงขนส่ง

ลูกปลานิลแดง ระยะปลาจิ๋ว (fry marketing size) น้ำหนัก 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ที่ผ่านการอนุบาลด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 21 วัน ย้ายลูกปลาจากกระชังบ่อดิน มาขังแยกกระชังในบ่อคอนกรีตตามชุดการทดลอง ที่มีระบบกรองน้ำและให้อากาศ เป็นเวลา 7 วัน เพื่อการปรับตัว และยังคงให้ลูกปลากินอาหารตามชุดการทดลอง

ก. การทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย ที่เวลา 24 ชั่วโมงของปลานิลแดงที่ใช้ในการขนส่ง โดยการประเมินค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของแอมโมเนีย ในรูปของสารประกอบแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) ของ APHA (1998) โดยคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง (medial lethal concentration, 24 hr- LC_{50}) ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) มีขั้นตอนการทดลองดังต่อไปนี้

1) สัตว์ทดลอง เป็นลูกปลานิลแดง ระยะปลาจิ๋ว (fry marketing size) น้ำหนัก 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ใช้ลูกปลาในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) เป็นตัวแทนในการศึกษา ให้ลูกปลาอดอาหาร 1 วัน ก่อนการทดลอง

2) น้ำที่ใช้ในการทดลอง เป็นน้ำจืด เตรียมโดยเติมน้ำลงในถังไฟเบอร์ ขนาด 2 ตัน ผ่าเชื้อด้วยคลอรีน โดยละลายคลอรีนผง (calciumhypochloride, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$) ลงในน้ำ ให้มีความเข้มข้น 20-30 พีพีเอ็ม พร้อมทั้งให้อากาศ 2-3 วัน เพื่อให้คลอรีนสลายตัว และทดสอบการตกค้างของคลอรีนโดยหยดสารละลายโปแตสเซียมไอโอไดน์ (KI) 1-2 หยด ถ้าน้ำเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แสดงว่าคลอรีนยังสลายตัวไม่หมด ให้พักน้ำต่อไปอีก แต่ถ้าน้ำตัวอย่างใสเป็นปกติ แสดงว่าคลอรีนสลายตัวหมดแล้ว สามารถนำน้ำไปใช้ในการทดลองได้

3) สารเคมี แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในเคสซิเคเตอร์ จากนั้นนำแอมโมเนียมคลอไรด์มาชั่งทำเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 10,000 พีพีเอ็ม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย และนำไปใช้ทดลองทันที

4) การทดลองขั้นต้น (preliminary test หรือ range finding test) เป็นการทดลองหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ลูกปลา มีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยจัดความเข้มข้นเป็น 9 ระดับ บันทึกอัตราการตาย ที่ 24 ชั่วโมง แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองขั้นต่อไป

5) การทดลองขั้นละเอียด (full-scale test) นำผลการทดลองขั้นต้น มาจัดระดับความเข้มข้นใหม่ ให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ลูกปลา ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อหาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลา ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยจัดระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียใหม่ตามสัดส่วนลอกลิทึม แบ่งระดับความเข้มข้น เป็น 9 ระดับ และกลุ่มควบคุม แต่ละระดับ มี 3 ซ้ำ

6) การวิเคราะห์ข้อมูล นำข้อมูลอัตราการตายสะสมของลูกปลานิลแดง ที่ 24 ชั่วโมง มาวิเคราะห์ค่า 24 hr-LC₅₀ และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) และนำค่า 24 hr-LC₅₀ ไป

คำนวณค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (safety concentration) โดยคูณกับ 0.01 ซึ่งเป็นการปรับค่า (application factor) ที่ Sprague (1969) แนะนำ

ข. การเตรียมการก่อนการขนส่ง

1) การเตรียมน้ำสำหรับการขนส่ง เป็นน้ำจืดผ่านระบบกรองทราย (sand filter) ปรับอุณหภูมิด้วยน้ำแข็งให้ได้ 24 องศาเซลเซียส (Hartley, 2001) ก่อนการขนส่งทำการวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) พีเอชของน้ำ และอุณหภูมิของน้ำ ด้วยเครื่อง DO meter YSI รุ่น 550 A-12, pH meter YSI รุ่น pH 10 และเทอร์โมมิเตอร์ ตามลำดับ ค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ (conductivity) และความเค็มของน้ำ (salinity) วัดด้วยเครื่อง EC 300 ของ YSI สำหรับความเป็นด่างรวม (total alkalinity) ความกระด้างรวม (total hardness) และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ (free carbodioxide) วิเคราะห์ด้วยวิธี titrimetric method โดยการไทเทรต (Boyd and Tucker, 1992) และวัดปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; total $\text{NH}_3\text{-N}$) ด้วยวิธี Koroleff's indophenol blue method (Grasshoff, 1976)

2) การเตรียมถังทดลองสำหรับสถานะที่มีการลำเลียงขนส่ง ถังทดลองเป็นถังพลาสติก ความจุ 20 ลิตร (20 x 32 x 32 เซนติเมตร) จำนวน 30 ใบ จัดวางถังทดลอง ถังออกซิเจน และอุปกรณ์ให้อากาศบนรถยนต์ เมื่อจัดวางระบบเสร็จสิ้น เติมน้ำที่เตรียมไว้สำหรับการขนส่งซึ่งปรับอุณหภูมิไว้แล้ว (24 องศาเซลเซียส) ถังละ 5 ลิตร ใส่เทอร์โมมิเตอร์ไว้ภายในถัง เพื่อวัดอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดตลอดการขนส่ง 12 ชั่วโมง และเตรียมน้ำแข็งใส่ถังพลาสติก รััดด้วยหนัวยาง เพื่อใช้ปรับอุณหภูมิของน้ำระหว่างการขนส่ง

3) การเตรียมตู้ทดลองสำหรับสถานะที่ไม่มีการขนส่ง ตู้ทดลองเป็นตู้กระจก จำนวน 30 ใบ โดยจัดวางตู้ทดลอง และระบบให้อากาศในอะควาเรียม เติมน้ำที่เตรียมไว้สำหรับการขนส่งซึ่งปรับอุณหภูมิไว้แล้ว ตู้ละ 5 ลิตร ใส่เทอร์โมมิเตอร์ไว้ภายในตู้ เพื่อวัดอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เช่นเดียวกันกับสถานะขนส่ง

ค. การดำเนินการขนส่ง

1) สถานะการลำเลียงขนส่ง ชั่งน้ำหนักลูกปลานิลแดงในแต่ละชุดการทดลอง (5 ชุดการทดลอง) ชุดการทดลองละ 2 ความหนาแน่น คือ 240 ตัว/ลิตร และ 400 ตัว/ลิตร

ความหนาแน่นละ 3 ชั่วโมง ใส่ปลาลงในถังทดลอง (ทั้งหมด 30 ตัว) ที่เตรียมไว้บนรถยนต์ เปิดระบบให้ออกซิเจน และควบคุมไว้ที่ 12-15 มิลลิกรัม/ลิตร พีเอช 7.8 อุณหภูมิของน้ำ 24 องศาเซลเซียส และเริ่มจับเวลา เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที ทำการวัดคุณภาพน้ำเริ่มต้นการทดลอง หลังจากนั้นทดลองขนส่งลูกปลาทางรถยนต์โดยวิ่งรถไปกลับ กรุงเทพฯ-ปราจีนบุรี (บริษัท น้ำใสฟาร์ม จำกัด) ใช้เวลาประมาณ 9 ชั่วโมง และขนส่งให้ครบ 12 ชั่วโมง บนถนนภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างการขนส่งจะหยุดรถทุกๆ 2 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบระบบให้อากาศและปรับอุณหภูมิของน้ำให้ใกล้เคียง 24 องศาเซลเซียส ด้วยถุงน้ำแข็ง

2) สภาวะที่ไม่มีการขนส่ง ดำเนินการทดลองไปพร้อมกันกับสภาวะการลำเลียงขนส่ง มีวิธีการเช่นเดียวกันคือ ชั่งน้ำหนักลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 2 ความหนาแน่น คือ 240 ตัว/ลิตร และ 400 ตัว/ลิตร ความหนาแน่นละ 3 ชั่วโมง ใส่ลูกปลาลงในตู้ทดลอง (ทั้งหมด 30 ตัว) ที่เตรียมไว้ โดยจัดวางในอะควาเรียม เปิดระบบให้ออกซิเจน และเริ่มจับเวลา เมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที ทำการวัดคุณภาพน้ำเริ่มต้นการทดลอง และทุกๆ 2 ชั่วโมง จะตรวจสอบระบบให้อากาศและปรับอุณหภูมิของน้ำให้ใกล้เคียง 24 องศาเซลเซียส ด้วยถุงน้ำแข็ง

ง. การดำเนินการหลังจากการขนส่ง

1) เมื่อสิ้นสุดการลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง นับจำนวนลูกปลาที่ตายในถังทดลองบนรถยนต์ (สภาวะการลำเลียงขนส่ง) และในตู้ทดลองในอะควาเรียม (สภาวะที่ไม่มีการขนส่ง)

2) เก็บตัวอย่างน้ำ ในถังทดลองและในตู้ทดลองทุกใบ เพื่อวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) พีเอชของน้ำ อุณหภูมิของน้ำ ค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ (conductivity) ความเค็มของน้ำ (salinity) ความเป็นด่างรวม (total alkalinity) ความกระด้างรวม และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ (free carbodioxide)

3) วัดปริมาณแอมโมเนียรวมของน้ำ (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ในภาชนะลำเลียงและตู้ทดลองในอะควาเรียมและวิเคราะห์ปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียในรูปแบบแอมโมเนียรวม ตามวิธีการของ APHA (1998) แล้วคำนวณค่าดังนี้

$$\text{ปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนีย} = \frac{\text{total NH}_3\text{-N (mg/l) in water}}{\text{fish biomass (Kg)}} \quad (\text{mg NH}_3\text{-N/Kg/hr})$$

1.3.3 การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค

เป็นการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคหลังจากการลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว กับเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร โดยการแช่ต่อเนื่อง เป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบอัตราการรอดตายของลูกปลาระหว่างชุดการทดลอง โดยมีวิธีการดังนี้

ก. การเตรียมการทดสอบเชื้อ

1) ตู้ทดลอง เป็นตู้กระจกขนาด 50 x 60 x 40 เซนติเมตร จำนวน 60 ใบ ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน เติมน้ำจืดลงในตู้ทดลอง ตู้ละ 50 ลิตร (น้ำที่ใช้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และพักน้ำไว้จนคลอรีนสลายตัว) และจัดวางระบบให้อากาศ ตลอด 24 ชั่วโมง

2) การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ได้จากสถาบันสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง นำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้น TSA (trypticase soy agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อลงในขวดเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเหลว BHI (brain heart infusion broth) ปิดฝาขวด นำเข้าเครื่องเขย่า นาน 48 ชั่วโมง

3) การเตรียม stock ของแบคทีเรีย นำเชื้อแบคทีเรีย ในข้อ 2) มาปั่นให้ตกตะกอนในเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Sorval RC 62 Plus ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm นาน 20 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปั่นล้างด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm นาน 10 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยปั่นล้าง 3 รอบ หลังจากนั้นปรับความเข้มข้นของ stock เชื้อแบคทีเรีย ไว้ที่ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร โดยใช้ 0.85 % NaCl เป็นสารละลายปรับความเข้มข้น (ค่ามาตรฐาน OD = 1.9 ที่ความยาวคลื่น 550 nm จะมีความเข้มข้นของแบคทีเรีย เท่ากับ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร หรือ ให้เทียบกับ McFarland No.10 ซึ่งเท่ากับ 3.0×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.85 % NaCl อีกเท่าตัว (การเลี้ยงเชื้อและการเตรียม stock แบคทีเรียแสดงในภาคผนวก)

ข. การดำเนินการทดสอบเชื้อ

1) คำนวณปริมาตรเชื้อแบคทีเรีย จาก stock เพื่อเติมเชื้อลงในตู้ทดลองที่มีน้ำอยู่ 50 ลิตร ให้มีความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 1.0×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร หลังจากการเติมเชื้อแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างน้ำไปตรวจสอบความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง โดยการ spread plat count technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (trypticase soy agar) แล้วนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และคำนวณหาค่าเฉลี่ย (ค่าเฉลี่ยที่ได้คือ $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร)

2) สุ่มตัวอย่างลูกปลานิลแดง 100 ตัว/ซ้ำ ในทุกชุดการทดลอง จากทั้งสองสถานะ ใส่ในตู้ทดลองที่มีเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคโดยการแช่ต่อเนื่อง 10 วัน สังเกตอาการติดเชื้อและบันทึกจำนวนลูกปลาที่ตาย ยืนยันการติดเชื้อและสาเหตุการตายของลูกปลา ด้วยชุดทดสอบ API[®] 20-Strep (BioMerieux, 2002) ขั้นตอนและวิธีการทดสอบเชื้อแสดงในภาคผนวก

2. การทดลองที่ 2: ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังจากการขนส่ง

2.1 การวางแผนการทดลอง

การศึกษาศักยภาพการทดแทนปลาป่น (fish meal, FM) ด้วยวัตถุดิบแหล่งโปรตีนหลักจากพืช (plant protein sources, PP) 2 ชนิด คือ กากถั่วเหลือง (soybean meal, SBM) และ โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate, MBP) ในอาหารปลานิลระยะอนุบาล ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานเชื้อโรค หลังจากการลำเลียงขนส่ง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) มี 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ตามสูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาล อาหารทดลองทุกสูตรมีโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนของวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารต่างกัน ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet)

ชุดการทดลองที่ 2 กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM)

ชุดการทดลองที่ 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP)

ชุดการทดลองที่ 4 โปรตีนจากพืช 0% ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP)

ชุดการทดลองที่ 5 กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM)

ชุดการทดลองที่ 6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

อาหารทุกชุดการทดลองผ่านกระบวนการอัดเม็ดด้วยเครื่องเอ็กทราuder ให้เป็นอาหารเม็ดลอยน้ำ เพื่อให้อนุบาลถูกปลานิลแดงขนาดเริ่มต้น 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และคุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน และหลังจากการอนุบาล 8 สัปดาห์ ปลานิลแดงซึ่งมีขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว นำมาศึกษาผลของแหล่งโปรตีนในอาหารต่อปริมาณการจับถ่ายแอมโมเนียในภาชนะลำเลียง และอัตราการรอดในการขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 และ 15 ตัว/ลิตร ในถังระบบเปิด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และหลังจากการขนส่ง ทำการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร เปรียบเทียบอัตราการรอดตายระหว่างชุดการทดลอง

2.2 การเตรียมการทดลอง

2.2.1 อาหารทดลอง

สูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาลประกอบด้วยวัตถุดิบแหล่งโปรตีนหลัก 3 ชนิด คือปลาป่นโปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลืองโปรตีน 48 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นโปรตีน 70 เปอร์เซ็นต์ จากโรงงานแปรรูป และวัตถุดิบอื่นๆ เพื่อใช้ปรับค่าโภชนะในสูตรอาหารให้สมดุล ดังตารางที่ 12 นำวัตถุดิบมาผ่านตะแกรง ขนาด 250 ไมครอน วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบแล้วประกอบเป็นสูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาล 6 สูตร (ชุดการทดลอง) มีโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกชุดการทดลอง โดยสูตรอาหารมีสัดส่วนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารต่างกัน ดังนี้ อาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม; Ref diet) สูตร 2 กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% SBM) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% MBP) สูตร 4 โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% PP) สูตร 5 กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% SBM) และสูตร 6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) อาหารทุกสูตรผ่านกระบวนการอัดเม็ดด้วยเครื่องเอ็กทราuder ให้เป็นอาหารเม็ดลอยน้ำ และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารโดยวิธีของ AOAC (2000) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ตารางที่ 12 สูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาลและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

วัตถุดิบ	ปริมาณโปรตีนจากพืชในสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					
	สูตร 1 ¹	สูตร 2 ¹	สูตร 3 ¹	สูตร 4 ¹	สูตร 5 ¹	สูตร 6 ¹
	(Ref diet)	(70%SBM)	(70%MBP)	(0%PP)	(100%SBM)	(100%MBP)
ปลาป่น (%)	-	16.00	16.00	53.00	0.00	0.00
กากถั่วเหลือง (%)	-	42.85	0.00	0.00	60.75	0.00
โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (%)	-	0.00	30.00	0.00	0.00	43.00
ข้าวโพด (%)	-	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
รำสัถ (%)	-	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
มันสำปะหลัง (%)	-	3.70	16.92	10.50	0.00	17.75
น้ำมันปลา (%)	-	0.00	0.00	0.00	2.25	1.75
น้ำมันถั่วเหลือง (%)	-	2.45	2.00	2.00	0.00	0.00
พรีมิกซ์ ² (%)	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

ตารางที่ 12 (ต่อ)

วัตถุดิบ	ปริมาณวัตถุดิบในสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					
	สูตร 1 ¹	สูตร 2 ¹	สูตร 3 ¹	สูตร 4 ¹	สูตร 5 ¹	สูตร 6 ¹
	(Ref diet)	(70%SBM)	(70%MBP)	(0%PP)	(100%SBM)	(100%MBP)
ไคแอลเซียมฟอสเฟต (%)	-	1.50	1.58	1.00	3.50	4.00
รวม (%)	100	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
โภชนาในอาหารโดยการวิเคราะห์ ตาม AOAC (2000)						
ความชื้น (%)	9.657	9.879	8.584	7.992	8.941	8.004
โปรตีน (%)	32.240	32.506	32.015	33.220	32.108	33.257
ไขมัน (%)	5.345	4.252	4.093	5.751	3.510	3.552
เถ้า (%)	6.893	8.685	8.905	15.566	8.916	7.621
เยื่อใย (%)	8.574	5.119	5.064	3.945	5.300	5.395
NFE ³ (%)	37.291	39.561	41.341	33.527	41.228	42.172
DE ⁴ (Kcal/Kg diet)	2,649.47	2,629.41	2,641.53	2,627.06	2,595.77	2,668.72
GE ⁵ (Kcal/Kg diet)	3,818.30	3,820.82	3,849.23	3,761.48	3,794.85	3,901.54
DE/P ⁶ (Kcal/gram protein)	8.218	8.091	8.252	7.909	8.085	8.025

หมายเหตุ ¹สูตร 1: ชุดควบคุม; สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70% ต่อ ปลาป่น 30% (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70% ต่อ ปลาป่น 30% (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0% ต่อ ปลาป่น 100% (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100% ต่อ ปลาป่น 0% (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100% ต่อ ปลาป่น 0% (100% MBP)

²พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย: Vit A, 36,000 IU; D3, 9,000 IU; E, 187 mg; K3, 19 mg; B1, 52 mg; B2, 97 mg; B6, 46 mg; C, 69.8 g activity; B12, 60 µg; Pantothenic acid, 93 mg; Niacin, 130 mg; Folic acid, 10 mg; Inositol, 225 mg; Biotin, 450 mg; Mn, 105 mg; Cu, 9 mg; Fe, 90 mg; Zn, 90 mg; I, 1.8 mg; Co, 450 µg; Mg, 1,900 mg; Se, 150 mg; Na, 117 mg; K, 3,600 mg; Ca, 219 mg

³Nitrogen free extract = 100 – (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เถ้า + %เยื่อใย)

⁴DE คือ พลังงานที่ย่อยได้ = (%โปรตีน x 4.0) + (%ไขมัน x 8.0) + (%NFE x 2.5) ในหน่วยกิโลแคลอรี/100 กรัม อาหาร (NRC, 1983)

⁵GE คือ พลังงานรวมทั้งหมดในอาหาร = (% โปรตีน x 5.65) + (% ไขมัน x 9.45) + (%NFE x 4.00) ในหน่วยกิโลแคลอรี/100 กรัม อาหาร (Halver and Hardy, 2002)

⁶DE/P คือ พลังงานที่ย่อยได้ต่อโปรตีนในอาหาร ในหน่วยกิโลแคลอรี/กรัมโปรตีน

2.2.2 สัตว์ทดลอง

ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ระยะปลาจิ๋ว (fry marketing size) น้ำหนัก 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว จำนวน 14,400 ตัว

2.2.3 บ่อ และกระชัง

บ่อดินขนาด 1 ไร่ ตากบ่อให้แห้ง 2 สัปดาห์ ตัดหญ้ารอบคันบ่อ ทำความสะอาด และคลุมบ่อด้วยตาข่ายป้องกันนก โรยปูนขาว (Ca(OH)_2) 200 กิโลกรัม ไตรคลอโรฟอน 400 กรัม ปุ๋ยเคมีสูตร 16-20-0 จำนวน 30 กิโลกรัม เติมน้ำเข้าบ่อสูง 120 เซนติเมตร และติดตั้งใบตื้นน้ำ หลังจากนั้น 5-7 วัน ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น โดยเฉพาะพีเอชของน้ำ ควรมีค่า 7.5-8.3 แล้วจึงวางกระชังในล่อนตาถี่ (ตาขนาด 1.27 x 1.27 มิลลิเมตร) ขนาด 10 ตารางเมตร (2.5 x 4.0 x 1.0 เมตร) จำนวน 18 ใบ โดยจัดวางกระชังรอบบ่อ ให้กระชังห่างจากขอบบ่อประมาณ 1 เมตร และเมื่อเลี้ยงปลาได้ 4 สัปดาห์ ทำการเปลี่ยนและเพิ่มขนาดกระชัง เป็นกระชังในล่อนตาห่าง (ตาขนาด 4.0 x 4.0 มิลลิเมตร) ขนาด 20 ตารางเมตร (2.5 x 8.0 x 1.0 เมตร)

2.2.4 การให้อาหาร

อาหารทดลองทุกสูตรส่วนหนึ่งนำมาบดให้เป็นเกล็ด เพื่อใช้สำหรับการอนุบาลลูกปลานิลแดงในช่วง 2 สัปดาห์แรก ผสมอาหารเกล็ดและอาหารเม็ดในอัตรา 1 ต่อ 1 อนุบาลลูกปลาในสัปดาห์ที่ 3 และหลังจากนั้นอนุบาลลูกปลาด้วยอาหารเม็ดล้วนตามชุดการทดลอง จนครบกำหนด 8 สัปดาห์ ความถี่ในการให้อาหาร 3 ครั้ง/วัน (8.00, 12.00 และ 16.00 นาฬิกา) ทุกๆ 2 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักลูกปลาทั้งหมด และสุ่มลูกปลา จำนวน 100 ตัว/กระชัง มาชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณน้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการรอดตาย เพื่อปรับปริมาณอาหาร มีโปรแกรมการให้อาหาร ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 อาหารและโปรแกรมการให้อาหารปลานิลระยะอนุบาล

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ขนาดปลา (กรัม)	อัตราการให้อาหาร (ต่อน้ำหนักตัว/วัน)	ชนิดของอาหาร	ขนาด/ชนิดของกระชัง
0	0.2-1.0	8%	เกล็ด	10 ตรม. /ตาถี่
2	1.0-5.0	6%	เกล็ด + เม็ดลอยน้ำ	10 ตรม. /ตาถี่
4	5.0-10.0	4%	เม็ดลอยน้ำ	20 ตรม. /ตาห่าง
6	10.0-20.0	3%	เม็ดลอยน้ำ	20 ตรม. /ตาห่าง
8	20.0-30.0	2%	เม็ดลอยน้ำ	20 ตรม. /ตาห่าง

ที่มา: ดัดแปลงจาก เวียง (2542)

2.3 การดำเนินการทดลอง

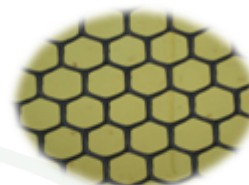
2.3.1 ศึกษาการเจริญเติบโต

ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ระยะปลาจิ๋ว (fry marketing size) น้ำหนัก 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ปล่อยเลี้ยงในกระชังในล่อนตาถี่ ขนาด 10 ตารางเมตร แวนลอยในบ่อดิน ขนาด 1 ไร่ อัตราปล่อย 800 ตัว/กระชัง ให้ลูกปลากินอาหารตามชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามโปรแกรมการให้อาหารข้างต้น

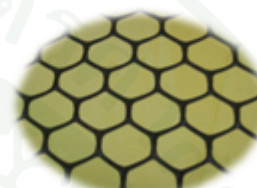
ก. คุณภาพน้ำและการจัดการ วัดคุณภาพน้ำทุกวันตลอดการเลี้ยง 8 สัปดาห์ และจัดการด้านการเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่ออนุบาลลูกปลาได้ 4 สัปดาห์ ทำการเปลี่ยน และเพิ่มขนาดกระชังใหม่ เป็นกระชังในล่อนตาห่าง ขนาด 20 ตารางเมตร

ข. การเก็บข้อมูล บันทึกข้อมูลน้ำหนักเฉลี่ย อัตรารอด และปริมาณอาหารที่ให้ ทุกๆ 2 สัปดาห์ เมื่ออนุบาลลูกปลานิลแดง ครบกำหนด 8 สัปดาห์ ทำการคัดขนาดลูกปลา ด้วย ตะแกรงคัดขนาด (ภาพที่ 5) มีรูพรุน เส้นผ่านศูนย์กลาง ($\varnothing$) 2.0 และ 3.0 เซนติเมตร เพื่อคัดแยก ปลาออกเป็น 3 ขนาด คือ ปลาน้ำเกรด เอ (> 25.0 กรัม/ตัว) ปลาน้ำเกรด บี (20.0-25.0 กรัม/ตัว) และปลาน้ำเกรด ซี (< 20.0 กรัม/ตัว) ดังตารางที่ 14

ขนาดของตาตะแกรงและวิธีการคัดขนาดปลา



Ø 2.0 cm



Ø 3.0 cm

ภาพที่ 5 ขนาดของตาตะแกรงคัดขนาดและวิธีการคัดขนาดปลานิลแดง

ตารางที่ 14 ขนาดของปลานิลแดงระยะปลาน้ำที่แบ่งตามเกรดจากการคัดแยกด้วยตะแกรงคัดขนาด

เกรดของปลา	น้ำหนัก (กรัม)	การคัดแยกด้วยตะแกรงคัดขนาด
ปลาน้ำเกรด เอ	> 25.0	ไม่สามารถลอดผ่านตะแกรง คัดขนาด Ø 3.0 ซม.
ปลาน้ำเกรด บี	20.0-25.0	ลอดผ่านตะแกรง Ø 3.0 ซม. แต่ไม่ผ่านตะแกรง Ø 2.0 ซม.
ปลาน้ำเกรด ซี	< 20.0	ลอดผ่านตะแกรง Ø 2.0 และ Ø 3.0 ซม.

สุ่มลูกปลาทั้งสามขนาดด้วยสวิงเน็อนิม ให้ได้ประมาณ 100 ตัว ทำให้ลูกปลาสะเด็ดน้ำ แล้วชั่งน้ำหนัก และนับจำนวนตัว จากนั้นชั่งน้ำหนักรวมของปลาทั้งหมดแยกตามขนาด บันทึกจำนวนปลา น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการรอด ของปลาทุกซ้ำในทุกชุดการทดลอง เพื่อการคำนวณค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, DWG; กรัม/ตัว/วัน) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG; เปอร์เซ็นต์) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR; เปอร์เซ็นต์/วัน) อัตราการรอด (survival rate; เปอร์เซ็นต์) คุณประโยชน์สุทธิของ

โปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU; เปอร์เซ็นต์) ประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio, PER) และอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) โดยดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 สำหรับเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ (edible flesh) ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index) ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen) และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ตับ (histology of hepatocytes) ทำการศึกษาดังนี้

1) เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ (edible flesh; เปอร์เซ็นต์) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการสุ่มปลา 3 ตัว/ซ้ำ ทุกชุดการทดลอง (9 ตัว/ชุดการทดลอง) นำมาชั่งน้ำหนักตัว บันทึกผล ชุบน้ำเกลือปลาออกให้หมด แล้วแร่เนื้อปลาออกให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ จากนั้นนำซากโครงกระดูก รวมทั้งอวัยวะภายใน และเกล็ดปลา มาชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

$$\text{เนื้อส่วนที่กินได้ (\%)} = 100 - \left[\frac{(\text{น้ำหนักของซาก เกล็ด และอวัยวะภายใน} \times 100)}{\text{น้ำหนักตัว}} \right]$$

2) ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index; เปอร์เซ็นต์) ตัวอย่างปลาที่สุ่มจากข้อ 1) นำมาผ่าเปิดช่องท้อง ดึงเอาส่วนของตับปลาทั้งหมดมาชั่งน้ำหนัก และนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีตับต่อตัว ตามวิธีการของ Anwar and Jafri (1995)

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

3) ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen; mg glucose/ml) โดยแบ่งตัวอย่างตับปลาจากข้อ 2) ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่ง แช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เก็บไว้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในเซลล์ตับ ตามวิธีการของ (Johann and Lentini, 1971) โดยนำเนื้อเยื่อตับมาเติม trichloro acetic acid (TCA) 5 % แล้วนำไป homogenize 2 นาที ที่ความเร็วรอบ 1,600 rpm จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที (ทำ 2 ครั้ง) ดูดส่วนใสมา 200-1,000 ไมโครลิตร แล้วเติม TCA 1 มิลลิตร และ 95 % ethanol 5 มิลลิตร นำไปอบใน oven ที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm

นาน 15 นาที แล้วเติมน้ำเดือด 0.5 มิลลิลิตร กรดซัลฟิวริกเข้มข้น และ 5 % phenol อย่างละ 5 มิลลิลิตร นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

4) การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ตับ (histology of hepatocytes) ตัวอย่างตับส่วนที่สอง จากข้อ 3) นำมาแช่ในสารละลาย 10 % บัฟเฟอร์ ฟอรัมาลิน ให้สารละลายท่วมตัวอย่างตับ 2 ใน 3 ส่วน ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1979) ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 3-4 ไมโครเมตร แล้วย้อมด้วยสี Haematoxylin และ Eosin (H&E) (Bancroft, 1967) ณ ห้องปฏิบัติการชันสูตรโรค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จากนั้นนำเนื้อเยื่อไปศึกษาขนาดและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ตับ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลอง

2.3.2 ศึกษาการจับถ่ายแอมโมเนียระหว่างการลำเลียงขนส่ง

ใช้ปลานิลแดงเกรด เอ น้ำหนัก 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่ผ่านการเลี้ยงด้วยอาหารปลานิลระยะอนุบาล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ย้ายปลาจากกระชังบ่อดิน มาขังแยกกระชังในบ่อคอนกรีตตามชุดการทดลอง ที่มีระบบกรองน้ำและให้อากาศ เป็นเวลา 7 วัน เพื่อการปรับตัว และยังคงให้ปลากินอาหารตามชุดการทดลอง

ก. การทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย ที่เวลา 24 ชั่วโมง ของปลานิลแดงที่ใช้ในการขนส่ง โดยการประเมินค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของแอมโมเนีย ในรูปของสารประกอบแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

1) สัตว์ทดลอง เป็นปลานิลแดงระยะปลาน้ำ น้ำหนัก 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว โดยใช้ปลาในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) เป็นตัวแทนในการศึกษา และให้ปลาอดอาหาร 2 วัน ก่อนการทดลอง

2) น้ำที่ใช้ในการทดลอง การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) และการทดลองขั้นต้น (preliminary test หรือ range finding test) ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 สำหรับ การทดลองขั้นละเอียด (full-scale test) นำผลการทดลองขั้นต้น มาจัดระดับความเข้มข้นใหม่ ให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อหาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ปลา

ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยจัดระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียใหม่ตาม สัดส่วนลอกกาฬิม แบ่งระดับความเข้มข้น เป็น 10 ระดับ และกลุ่มควบคุม แต่ละระดับ มี 3 ซ้ำ

3) การวิเคราะห์ข้อมูล นำข้อมูลอัตราการตายสะสมของปลานิลแดง ที่ 24 ชั่วโมง มาวิเคราะห์ค่า 24 hr-LC₅₀ ตามวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ข. การเตรียมการก่อนการขนส่ง

สัตว์ทดลอง เป็นปลานิลแดงระยะปลานิ้ว น้ำหนัก 25.562 ± 1.315 กรัม ที่ผ่านการเลี้ยงด้วย อาหารปลานิลระยะอนุบาล แตกต่างกัน 6 สูตร ตามชุดการทดลอง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และผ่านการ ออกอาหารมาแล้ว 2 วัน

1) การเตรียมน้ำสำหรับการขนส่ง และการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2) การเตรียมถังทดลองสำหรับสถานะที่มีการลำเลียงขนส่ง ถังทดลองเป็น ถังพลาสติกขนาดความจุ 20 ลิตร (20 x 32 x 32 เซนติเมตร) จำนวน 36 ใบ โดยดำเนินการ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3) การเตรียมตู้ทดลองสำหรับสถานะที่ไม่มีการขนส่ง ตู้ทดลองเป็นตู้ กระบอก จำนวน 36 ใบ โดยดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

4) การตรวจสอบสุขภาพปลา ก่อนการลำเลียงขนส่ง โดยสุ่มเก็บเลือดปลา จากทุกชุดการทดลอง มาวัดค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia level) วัดด้วยวิธี direct colorimetric method (McCullough, 1967) ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) วัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ One touch ultra รุ่น life scan การวัดระดับโปรตีนในเลือด (serum protein level) คัดแปลงจากวิธี Lowry's method (Lowry *et al.*, 1951) ค่าอิมมูโนโกลบูลิน เอ็ม (immunoglobulin M; Ig M) ตามวิธีการของ Siwicki *et al.* (1994) และกระบวนการกลืนทำลาย สิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ (phagocytic activity) คัดแปลงจากวิธีการของ กิจการ และ คณะ (2543)

ค. การดำเนินการขนส่ง

1) สถานะการลำเลียงขนส่ง ชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละชุดการทดลอง (6 ชุด การทดลอง) ชุดการทดลอง ละ 2 ความหนาแน่น คือ 10 ตัว/ลิตร และ 15 ตัว/ลิตร ความหนาแน่นละ 3 ซ้ำ ใส่งปลาในถังทดลอง (รวมทั้งหมด 36 ถัง) ที่เตรียมไว้บนรถยนต์ โดยดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2) สถานะที่ไม่มีการขนส่ง ดำเนินการทดลองไปพร้อมกันกับสถานะการลำเลียงขนส่ง มีวิธีการเช่นเดียวกันคือ ชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 2 ความหนาแน่น คือ 10 ตัว/ลิตร และ 15 ตัว/ลิตร ความหนาแน่นละ 3 ซ้ำ ใส่งปลาในตู้ทดลอง (รวมทั้งหมด 36 ตู้) ที่เตรียมไว้ในอะควาเรียม ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ง. การดำเนินการหลังการขนส่ง

1) เมื่อครบกำหนด 12 ชั่วโมง นับจำนวนลูกปลาที่ตายในถังทดลองบนรถยนต์ (สถานะการลำเลียงขนส่ง) และในตู้ทดลองในอะควาเรียม (สถานะที่ไม่มีการขนส่ง) ทุกใบ เพื่อประเมินอัตราการรอด

2) เก็บตัวอย่างน้ำ ในถังลำเลียงและในตู้ทดลองทุกใบ เพื่อวัดคุณภาพน้ำ โดยดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3) วัดปริมาณแอมโมเนียรวมของน้ำในถังลำเลียงและตู้ทดลองทุกใบ และคำนวณอัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย โดยดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

4) การตรวจสอบสุขภาพปลาภายหลังจากการขนส่ง โดยสุ่มเก็บเลือดปลาในถังทดลอง (สถานะการขนส่ง) และในตู้ทดลอง (สถานะที่ไม่มีการขนส่ง) จำนวน 3 ตัว/ซ้ำ มาวัดค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia level) ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) และระดับโปรตีนในเลือด (serum protein level) และวัดค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ค่าอิมมูโนโกลบูลิน เอ็ม (immunoglobulin M; Ig M) และกระบวนการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมของเซลล์แมคโครฟาจ (phagocytic activity)

2.3.3 การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค

เป็นการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคหลังจากการลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว กับเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตรโดยการแช่ต่อเนื่อง เป็นเวลา 10 วัน ในตู้กระจก ขนาด $50 \times 60 \times 40$ เซนติเมตร จำนวน 72 ใบ โดยมีวิธีการเตรียมการ และดำเนินการทดสอบเชื้อ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยข้อมูลที่มีค่าเป็นเปอร์เซ็นต์และอัตราส่วน จะทำการแปลงข้อมูลด้วยวิธี Arcsine transformation (จริญ, 2547) ก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง โดย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 6.12 (SAS, 1996)

4. สถานที่ทำการทดลอง

บริษัท น้ำใสฟาร์ม จำกัด อ. บ้านสร้าง จ. ปราจีนบุรี และห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์และอาหารสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2551 ถึงเดือน มกราคม พ.ศ. 2552

ผลและวิจารณ์

1. การทดลองที่ 1: ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารปลานิล ระยะแปลงเพศ ต่อการเจริญเติบโต คุณภาพการแปลงเพศ การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังการขนส่ง

1.1 ผลต่อการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร และคุณภาพการแปลงเพศ

1.1.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอด

ผลของการใช้อาหารปลานิลระยะแปลงเพศที่มีสัดส่วนของการทดแทนปลาป่น (fish meal; FM) ด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate; MBP) ในอาหารที่ระดับต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโตของลูกปลานิลแดงในขั้นตอนของการแปลงเพศ โดยทดลองกับลูกปลาระยะที่ฟักออกเป็นตัวและถุงไข่แดงยุบแล้ว (free-swimming fry) น้ำหนักเริ่มต้น 0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว โดยอนุบาลลูกปลาด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศชนิดผงในกระชังแขวนลอยในบ่อดิน เป็นเวลา 21 วัน ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลานิลแดงมีความแตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในทุกช่วงระยะของการเจริญเติบโต (ดังตารางที่ 15) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออนุบาลลูกปลาไปจนถึงสิ้นสุดระยะเวลาในการแปลงเพศ 21 วัน ซึ่งพบว่า ลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 0.1636 กรัม/ตัว ไม่แตกต่างกับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.1585 กรัม/ตัว สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่าลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 0.1115, 0.1004 และ 0.0900 กรัม/ตัว ตามลำดับ โดยพบว่า ลูกปลานิลแดงระยะแปลงเพศมีน้ำหนักเฉลี่ยลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารและแตกต่างจากชุดควบคุม ($P < 0.01$)

ตารางที่ 15 น้ำหนักเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลากการเจริญเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลงเพศสูตรต่างๆ ตามชุดการทดลอง

ช่วงเวลา (วัน)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)					probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
0	น้ำหนักเริ่มต้น 0.0086±0.0001 กรัม/ตัว						
5	0.0232 ^a	0.0213 ^a	0.0212 ^a	0.0146 ^b	0.0104 ^c	0.0001	0.0021
10	0.0436 ^a	0.0381 ^b	0.0381 ^b	0.0313 ^c	0.0214 ^d	0.0001	0.0024
15	0.1063 ^a	0.0887 ^b	0.0722 ^c	0.0579 ^d	0.0546 ^d	0.0001	0.0047
21	0.1636 ^a	0.1585 ^a	0.1115 ^b	0.1004 ^c	0.0900 ^d	0.0001	0.0053

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG) และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, DWG) ของลูกปลานิลแดงระยะแปลงเพศ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยค่าทั้งสองมีค่าสูงสุดในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 1,784.99 เปอร์เซ็นต์ และ 0.0074 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ และมีค่าเท่ากับ 1,725.94 เปอร์เซ็นต์ และ 0.0071 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) ซึ่งพบว่ามีค่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุม สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มลดลงตามลำดับ โดยมีค่า 1,184.50, 1,056.55 และ 936.95 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน พบว่ามีค่าลดลง โดยมีค่า 0.0049, 0.0044 และ 0.0039 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ดังตารางที่ 16

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ของลูกปลานิลแดงระยะแปลงเพศ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าสูงสุดในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 13.358 เปอร์เซ็นต์/วัน และมีค่าไม่แตกต่างจากลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) คือ 13.155 เปอร์เซ็นต์/วัน สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) พบว่าลูกปลาที่มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลง และมีความแตกต่างจากชุดควบคุม โดยมีค่า 10.710, 9.960 และ 9.079 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ ดังตารางที่ 16

อัตราการรอด (survival rate) เมื่ออนุบาลลูกปลาไปจนถึงสิ้นสุดระยะเวลาในการแปลงเพศ 21 วัน พบว่า อัตราการรอดตายในการแปลงเพศลูกปลานิลแดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) และอาหารสูตร 2 (25% MBP) ทำให้ลูกปลามีอัตราการรอดสูงสุด 87.794 และ 86.759 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) พบว่าลูกปลามีอัตราการตายลดลง โดยมีค่า 73.844, 70.124 และ 65.044 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 16

1.1.2 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร

คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU) ของลูกปลานิลแดงระยะแปลงเพศมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) มีค่าสูงสุดคือ 56.793 เปอร์เซ็นต์ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่ว

เจียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่วเจียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเจียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเจียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่าคุณภาพประโยชน์สุทธิของโปรตีนในอาหารลดลง โดยมีค่า 49.851, 28.758, 25.526 และ 21.281 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 16

ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (protein efficiency ratio, PER) ซึ่งเป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่มีผลให้น้ำหนักปลาเพิ่มขึ้น พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) มีค่าสูงสุดคือ 1.428 และมีค่าไม่แตกต่างจากลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) โดยมีค่า 1.362 สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารลดลง โดยมีค่า 0.779, 0.652 และ 0.527 ตามลำดับ

อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ของลูกปลานิลแดงระยะแปลงเพศ พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) และลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) มีอัตราแลกเนื้อดีที่สุด (FCR ต่ำสุด 1.293 และ 1.350 ตามลำดับ) สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) พบว่า มีอัตราแลกเนื้อไม่ดี โดยมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเป็น 2.366, 2.828 และ 3.505 ตามลำดับ ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 การเจริญเติบโต อัตรารอด และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในลูกปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 21 วัน

พารามิเตอร์	ปริมาณโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
การเจริญเติบโต							
mean body weight (g/fish)	0.1636 ^a	0.1585 ^a	0.1115 ^b	0.1004 ^c	0.0900 ^d	0.0001	0.0053
daily weight gain; DWG (g/fish/day)	0.0074 ^a	0.0071 ^a	0.0049 ^b	0.0044 ^c	0.0039 ^d	0.0001	0.0002
percentage of weight gain; %WG	1,784.99 ^a	1,725.94 ^a	1,184.50 ^b	1,056.55 ^c	936.95 ^d	0.0001	61.1240
specific growth rate; SGR (%/day)	13.358 ^a	13.155 ^a	10.710 ^b	9.960 ^c	9.079 ^d	0.0001	0.2702
survival rate (%)	87.794 ^a	86.759 ^a	73.844 ^b	70.124 ^{bc}	65.044 ^c	0.0001	2.1425
การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน							
feed intake (g/fish)	0.198 ^d	0.201 ^d	0.235 ^c	0.248 ^b	0.267 ^a	0.0001	0.0057
apparent net protein utilization; aNPU (%)	56.793 ^a	49.851 ^b	28.758 ^c	25.526 ^c	21.281 ^d	0.0001	2.0805
protein efficiency ratio; PER	1.428 ^a	1.362 ^a	0.779 ^b	0.652 ^c	0.527 ^d	0.0001	0.0612
feed conversion ratio; FCR	1.293 ^d	1.813 ^d	2.366 ^c	2.828 ^b	3.505 ^a	0.0001	0.1664

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

นอกจากนี้ในการทดลองได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (whole body composition) พบว่าลูกปลานิลแดง ขนาด 0.0086 ± 0.0001 กรัม/ตัว (free swimming fry) ก่อนการทดลองมีค่าองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน 20.461 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 19.799 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 1.449 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของลูกปลานิลแดงทั้งตัวที่เลี้ยงด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 5 สูตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังตารางที่ 17 โดยโปรตีนที่สะสมในตัวปลา มีค่าสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 46.559 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) พบว่า มีโปรตีนที่สะสมในตัวปลา 42.101, 41.426, 42.924 และ 42.226 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง ในขณะที่ไขมันมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) โดยมีค่าเท่ากับ 9.294 เปอร์เซ็นต์ ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 ถึงสูตร 5 พบว่ามีไขมันไม่แตกต่างกัน (ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์) แต่พบว่ามีไขมันมีค่าต่ำกว่าก่อนการทดลอง ส่วนปริมาณเถ้าของลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยปริมาณเถ้าอยู่ในช่วง 3.3-3.5 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง

ตารางที่ 17 องค์ประกอบทางเคมีของลูกปลานิลแดงทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองด้วยอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ 21 วัน (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี	ก่อนการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง					probability	pooled SE
		สูตร 1 (0% MBP)	สูตร 2 (25% MBP)	สูตร 3 (50% MBP)	สูตร 4 (75% MBP)	สูตร 5 (100% MBP)		
โปรตีน (%)	20.461 ^c	46.559 ^a	42.101 ^{cd}	41.426 ^d	42.924 ^b	42.226 ^c	0.0001	0.254
ไขมัน (%)	19.799 ^a	9.294 ^b	8.321 ^c	8.089 ^c	8.797 ^{bc}	8.703 ^{bc}	0.0001	0.473
เถ้า (%)	1.449 ^b	3.524 ^a	3.707 ^a	3.321 ^a	3.566 ^a	3.580 ^a	0.0001	0.280

หมายเหตุ a,b,c,d,e อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ใช้ในการทดลอง โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นแม้จะเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีโปรตีนสูง แต่พบว่าเมื่อนำมาทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร พบว่ามีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาลดลงในทุกช่วงระยะของการเจริญเติบโต สอดคล้องกับ Shiau *et al.* (1990) ที่กล่าวว่า การใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นที่ไม่สมดุลบางส่วนหรือทั้งหมดในสูตรอาหารอาจทำให้การเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากคุณค่าทางอาหารและสารต้านโภชนาที่มีในวัตถุดิบจากพืช นอกจากนี้ การใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารจะไปลดความน่ากินและทำให้อาหารมีเยื่อใย (อรพินท์, 2550)

อัตราการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ พบว่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (mung bean protein concentrate; MBP) ในสูตรอาหาร โดยลูกปลานิลแดงระยะที่ฟักออกเป็นตัว (free swimming fry) เมื่อได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) มีอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหารสูงสุด และพบว่า อัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหารลดลงเมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสัดส่วนที่สูงขึ้นตามลำดับ ซึ่งขัดแย้งกับเสถียรพงษ์ (2550) ที่กล่าวว่า การใช้รำละเอียดผสมอาหารกึ่งเบอร์ 0 และปลาป่น ที่ระดับต่าง ๆ กัน ผสมฮอร์โมนเพศผู้ในการอนุบาลลูกปลานิลเพื่อการแปลงเพศ เป็นเวลา 21 วัน พบว่า ไม่มีผลต่ออัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโต ($P > 0.05$) แต่มีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ($P < 0.05$) แต่สอดคล้องกันในการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นอาหารปลานิลเพื่อการแปลงเพศ ที่ทำให้ลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ย 0.266 กรัม/ตัว อัตรารอดตาย 97.3 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการแปลงเพศเป็นเพศผู้ 97.7 เปอร์เซ็นต์ อัตราแลกเนื้อ 1.51 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน 1.49 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 60.78 ซึ่งมีค่าสูงเช่นกัน แต่ไม่แตกต่างระหว่างชุดการทดลอง ($P > 0.05$)

นอกจากนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Rizal and Khajareem (2007) ในการใช้โปรตีนถั่วเขียว 2 ชนิด คือชนิด 70 และ 75 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อ ในลูกไก่อายุ 1 วัน สรุปว่า โปรตีนถั่วเขียวชนิด 75 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไม่สามารถใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ แต่ในโปรตีนถั่วเขียวชนิด 70 เปอร์เซ็นต์โปรตีน สามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ ที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และ

พบว่า การทดแทนที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ จะให้ประสิทธิภาพการผลิตไก่เนื้อและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงสุด

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในปลาป่นและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น พบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกัน ยกเว้นปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีน (methionine) และกรดอะมิโนทรีโอนีน (threonine) ซึ่งพบว่าในโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมีปริมาณต่ำกว่าในปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) เมื่อนำมาทดแทนปลาป่นจะทำให้ปริมาณเมทไธโอนีนในอาหารลดลง ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร การขาดเมทไธโอนีน ทำให้เกิดกรดอะมิโนไม่สมดุลในอาหาร โดยกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลมีผลต่อความอยากอาหารและพฤติกรรมการกินอาหารเปลี่ยนไป ส่งผลต่อระบบเมตาบอลิซึมและปริมาณการกินอาหารที่ลดลง (Rogers and Leung, 1973; Boorman, 1979) โดยพบว่า ความเข้มข้นของกรดอะมิโนในเลือดและกล้ามเนื้อลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเกิดกรดอะมิโนไม่สมดุลอย่างรุนแรง (Haper and Rogers, 1965; Haper *et al.*, 1970) เช่นเดียวกับ Kalinowski *et al.* (2003) กล่าวว่า การเพิ่มระดับเมทไธโอนีนสูงขึ้นทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น เพราะเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มสมดุลของกรดอะมิโนในร่างกายทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้สูงสุด ช่วยให้ร่างกายสัตว์เจริญเติบโตตามปกติ

เมทไธโอนีน จัดเป็นกรดอะมิโนที่จำกัด อาหารที่มีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่สมดุลจะทำให้การสังเคราะห์โปรตีนมีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับกฎของ Liebig ที่กล่าวถึง Law of minimums ว่าการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น แม้เพียงชนิดเดียวก็ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนตัวที่เหลืออยู่ลดลง (ชัยภูมิ, 2548) อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าปลานิลจะมีประสิทธิภาพในการย่อยและการใช้ประโยชน์จากแหล่งคาร์บอนได้สูง เนื่องจากกระเพาะอาหารตอนต้นของปลานิลมีน้ำย่อยที่มีความเป็นกรดสูง พีเอชอาจต่ำกว่า 1.5 (Moriarty, 1973) รวมทั้งในกระเพาะอาหารมีการหลั่งเอนไซม์เพคตินเอสเตอเรส (pectinesterase) และโพลีกาแลคทูโรเนส (polygalacturonase) ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งมีเพคติน (pectin) เป็นองค์ประกอบ (วีรพงศ์, 2536; อรพินท์, 2550) ได้ก็ตาม แต่การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารแปลงเพศปลานิลนั้นยังมีข้อจำกัดคือการทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่เหมาะสมกับลูกปลาระยะวัยอ่อนในขั้นตอนการอนุบาลเพื่อการแปลงเพศ เนื่องจากลูกปลาวัยอ่อนมีระบบการย่อยอาหารและการทำงานของเอนไซม์ยังไม่สมบูรณ์ ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยผนังเซลล์พืชและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนจากพืชบางชนิดต่ำ

1.1.3 การกระจายขนาดของน้ำหนักรังไข่ปลา

การกระจายของน้ำหนักรังไข่ปลา (size distribution) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงหลังการอนุบาลด้วยอาหารเพื่อการแปลงเพศ 21 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของน้ำหนักรังไข่ ระหว่างน้ำหนักรังไข่ 0.21-0.30 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นขนาดลูกปลาที่ตลาดต้องการ (ปลาจิ๋ว; fry marketing size) มีค่าสูงสุดในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) และลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) โดยมีค่า 30.706 และ 25.732 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของลูกปลาขนาดที่ตลาดต้องการ อยู่ที่ 12.414, 7.414 และ 6.831 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการกระจายขนาดของน้ำหนักรังไข่ปลาที่มีขนาดเล็กน้อยกว่า 0.20 กรัม/ตัว (ปลาใบมะขาม; below fry marketing size) พบว่ามีค่าต่ำสุดในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) และสูตร 2 (25% MBP) คือ 69.294 และ 74.268 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของลูกปลาที่มีขนาดเล็กน้อยกว่า 0.20 กรัม/ตัว อยู่ที่ 87.586, 92.586 และ 93.169 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการที่ลูกปลาได้รับอาหารสูตร 1 (0% MBP) และอาหารสูตร 2 (25% MBP) ทำให้ลูกปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าการได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (MBP) ทดแทนปลาปนในระดับที่สูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร (ตารางที่ 16) จึงทำให้ได้ผลผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศในขนาดที่ตลาดต้องการในสัดส่วนที่สูงกว่า ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลาและคุณภาพการแปลงเพศในลูกปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

พารามิเตอร์	ปริมาณโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นสูตรอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลา							
fry marketing size; 0.21-0.30 g/fish (%)	30.706 ^a	25.732 ^a	12.414 ^b	7.414 ^c	6.831 ^c	0.0001	1.9354
below fry marketing size; ≤ 0.20 g/fish (%)	69.294 ^c	74.268 ^c	87.586 ^b	92.586 ^a	93.169 ^a	0.0001	1.9354
คุณภาพการแปลงเพศ							
percentage of male (%)	100.00 ^a	100.00 ^a	99.63 ^b	95.83 ^c	95.09 ^c	0.0001	1.612

หมายเหตุ a,b,c อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

1.1.4 คุณภาพการแปลงเพศ

ประสิทธิภาพของอาหารต่อคุณภาพการแปลงเพศ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) และอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) มีประสิทธิภาพในการแปลงเพศสูงสุด โดยทำให้ลูกปลามีเปอร์เซ็นต์เพศผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลูกปลานิลแดงได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์; 50% MBP สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์; 75% MBP และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) จะทำให้ลูกปลามีอัตราการแปลงเพศลดลง โดยมีเปอร์เซ็นต์เพศผู้ 99.63, 95.83 และ 95.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 18

อัตราการแปลงเพศเป็นเพศผู้มีความสำคัญในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศเชิงการค้า เพราะเป็นค่าที่แสดงถึงคุณภาพในการผลิตลูกปลานิลเพศผู้ล้วน (mono-sex tilapia fry) ในการทดลองพบว่า การใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ มากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการแปลงเพศลดลง ($P < 0.01$) ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ เสถียรพงษ์ (2550) ในการใช้รำละเอียดผสมปลาป่นและอาหารกุ้งเบอร์ 0 ที่ระดับต่างๆ กัน ผสมฮอร์โมนเพศผู้อนุบาลลูกปลานิลเพื่อการแปลงเพศ พบว่าอาหารไม่มีผลต่ออัตราการแปลงเพศ โดยลูกปลายังคงมีเปอร์เซ็นต์เพศผู้เฉลี่ย 96-98 เปอร์เซ็นต์ ความขัดแย้งที่เกิดขึ้นเนื่องจากวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของอาหารปลานิลระยะแปลงเพศมีความแตกต่างกัน นอกจากนี้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมีสารไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) สูงเช่นเดียวกับกากถั่วเหลือง ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน (Helferich *et al.*, 2008) โดยไฟโตเอสโตรเจนที่สำคัญคือสารจินิสทีน (genistein) พบว่าที่ความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดการยับยั้งฮอร์โมนเอนโดรเจน ในปลาเรนโบว์ เทร้า (Bennettav-Pelissero *et al.*, 2001) สอดคล้องกับรายงานของ Tzchori *et al.* (2004) ที่กล่าวว่า ปลา European eel (*Anguilla anguilla*) ที่ได้รับอาหารที่มีสาร genistein จะทำให้อัตราส่วนของปลาเพศเมียสูงกว่าปลาในชุดควบคุม 5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Yilmaz *et al.* (2009) รายงานว่า การแช่ลูกปลา Sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) วัยอ่อน ด้วยสารประกอบไฟโตเอสโตรเจนในรูปสารจินิสทีน ที่ความเข้มข้น 630 มิลลิกรัม ในน้ำ 30 ลิตร ทำให้ลูกปลามีอัตราส่วนเพศเมีย 69.77 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเปอร์เซ็นต์ปลาเพศเมียเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารจินิสทีน นอกจากนี้ De-Oca (2005) กล่าวว่า ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพศเมียล้วน ขนาด 10 มิลลิกรัม/ตัว (first feeding fry) ที่ได้รับ

อาหารที่เสริมสารจีนิสทิน ที่ระดับ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่ออัตราการอดอาหารการเจริญเติบโตจำเพาะ และการเปลี่ยนแปลงเซลล์สืบพันธุ์ในปลานิลเพศเมีย แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเซลล์สืบพันธุ์ของปลาเพศผู้ ดังนั้นเมื่อใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศในระดับที่สูงขึ้นจึงทำให้อัตราส่วนของปลานิลแดงเพศผู้ลดลง

การใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในระดับสูงเป็นแหล่งของโปรตีนจะไปลดความน่ากินของอาหารเนื่องจากอาหารผสมมีกลิ่นเหม็น (อรพินท์, 2550) รวมทั้งคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ได้แก่ เนื้อ (texture) และขนาดของวัตถุดิบ (particle size) ที่เป็นผงละเอียด ถูกลำจะเหนียวและจับตัวเป็นก้อน เมื่อนำอาหารไปหว่านบนผิวน้ำเพื่อให้ปลากิน โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่เป็นส่วนผสมกับปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ จะแยกตัวและจมลงก้นกระชัง ทำให้ลูกปลานิลวัยอ่อนที่มีพฤติกรรมการกินอาหารส่วนใหญ่อยู่บนผิวน้ำ ได้รับอาหารในปริมาณและความเข้มข้นของสารอาหารต่ำกว่าปกติ นอกจากนี้ เรณู และ นพรัตน์ (2549) กล่าวว่า ส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ คือ รำและปลาป่น หรือส่วนประกอบอื่นที่เหมาะสม อาหารต้องมีขนาดเล็ก 0.42-0.59 มิลลิเมตร และอาหารผสมสารฮอร์โมนเพื่อการแปลงเพศปลานิล ควรมีโปรตีนสูง 40 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะช่วยเพิ่มอัตราการอดตายและประสิทธิภาพในการแปลงเพศได้ (Shalaby *et al.*, 2006) อาหารปลานิลระยะแปลงเพศที่มีส่วนผสมระหว่างรำและปลาป่นในอัตรา 3 ต่อ 1 ผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone เข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีความเหมาะสมที่สุด และทำให้ลูกปลานิลมีอัตราการแปลงเพศ 100 เปอร์เซ็นต์ (เรณู, 2537) เช่นเดียวกับ เสถียรพงษ์ (2550) รายงานว่า การใช้ปลาป่น 70 เปอร์เซ็นต์ ผสมรำ 30 เปอร์เซ็นต์ ผสมฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone เข้มข้น 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีความเหมาะสมที่สุดในการผลิตลูกปลานิลแปลงเพศเชิงการค้า

ดังนั้น การผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศเชิงการค้าเมื่อใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ (สูตร 1: 0% MBP) มีประสิทธิภาพสูงสุดต่ออัตราการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน อัตราแลกเนื้อ และเปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวในขนาดที่ตลาดต้องการสูง รวมทั้งลูกปลามีอัตราการแปลงเพศ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศในระดับที่ไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร พบว่าไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราแลกเนื้อ การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลา และคุณภาพการแปลงเพศ

1.2 ผลต่ออัตราการรอดตาย การขับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง

การศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลระยะแปลงเพศต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ภายหลังจากการได้รับอาหาร 21 วัน ทั้งในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง และในสภาวะการลำเลียงขนส่งในถังระบบเปิด ที่ความหนาแน่น 240 และ 400 ตัว/ลิตร มีระบบการให้อากาศและควบคุมอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และหลังจากการลำเลียงขนส่ง ได้ทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคของลูกปลานิลแดงทั้งสองสภาวะ มีผลการทดลองดังนี้

1.2.1 การทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย

การทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; total $\text{NH}_3\text{-N}$) โดยคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 24 ชั่วโมง (medial lethal concentration; 24 hr- LC_{50}) ในลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นขนาดเดียวกันที่ใช้ในทดลองเพื่อศึกษาอัตราการรอดตายและการขับถ่ายแอมโมเนียระหว่างการลำเลียงขนส่ง ในการทดลองขั้นต้นพบว่า ระดับความเข้มข้นสูงสุดของแอมโมเนียที่ไม่ทำให้ลูกปลานิลแดงตายเลย และระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ลูกปลาตายทั้งหมด ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่พีเอช 7.78 เท่ากับ 20 และ 60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ในการทดลองขั้นละเอียดได้จัดความเข้มข้นใหม่ตามสัดส่วนลอการิทึม มี 9 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ 20.468, 38.144, 40.665, 42.253, 43.827, 46.359, 47.770, 50.580 และ 54.912 พีพีเอ็ม ที่พีเอช 7.78 ในรูปแอมโมเนียรวม จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิลแดงในเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0, 22.00, 48.67, 61.33, 74.00, 81.33, 87.33, 95.33 และ 99.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การตายของปลาทดลองที่เกิดขึ้นเนื่องจากความเป็นพิษของแอมโมเนีย ซึ่ง Lloyd and Orr (1969) กล่าวว่า แอมโมเนียมีผลต่อสรีรวิทยาของปลาที่สำคัญคือเหงือก โดยเหงือกจะเพิ่มจำนวนเซลล์และเชื่อมติดกันทำให้การแลกเปลี่ยนอากาศเป็นไปได้ยาก และพบว่า อิทธิพลของเซลล์ของเหงือกถูกทำลาย เซลล์มีการบวมขึ้นซึ่งมีผลทำให้ผนังเซลล์ยอมให้น้ำผ่านได้มากขึ้น มีการหยุดชะงักของกระบวนการเมตาบอลิซึมเนื่องจากการขาดออกซิเจน ทำให้สัตว์น้ำตายในที่สุด เช่นเดียวกับ Beni and Koksai (2003) ได้ทำการตรวจสอบทางพยาธิสภาพของเหงือกปลานิลที่ได้รับพิษจากแอมโมเนีย พบว่า เกิด hyperplasia ที่ gill lamella โดยเซลล์ของ gill lamella ขยายขนาดและเพิ่ม

จำนวนจนเชื่อมติดกัน ไม่สามารถแลกเปลี่ยนก๊าซได้ สำหรับในการทดลองกับลูกปลานิลแดงขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม พบว่าลูกปลามีอัตราการตาย ดังตารางที่ 19

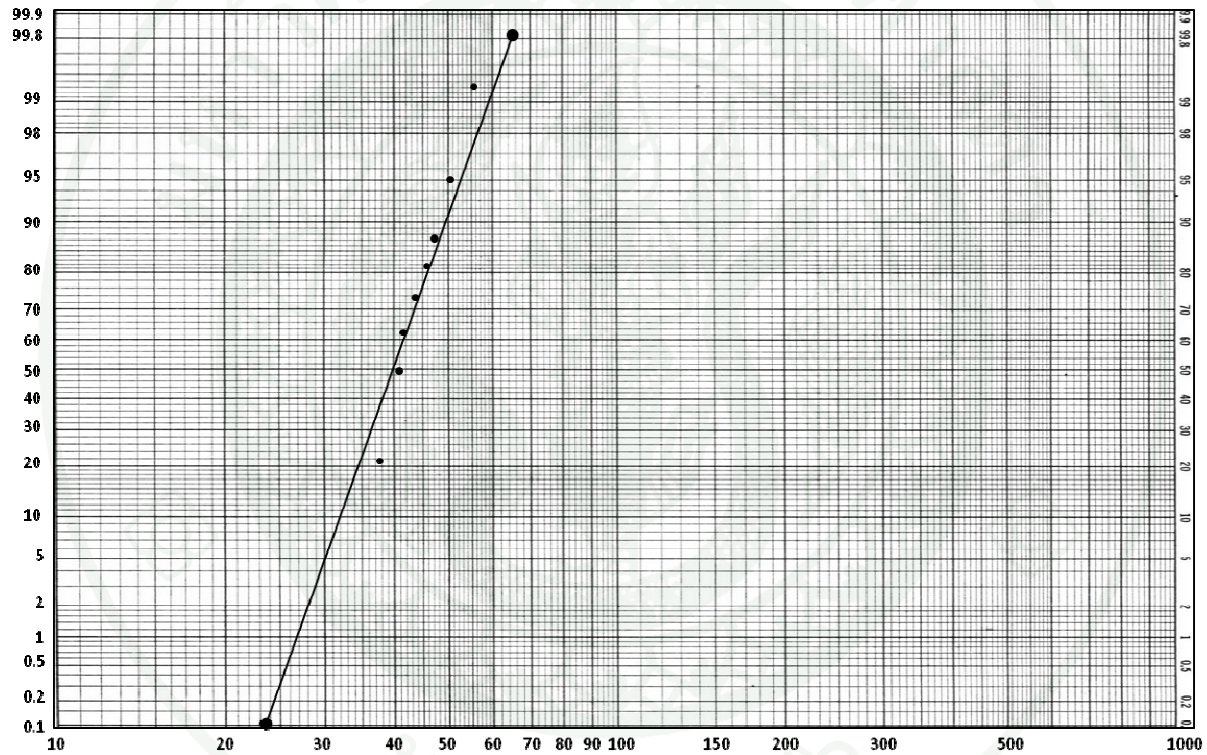
ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียในระดับต่างๆ ในเวลา 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียรวม (ppm)	จำนวนปลา (ตัว)	การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)				
		30 นาที	1	6	12	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20.468	50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
38.144	50	0.00	0.00	3.33	8.00	22.00
40.665	50	0.00	0.00	22.00	30.00	48.67
42.253	50	0.00	0.00	28.00	44.67	61.33
43.827	50	0.00	0.00	37.33	52.00	74.00
46.359	50	0.00	0.00	41.33	56.00	81.33
47.770	50	0.00	0.00	50.67	64.00	87.33
50.580	50	0.00	4.67	64.67	78.67	95.33
54.912	50	0.00	12.00	86.67	94.67	99.33

เมื่อนำอัตราการตายมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) โดยนำค่า x^2 ของเส้นที่ลากบน logarithmic probability paper (ภาพที่ 6) ที่ได้จากการคำนวณ มาเปรียบเทียบกับค่า x^2 ที่เปิดได้จากตาราง พบว่า ค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณ มีค่าน้อยกว่าค่า x^2 ที่เปิดจากตาราง แสดงว่า ข้อมูลที่ plot ได้มีการกระจายของจุดเบี่ยงเบนไปจากเส้นตรงที่ลากเพื่อใช้ในการประเมินค่า LC_{50} อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถใช้เส้นตรงดังกล่าวมาประเมินค่า LC_{50} ได้ และสามารถคำนวณค่าต่างๆ ได้ดังนี้

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (พีพีเอ็ม) ตามมาตราส่วนลอการิทึม

อัตราการตาย
สะสม
(เปอร์เซ็นต์)
ตามมาตราส่วนโปรบิท



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายสะสมและความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ใช้ในการประเมินค่า 24 hr-LC₅₀ ของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78

ค่าความเป็นพิษของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 เท่ากับ 40.6600 ($39.5256 - 41.8269$) พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.1759 ($1.1568 - 1.1953$) ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (safety concentration) เป็นการปรับค่า (application factor) โดยนำค่า 24 hr- LC_{50} คูณกับ 0.01 ตามที่ Sprague (1969) แนะนำ ดังนั้น ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว เท่ากับ $40.6600 \times 0.01 = 0.4066$ พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ที่พีเอช 7.78 ดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 ค่า 24 hr- LC_{50} ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนีย ในลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว

χ^2 ที่ได้จากการคำนวณ < ค่า χ^2 จากตาราง	ค่า 24 hr- LC_{50} (พีพีเอ็ม)	ค่าฟังก์ชัน ความลาดเอียง	ค่าความเข้มข้น ที่ปลอดภัย (พีพีเอ็ม)
(n = 7)	40.6600	1.1759	0.4066
$9.4093 < 14.0607$	(39.5256 - 41.8269)	(1.1568 - 1.1953)	

ผลการทดสอบความทนทานต่อพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 ในลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ในทดลองนี้พบว่า ค่า 24 hr- LC_{50} เท่ากับ 40.660 พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) หรือเท่ากับ 1.496 พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียที่เป็นพิษ (un-ionized ammonia; mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Beni and Koksall (2003) ที่ทดสอบความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ กับปลานิล *Oreochromis niloticus* ระยะวัยอ่อน น้ำหนัก 0.056 กรัม พบว่า ค่า 48 hr- LC_{50} มีค่าเท่ากับ 1.009 ± 0.02 พีพีเอ็ม สำหรับ Abdalla and McNabb (1998) รายงานความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ (mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$) ในปลานิล *O. niloticus* ขนาด 3 กรัม พบว่า ค่า 96 hr- LC_{50} ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1.36 ± 0.45 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ และเมื่อนำไปเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน เพื่อศึกษาผลกระทบต่อการเจริญเติบโต พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.06 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต แต่ที่ความเข้มข้น 0.73 และ 1.46 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ ทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.2.2 คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนีย และอัตราการตายหลังจากการขนส่ง

ก. สภาพการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดการขนส่งลูกปลานิลแดง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 21 โดยอุณหภูมิของน้ำ อุณหภูมิของอากาศ ค่าความกระด้าง และค่าความเค็มของน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยหลังจากการขนส่งพบว่าลดลงทุกชุดการทดลองและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ปริมาณออกซิเจนมีค่าต่ำสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) คือ 5.39 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังจากการลำเลียงขนส่งสูงขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร โดยลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่าน้ำในภาชนะลำเลียงมีปริมาณออกซิเจน 6.57, 7.57, 8.37 และ 8.68 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าพีเอช และค่าอัลคาไลต์ของน้ำ พบว่ามีค่าลดลงและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่น พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำสูงสุด 60.56 มิลลิกรัม/ลิตร และ 41.09 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) และอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับ ค่าความเค็มของน้ำและค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ ซึ่งพบว่า มีค่าสูงขึ้นระหว่างการลำเลียงขนส่ง

ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) และอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำหลังจากการขนส่ง พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) ปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำมีค่าสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) คือ 2.400 มิลลิกรัม/ลิตร และมีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร โดยมีค่า 2.389, 2.314, 2.267 และ 2.239 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร

4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ อัตราการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลแดงในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร พบว่าค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการขับถ่ายสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 1.202 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง และมีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย 1.197, 1.160, 1.137 และ 1.122 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ ดังตารางที่ 21

อัตราการรอดตายของลูกปลาในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงมีอัตราการรอดตายสูงขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ลูกปลาที่ได้รับอาหารปลาเปลี่ยนแปลงเพศสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) พบว่ามีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่งต่ำสุด คือ 92.37 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) และอาหารสูตร 3 (50% MBP) มีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่ง 94.03 และ 98.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) พบว่ามีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่งสูงสุด คือ 100 และ 99.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดการขนส่ง					probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
		(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	10.37	5.39 ^d	6.57 ^c	7.57 ^b	8.37 ^a	8.68 ^a	0.0001	0.193
พีเอช	8.70	7.71 ^c	7.85 ^{bc}	7.98 ^{ab}	7.94 ^{ab}	8.07 ^a	0.0024	0.080
อุณหภูมิน้ำ (°C)	24.33	23.63 ^a	23.53 ^a	23.40 ^a	23.50 ^a	23.83 ^a	0.4105	0.272
อุณหภูมิอากาศ (°C)	30.00	28.50	28.50	28.50	28.50	28.50	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	185.33	138.33 ^b	157.67 ^a	130.00 ^c	130.33 ^c	132.67 ^c	0.0001	2.251
ความกระด้าง (mg/l)	45.00	46.00 ^a	45.67 ^a	40.00 ^{ab}	40.67 ^{ab}	38.67 ^b	0.0733	3.406
ความเค็ม (ppt)	0.20	0.30 ^a	0.33 ^a	0.30 ^a	0.30 ^a	0.30 ^a	0.4516	0.026
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.44	0.57 ^b	0.66 ^a	0.55 ^b	0.56 ^b	0.56 ^b	0.0001	0.011
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	41.09 ^b	60.56 ^a	36.14 ^{bc}	37.95 ^{bc}	33.99 ^c	0.0001	2.963
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.000	2.400 ^a	2.389 ^a	2.314 ^{ab}	2.267 ^b	2.239 ^b	0.0073	0.048
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.000	1.202 ^a	1.197 ^a	1.160 ^{ab}	1.137 ^b	1.122 ^b	0.0072	0.024
อัตราการตายในการลำเลียงขนส่ง (%)	-	92.37 ^d	94.03 ^c	98.66 ^b	100.00 ^a	99.35 ^b	0.0001	0.759

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ข. สถานะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดการขนส่งลูกปลานิลแดง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 22 โดยอุณหภูมิของน้ำ อุณหภูมิของอากาศ ค่าความกระด้าง ความเค็ม และค่าพีเอชของน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังการขนส่ง พบว่าลดลงทุกชุดการทดลองและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าต่ำสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) คือ 4.58 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณออกซิเจนในน้ำหลังจากการขนส่งสูงขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่าน้ำในภาชนะลำเลียงมีปริมาณออกซิเจน 5.68, 6.73, 7.92 และ 8.89 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าอัลคาไลน์ของน้ำ มีค่าลดลงและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) นอกจากนี้พบว่า ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นในลูกปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูง โดยพบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีค่าสูงสุด 73.92 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) และมีค่าลดลงเป็น 66.00, 64.35, 55.77 และ 57.42 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับ ค่าความเค็มของน้ำและค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ ซึ่งพบว่ามีค่าสูงขึ้นระหว่างการลำเลียงขนส่ง

ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) และอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำหลังจากการขนส่ง พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) โดยปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 2.674 มิลลิกรัม/ลิตร และมีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร โดยมีค่า 2.623, 2.607, 2.596 และ 2.591 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ อัตราการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลแดงในสถานะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร พบว่ามีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P<0.01$)

โดยมีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 1.340 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง และมีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย 1.314, 1.306, 1.301 และ 1.298 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ ดังตารางที่ 22

อัตราการรอดตายของลูกปลาในสถานการณ์การลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว /ลิตร พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลูกปลานิลแดงมีอัตราการรอดตายในการขนส่งสูงขึ้นตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ลูกปลาที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลง เพศสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) พบว่ามีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่งต่ำสุด คือ 90.17 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) และอาหารสูตร 3 (50% MBP) พบว่า มีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่ง 92.78 และ 93.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) สูตร พบว่า มีอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่งสูงสุด 98.92 และ 98.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดการขนส่ง					probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
		(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	10.37	4.58 ^c	5.68 ^d	6.73 ^c	7.92 ^b	8.89 ^a	0.0001	0.426
พีเอช	8.70	7.74 ^b	7.77 ^{ab}	7.84 ^{ab}	7.87 ^{ab}	7.94 ^a	0.1464	0.094
อุณหภูมิน้ำ (°C)	24.33	24.67 ^a	23.87 ^b	23.97 ^{ab}	23.70 ^b	24.03 ^{ab}	0.0811	0.378
อุณหภูมิอากาศ (°C)	30.00	28.50	28.50	28.50	28.50	28.50	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	185.33	171.00 ^a	175.33 ^a	157.00 ^b	153.67 ^b	161.00 ^b	0.0003	4.041
ความกระด้าง (mg/l)	45.00	46.33 ^a	47.00 ^a	45.67 ^a	45.67 ^a	46.33 ^a	0.5877	1.125
ความเค็ม (ppt)	0.20	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	-	-
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.44	0.69 ^a	0.66 ^b	0.63 ^b	0.64 ^b	0.63 ^b	0.0073	0.016
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	73.92 ^a	66.00 ^b	64.35 ^b	55.77 ^c	57.42 ^c	0.0001	2.465
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.000	2.674 ^a	2.623 ^b	2.607 ^{bc}	2.596 ^{bc}	2.591 ^c	0.0002	0.014
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.000	1.340 ^a	1.314 ^b	1.306 ^{bc}	1.301 ^c	1.298 ^c	0.0002	0.007
อัตราการตายในการลำเลียงขนส่ง (%)	-	90.17 ^c	92.78 ^b	93.50 ^b	98.92 ^a	98.70 ^a	0.0001	0.676

หมายเหตุ a,b,c,d,e อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ก. สถานะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง ของลูกปลานิลแดงในสถานะที่ไม่มีขนส่ง มีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 23 อุณหภูมิของน้ำ อุณหภูมิของอากาศ ค่าอัลคาไลด์ ความกระด้าง ความเค็ม ความนำไฟฟ้า และค่าพีเอชของน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังจากการขนส่ง พบว่ามีค่าลดลง แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ในลูกปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูง พบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าสูงสุด 11.78 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าลดลงในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) โดยมีค่า 10.12, 9.35, 8.51 และ 8.32 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) และอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำหลังจากการขนส่ง พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.01$) โดยปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำหลังจากการขนส่งมีค่าสูงสุดในลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 0.63 มิลลิกรัม/ลิตร และมีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร โดยมีค่า 0.57, 0.53, 0.52 และ 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) สูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ ขณะเดียวกันอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในสถานะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการขนส่ง พบว่ามีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P<0.01$) โดยมีอัตราสูงสุดในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) คือ 0.316 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง และอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียมีค่า 0.286, 0.266, 0.261 และ 0.247 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ในลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) สูตร 3 (50% MBP) สูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) ตามลำดับ สำหรับอัตราการรอดตายเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง ในสถานะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการขนส่ง พบว่าลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลงเพศในทุกระดับการทดลอง มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว ในสภาวะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการลำเลียง
ขนส่ง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดระยะเวลา					probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
		(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	10.37	4.74 ^a	4.46 ^a	4.88 ^a	4.71 ^a	4.55 ^a	0.3212	0.248
พีเอช	8.70	7.77 ^a	7.76 ^a	7.76 ^a	7.71 ^a	7.76 ^a	0.9196	0.082
อุณหภูมิน้ำ (°C)	24.33	24.63 ^a	24.60 ^a	24.50 ^a	24.43 ^a	24.50 ^a	0.5214	0.153
อุณหภูมิอากาศ (°C)	30.00	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	185.33	85.00 ^a	83.00 ^a	85.00 ^a	84.33 ^a	85.33 ^a	0.5358	1.770
ความกระด้าง (mg/l)	45.00	44.67 ^a	45.33 ^a	44.67 ^a	44.67 ^a	45.67 ^a	0.4949	0.856
ความเค็ม (ppt)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	-	-
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.44	0.52 ^a	0.51 ^a	0.51 ^a	0.52 ^a	0.52 ^a	0.8783	0.021
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	11.78 ^a	10.12 ^{ab}	9.35 ^b	8.51 ^b	8.32 ^b	0.0062	0.927
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.000	0.630 ^a	0.571 ^b	0.531 ^c	0.521 ^d	0.498 ^e	0.0001	0.013
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.000	0.316 ^a	0.286 ^b	0.266 ^c	0.261 ^c	0.247 ^d	0.0001	0.006
อัตราการตาย (%)	-	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	-	-

หมายเหตุ a,b,c,d,e อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

จากการทดลองพบว่าระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำที่ใช้ในการลำเลียงขนส่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ทั้งในสภาวะการเลี้ยงปกติและสภาวะที่มีการลำเลียงขนส่ง (ตารางที่ 21, 22 และ 23) โดยพบว่า ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลในสภาวะที่มีการลำเลียงขนส่ง มีค่าสูงกว่า ลูกปลานิลในสภาวะการเลี้ยงปกติ และในสภาวะการลำเลียงขนส่งที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร พบว่าลูกปลานิลมีปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียสูงกว่าที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร และปริมาณแอมโมเนียที่สูงขึ้นในภาชนะลำเลียงมีผลทำให้อัตราการรอดตายของลูกปลานิลในการขนส่งลดลง ($P < 0.01$) โดยระดับของการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำลดลง ($P < 0.01$)

สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลแดง โดยลูกปลานิลในสภาวะการลำเลียงขนส่งนั้น มีการขับถ่ายแอมโมเนียสูงกว่าลูกปลานิลในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง 3-4 เท่า และพบว่าสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนีย และทำให้คุณภาพน้ำระหว่างการขนส่งลดลง ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น จะมีการขับถ่ายของเสียซึ่งอยู่ในรูปแอมโมเนียในโตรเจนสูงกว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น โดยชนิดของอาหารที่ลูกปลานิลได้รับเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียสู่แหล่งน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Walsh and Wright (1995) ว่า ปริมาณอินทรีย์ในโตรเจนที่สัตว์น้ำขับถ่ายแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ได้รับ และความไม่สมดุลทางโภชนาการ ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มผลภาวะจากการสะสมของเสียประเภทไนโตรเจน เช่น แอมโมเนีย ไนเตรต และของเสียประเภทฟอสฟอรัส ทั้งในดินและน้ำ เนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนที่ร่างกายสังเคราะห์แล้วจะอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์สะสมในเนื้อเยื่อ บางส่วนถูกขับออกสู่แหล่งน้ำ ได้แก่ โปรตีน ยูเรีย และกรดยูริก (เปี่ยมศักดิ์, 2538) สำหรับมูลของปลาประกอบด้วยอาหารที่เหลือจากการย่อยและสิ่งปลอมปนโดยเฉพาะไนโตรเจนในท่อทางเดินอาหารที่มาจากเอนไซม์ จุลินทรีย์และเซลล์เชื้อราขึ้นในสุดของท่อทางเดินอาหาร นอกจากนี้ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลายังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบอาหารเป็นสำคัญ (Savitz, 1971) อัตราการขับถ่ายแอมโมเนียจะสูงขึ้นเมื่อมีการให้โปรตีนแก่ปลามากขึ้น ซึ่งปริมาณแอมโมเนียที่สูงขึ้นนี้จะมีผลต่อการตายของสัตว์น้ำ (โชคชัย, 2548; เกรียงศักดิ์, 2549; Lin and Pan B.S., 2004)

จากการทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นลูกปลาขนาดเดียวกันที่ใช้ในทดลองเพื่อศึกษาอัตราการตายและการขับถ่ายแอมโมเนียหลังจากการขนส่ง (ตารางที่ 20) พบว่า ค่า 24 hr- LC_{50} ในรูปแอมโมเนียรวม เท่ากับ 40.660 mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$ ที่พีเอช 7.78 หรือเท่ากับ 1.496 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ ในรูปแอมโมเนียที่เป็นพิษ (un-ionized ammonia; mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$) และพบว่า ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ปลอดภัย (safety concentration) สำหรับลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว เท่ากับ 0.4066 mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$ ที่พีเอช 7.78 ในรูปแอมโมเนียรวม ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้พบว่า ปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำหลังจากการขนส่ง สูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (สูงกว่า 0.4066 mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) จึงไม่ปลอดภัยกับลูกปลานิลแดง เนื่องจากพารามิเตอร์ที่สำคัญซึ่งมีผลต่ออัตราการตายระหว่างการลำเลียงขนส่งคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และปริมาณแอมโมเนีย ลูกปลาที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลงเพศที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 1: 0% MBP) พบว่า มีปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียสูงสุด และปริมาณแอมโมเนียที่ลูกปลาขับออกมาระหว่างการขนส่งมีค่าลดลงเมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในระดับที่สูงขึ้น

การขับถ่ายของเสียในภาชนะลำเลียงทำให้ลูกปลาเกิดความเครียดจากพิษของแอมโมเนียรวมทั้งการอยู่อย่างหนาแน่นในภาชนะที่จำกัด การเคลื่อนที่ของมวลน้ำที่รุนแรงระหว่างการลำเลียงขนส่ง นอกจากนี้ เมตาบอลิซึมที่สูงขึ้นทำให้ลูกปลาหายใจเร็ว และมีความต้องการออกซิเจนสูงกว่าปกติ ทำให้อุณหภูมิของน้ำในภาชนะลำเลียงสูงขึ้น และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 1: 0% MBP) ปริมาณแอมโมเนียที่สูงในภาชนะลำเลียงเป็นสาเหตุให้ลูกปลาตายระหว่างการขนส่ง

นอกจากนี้ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จากการหายใจ มีผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำระหว่างการขนส่งลดต่ำลง ซึ่งค่าพีเอชที่ต่ำลงจะช่วยลดความเป็นพิษของแอมโมเนียลงได้ อย่างไรก็ตาม ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในภาชนะลำเลียง พบว่าอยู่ในช่วง 33-60 มิลลิกรัม/ลิตร และ 55-73 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ความหนาแน่นในการลำเลียง 240 ตัว/ลิตร และ 400 ตัว/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่มีผลต่อการตายของลูกปลา ทำให้อัตราการตายในการลำเลียงขนส่งลดลง ($P < 0.01$) สอดคล้องกับการศึกษาของ วิรัช (2544); โชคชัย (2548); เกรียงศักดิ์ (2549) ที่กล่าวว่า ปลาสามารถทนคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 60 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ แต่ถ้าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดต่ำลงเหลือ 3-5 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพียง 20 มิลลิกรัม/ลิตร ก็เป็นอันตรายกับสัตว์น้ำได้ เนื่องจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายอยู่ในน้ำ

ระหว่างการลำเลียงขนส่งสูง จะมีผลทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดไม่สามารถขับออก จากตัวปลาได้ จะกลายเป็นพิษโดยจะไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ของปลา และกล่าวว่า ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดและในน้ำระหว่างการขนส่งสูง ทำให้ ปลาตายได้แม้จะมีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่ในน้ำในภาชนะลำเลียงสูงก็ตาม

ค่าความนำไฟฟ้า และความเค็มของน้ำ ที่เพิ่มขึ้นขณะลำเลียงขนส่ง เนื่องจากลูกปลานิล แดงสูญเสียสมดุลออสโมติก สอดคล้องกับรายงานของ Miles *et al.* (1974); Nikinmaa *et al.* (1983) ที่ กล่าวว่า ความเครียดของปลาขณะลำเลียงขนส่งจะทำให้ค่าฮีมาโตคริตในเลือดเพิ่มสูงขึ้นจากการ บีบตัวของม้ามและการเสียสมดุลออสโมติก ปลาน้ำจืดจะเสียคลอไรด์ออสโม และ โซเดียมออสโม ให้แก่น้ำในภาชนะลำเลียง

ดังนั้นการทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ทั้งในสภาวะการเลี้ยงปกติและสภาวะการลำเลียงขนส่ง อาหารคือปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียของลูกปลานิลแดง โดยอาหารที่มี สัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากปลาปนในระดับที่สูงขึ้น มีผลทำให้ปริมาณการขับถ่ายของเสียในรูป แอมโมเนียในน้ำเพิ่มขึ้นตามลำดับ และปริมาณแอมโมเนียที่เพิ่มสูงขึ้นในน้ำภายในภาชนะลำเลียงมี ผลให้อัตรารอดตายในการขนส่งลดลง ($P < 0.01$)

1.2.3 ความต้านทานต่อเชื้อโรคหลังจากการลำเลียงขนส่ง

ความต้านทานต่อเชื้อโรคหลังจากการขนส่งลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ที่ได้รับอาหารปลาในระยะแปลงเพศต่างชนิดกัน เมื่อพิจารณาถึงอัตราการรอดตายจากการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร โดยการแช่เป็นเวลา 10 วัน พบว่าลูกปลาทั้งสองสภาวะมีอัตราการรอดตายต่างกัน (ตารางที่ 24) โดยลูกปลาในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 240 ตัว/ลิตร พบว่าอัตราการรอดตายมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 100 เปอร์เซ็นต์ (0% MBP; ชุดควบคุม) มีอัตราการรอดตายสูงสุด คือ 84.67 เปอร์เซ็นต์ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 75 เปอร์เซ็นต์ (25% MBP) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 50 เปอร์เซ็นต์ (50% MBP) สูตร 4 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 25 เปอร์เซ็นต์ (75% MBP) และสูตร 5 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาปน 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) มีอัตราการรอดตาย 70.67, 68.00, 64.00 และ 60.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 400 ตัว/ลิตร พบว่าอัตราการรอดตายจากการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคมีค่าลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) ลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) มีอัตราการรอดตายสูงสุด คือ 70.67 เปอร์เซ็นต์ ลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) มีอัตราการรอดตาย 65.33 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) มีอัตราการรอดตาย 62.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) พบว่ามีอัตราการรอดตายจากการทดสอบความต้านทานเชื้อโรคต่ำสุด 53.00 และ 45.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในสภาวะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง พบว่าอัตราการรอดตายจากการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคของลูกปลานิลแดงลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) โดยลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) มีอัตราการรอดตายสูงสุด 96.67 เปอร์เซ็นต์ และลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (25% MBP) มีอัตราการรอดตาย 91.67 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (50% MBP) มีอัตราการรอดตาย 76.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับลูกปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (75% MBP) และสูตร 5 (100% MBP) มีอัตราการรอดตายจากการทดสอบความต้านทานเชื้อโรคต่ำสุด 63.67 และ 62.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 24 อัตรารอดตายจากการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคของลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ภายหลังการขนส่ง

สภาวะ	อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)					probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5		
	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)		
การลำเลียงขนส่ง 240 ตัว/ลิตร	82.67 ^a	70.67 ^b	68.00 ^b	64.00 ^c	60.00 ^d	0.0001	1.220
การลำเลียงขนส่ง 400 ตัว/ลิตร	70.67 ^a	65.33 ^{ab}	62.00 ^b	53.00 ^c	45.33 ^c	0.0002	2.520
การเลี้ยงปกติ (ไม่มีการขนส่ง)	96.67 ^a	91.67 ^b	76.00 ^c	63.67 ^d	62.67 ^d	0.0001	2.414

หมายเหตุ a,b,c อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 25 % ต่อ ปลาป่น 75 % (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 50 % ต่อ ปลาป่น 50 % (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 75 % ต่อ ปลาป่น 25 % (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียว 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ลูกปลานิลแดงหลังจากการลำเลียงขนส่งในกลุ่มที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลงเพศที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูง ทำให้ลูกปลามีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ได้ดีกว่าลูกปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารปลานิลระยะแปลงเพศที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่ำ การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในระดับที่สูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่เหมาะสมในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ เนื่องจากลูกปลานิลวัยอ่อนมีระบบการย่อยอาหารและการทำงานของเอนไซม์ยังไม่สมบูรณ์ โดยเฉพาะปริมาณของเอนไซม์เพคตินเอสเตอเรส (pectinesterase) และโพลิกลาแลคตูโรเนส (polygalacturonase) ในกระเพาะอาหารที่ย่อยผนังเซลล์พืชที่มีเพคติน (pectin) เป็นองค์ประกอบนั้น ยังมีปริมาณต่ำ (วีรพงศ์, 2536; อรพินท์, 2550) ทำให้การย่อยอาหารและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืช (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น) ยังขาดประสิทธิภาพ แสดงให้เห็นว่า คุณภาพของโปรตีนและปริมาณของกรดอะมิโนในปลาป่นมีคุณภาพดีกว่าโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น นอกจากนี้ Bansal and Ochoa (2003) กล่าวว่า กรดอะมิโนอาร์จินีนที่มีปริมาณสูงในปลาป่นเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญ โดยเป็นสารตั้งต้นของกรดอะมิโนซิทรูลีนในระบบภูมิคุ้มกันโรค ซึ่งกรดอะมิโนซิทรูลีนจะชักนำให้ฟาโกไลโซโซม (phagolysosome) ที่อยู่ในเซลล์แมคโครฟาจให้สังเคราะห์ ไนตริก ออกไซด์ ส่งออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอมได้ดี ดังนั้นลูกปลานิลแดงในกลุ่มที่ได้รับอาหารแปลงเพศที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นสูง จึงมีผลทำให้ลูกปลาฟื้นตัวได้เร็วจากความบอบช้ำจากการขนส่ง และหลังจากการขนส่งมีความต้านทานเชื้อโรคได้ดีกว่าลูกปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นต่ำ

1.3 ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลเพื่อการแปลงเพศ

การผลิตอาหารปลานิลเพื่อการแปลงเพศในการทดลองครั้งนี้พบว่า อาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) มีต้นทุนการผลิตสูงสุด 42 บาท/กิโลกรัม และต้นทุนค่าอาหารลดลงตามสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยอาหารสูตร 2 (25% MBP) อาหารสูตร 3 (50% MBP) อาหารสูตร 4 (75% MBP) และอาหารสูตร 5 (100% MBP) มีต้นทุนการผลิตเบื้องต้นที่ 38.52, 35.09, 31.61 และ 28.19 บาท/กิโลกรัม และพบว่า ลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; 0% MBP) และสูตร 2 (25% MBP) ให้ผลผลิตต่อกระชังสูง โดยมีผลกำไรเบื้องต้น 6,126.30 บาท และ 5,781.18 บาท/กระชัง ตามลำดับ และพบว่าผลผลิตและกำไรต่อกระชังลดลงตามสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหาร ดังตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะแปลงเพศและรายได้ต่อกระชังในการผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศ

วัตถุดิบ	ราคา		สูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ				
	วัตถุดิบ	สูตร 1 ¹	สูตร 2 ¹	สูตร 3 ¹	สูตร 4 ¹	สูตร 5 ¹	
	(บาท/กก.) ²	(0% MBP)	(25% MBP)	(50% MBP)	(75% MBP)	(100% MBP)	
ปลาป่น 55 % โปรตีน (กก.)	36.00	100.00	75.00	50.00	25.00	0.00	
โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น (กก.)	22.00	0.00	20.20	40.45	60.65	80.90	
เป็มันสำปะหลัง (กก.)	9.00	0.00	2.00	3.75	5.65	7.50	
น้ำมันถั่วเหลือง (กก.)	32.00	0.00	2.80	5.80	8.70	11.60	
ฮอร์โมน 17- α -MT ³ (กก.)	100,000	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	
น้ำหนักรวม (กก.)	-	100.006	100.006	100.006	100.006	100.006	
ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กก.)	-	42.00	38.52	35.09	31.64	28.19	
ผลผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศ/กระชัง 5 ตารางเมตร อัตราปล่อย 28,000 ตัว ปริมาณอาหารที่ให้ 4.45 กิโลกรัม							
อัตรารอด (%)		87.79	86.76	73.84	70.12	65.04	
ปลาจิ๋ว ⁴ (%)		30.71	25.73	12.41	7.41	6.83	
มูลค่าปลาจิ๋ว (บาท)		4,151.89	3,437.80	1,411.19	800.17	684.10	
ปลาโม่ขาม ⁵ (%)		69.29	74.27	87.59	92.59	93.17	
มูลค่าปลาโม่ขาม (บาท)		5,961.31	6,314.79	6,339.20	6,362.56	5,938.58	
รายได้รวม (บาท/กระชัง)		10,113.20	9,752.59	7,750.39	7,162.73	6,622.68	
ต้นทุนการผลิต							
ค่าอาหาร 4.45 กิโลกรัม/กระชัง (บาท)		186.90	171.41	156.15	140.80	125.45	
ค่าลูกพันธุ์ปลา (บาท/กระชัง)		2,800	2,800	2,800	2,800	2,800	
ค่าจัดการด้านการเลี้ยง (บาท/กระชัง)		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
กำไรเบื้องต้น (บาท/กระชัง)		6,126.30	5,781.18	3,794.24	3,221.93	2,697.23	

หมายเหตุ ¹สูตร 1: ชุดควบคุม โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น 0% ต่อ ปลาป่น 100% (0% MBP); สูตร 2: โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น 25% ต่อ ปลาป่น 75% (25% MBP); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น 50% ต่อ ปลาป่น 50% (50% MBP); สูตร 4: โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น 75% ต่อ ปลาป่น 25% (75% MBP) และสูตร 5: โปรตีนถั่วเขียวแช่มซ้น 100% ต่อ ปลาป่น 0% (100% MBP) ²อ้างอิงราคาวัตถุดิบ/ราคาลูกปลานิลแดง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2552

³ฮอร์โมน 17- α -methyltestosterone เสริมในอาหาร 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

⁴ปลาจิ๋ว คือ ลูกปลานิลแดงขนาดตลาด (0.21-0.30 กรัม/ตัว; ราคา 0.55 บาท/ตัว)

⁵ปลาโม่ขาม คือ ลูกปลาที่เล็กกว่าขนาดตลาด ($\leq$ 0.20 กรัม/ตัว; ราคา 0.35 บาท/ตัว)

ดังนั้นปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำหลังจากการขนส่ง มีค่าลดลงเมื่อใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ที่ใช้ทดลองลำเลียงขนส่ง มีค่า 24 hr- LC_{50} ของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม เท่ากับ $40.660 \text{ mg/l total NH}_3\text{-N}$ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย เท่ากับ $0.406 \text{ mg/l total NH}_3\text{-N}$ ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 ปริมาณแอมโมเนียในภาชนะลำเลียงหลังจากการขนส่งอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพลูกปลานิลแดง เพราะมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย ซึ่งมีผลต่ออัตราการรอดตายในการขนส่ง สำหรับความต้านทานเชื้อโรคหลังจากการลำเลียงขนส่ง พบว่ามีค่าลดลงเมื่อใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ($P < 0.01$) และเมื่อพิจารณาถึงคุณค่าทางโภชนาการต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดในการอนุบาล คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหาร และสารอาหารต่ออัตราการรอดตายและสุขภาพที่ดีของลูกปลานิลแดงในการลำเลียงขนส่ง ตลอดจนต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ สรุปว่า สามารถทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ได้ไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาหารสูตร 2 ($25\% \text{ MBP}$) มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารปลานิลเพื่อการผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศเชิงการค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 1 ; $0\% \text{ MBP}$)

2. การทดลองที่ 2: ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาล ต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังจากการขนส่ง

2.1 การเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร

2.1.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอด

การใช้อาหารปลานิลที่มีสัดส่วนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารแตกต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ในการเลี้ยงปลานิลแดงขนาดเริ่มต้น 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ด้วยอาหารปลานิลระยะอนุบาลชนิดเม็ดลอยน้ำ ในกระชังแขวนลอยในบ่อดิน ผลต่อการเจริญเติบโต พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 7 ของการอนุบาล น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่ออนุบาลลูกปลาจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ย แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

น้ำหนักเฉลี่ย (mean body weight) ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากสัตว์เพียงแหล่งเดียว ได้แก่อาหารสูตร 4 โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% PP) ทำให้ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 17.478 กรัม/ตัว และสูงกว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชเพียงแหล่งเดียว ($P < 0.05$) คืออาหารสูตร 5 กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% SBM) และอาหารสูตร 6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มขึ้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) ทำให้ปลานิลแดงมีน้ำหนักเฉลี่ย 14.807 และ 15.008 กรัม/ตัว ตามลำดับ สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชและโปรตีนจากสัตว์ในอัตราส่วน กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และสูตรที่เลือกใช้ โปรตีนถั่วเขียวเข้มขึ้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) พบว่าน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้ปลาป่นเพียงแหล่งเดียว (สูตร 4: 0% PP) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 15.989 และ 17.041 กรัม/ตัว ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าต่ำสุด 14.252 กรัม/ตัว ดังตารางที่ 26

ตารางที่ 26 น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงในแต่ละสัปดาห์เมื่อได้รับอาหารปลานิลระยะอนุบาลในสูตรต่างๆ ตามชุดการทดลอง

สัปดาห์ที่	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)						probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
	(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
0	น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.231±0.057 กรัม/ตัว							
1	0.925 ^a	0.889 ^a	0.913 ^a	0.912 ^a	0.863 ^a	0.885 ^a	0.7886	0.057
2	1.751 ^a	1.786 ^a	1.812 ^a	1.853 ^a	1.775 ^a	1.910 ^a	0.6282	0.119
3	3.444 ^b	3.747 ^{ab}	4.202 ^a	3.655 ^{ab}	3.396 ^b	3.530 ^b	0.0624	0.301
4	5.382 ^{ab}	6.012 ^a	5.943 ^a	5.966 ^a	5.165 ^b	5.609 ^{ab}	0.1134	0.405
5	7.786 ^a	8.154 ^a	8.216 ^a	8.379 ^a	7.795 ^a	7.783 ^a	0.5649	0.507
6	9.903 ^b	12.019 ^a	11.662 ^{ab}	11.382 ^{ab}	10.702 ^{ab}	10.583 ^{ab}	0.1447	0.951
7	11.445 ^b	12.486 ^{ab}	13.997 ^a	13.859 ^a	11.854 ^{ab}	13.078 ^{ab}	0.1136	1.201
8	14.252 ^b	15.989 ^{ab}	17.041 ^a	17.478 ^a	14.807 ^b	15.008 ^b	0.0107	1.006

หมายเหตุ a,b อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG) ของปลานิลแดงระยะอนุบาล พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, DWG) พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากสัตว์เพียงแหล่งเดียว (สูตร 4: 0% PP) มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน สูงสุด คือ 0.308 กรัม/ตัว/วัน โดยมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชเพียงแหล่งเดียว ($P < 0.05$) คืออาหารสูตร 5 (100% SBM) และอาหารสูตร 6 (100% MBP) ซึ่งทำให้ปลานิลแดงมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน 0.260 และ 0.264 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชและโปรตีนจากสัตว์ในอัตราส่วนกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และโปรตีนถั่วเขียวแช่ซน 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) พบว่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่นเพียงแหล่งเดียว (สูตร 4: 0% PP) โดยมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน 0.281 และ 0.300 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน มีค่าต่ำสุด 0.250 กรัม/ตัว/วัน

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) คือ 7.219 เปอร์เซ็นต์/วัน และมีค่าเท่ากับ 7.047, 6.985, 6.854, 6.720 และ 6.696 เปอร์เซ็นต์/วัน ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (70% MBP) อาหารสูตร 6 (100% MBP) อาหารสูตร 5 (100% SBM) อาหารสูตร 2 (70% SBM) และอาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) ตามลำดับ

อัตราการรอด (survival rate) ในการอนุบาลปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) มีอัตราการรอดในการอนุบาลสูงสุด คือ 77.167 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นปลาที่ได้รับอาหารสูตร 6 (100% MBP) อาหารสูตร 5 (100% SBM) อาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) อาหารสูตร 3 (70% MBP) และอาหารสูตร 2 (70% SBM) โดยมีอัตราการรอด 76.917, 73.458, 70.917, 70.875 และ 62.583 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 27

2.1.2 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร

คุณสมบัติของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% PP) มีคุณสมบัติของโปรตีนสูงสุด 166.790 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า; Ref diet) ($P < 0.05$) สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% SBM) สูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% MBP) สูตร 5 กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% SBM) และสูตร 6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) พบว่า ค่าคุณสมบัติของโปรตีน ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม โดยมีค่าเท่ากับ 136.110, 153.953, 146.647 และ 151.667 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (protein efficiency ratio, PER) ซึ่งเป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่มีผลให้น้ำหนักของปลานิลแดงเพิ่มขึ้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) มีประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารสูงสุด โดยมีค่า 3.601

อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ของปลานิลแดงทุกชุดการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) มีอัตราแลกเนื้อดีที่สุด โดยมีค่าต่ำสุดคือ 0.839 ดังตารางที่ 27

ตารางที่ 27 การเจริญเติบโต อัตรารอดและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหารของปลานิลแดง เมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วยอาหารอนุบาล 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์	สูตรอาหารตามชุดการทดลอง						probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
	(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
การเจริญเติบโต								
mean body weight (g/fish)	14.252 ^b	15.989 ^{ab}	17.041 ^a	17.478 ^a	14.807 ^b	15.008 ^b	0.0107	1.006
daily weight gain; DWG (g/fish/day)	0.250 ^b	0.281 ^{ab}	0.300 ^a	0.308 ^a	0.260 ^b	0.264 ^b	0.0113	0.018
percent weight gain; %WG	6,077 ^b	6,830 ^{ab}	7,286 ^a	7,476 ^a	6,318 ^b	6,405 ^b	0.0107	436.11
specific growth rate; SGR (%/day)	6.696 ^a	6.720 ^a	7.047 ^a	7.219 ^a	6.854 ^a	6.985 ^a	0.3620	0.318
survivalrate (%)	70.917 ^a	62.583 ^a	70.875 ^a	77.167 ^a	73.458 ^a	76.917 ^a	0.8298	9.652
การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน								
feed intake (g/fish)	14.277 ^a	16.052 ^a	15.359 ^a	14.486 ^a	14.256 ^a	13.302 ^a	0.6040	1.924
apparent net protein utilization; aNPU (%)	129.910 ^b	136.110 ^b	153.953 ^{ab}	166.790 ^a	146.647 ^{ab}	151.667 ^{ab}	0.0383	12.399
protein efficiency ratio, PER	3.069 ^a	3.022 ^a	3.432 ^a	3.601 ^a	3.177 ^a	3.328 ^a	0.3476	0.347
feed conversion ratio, FCR	1.028 ^a	1.028 ^a	0.922 ^a	0.839 ^a	0.982 ^a	0.904 ^a	0.2644	0.107

หมายเหตุ a,b อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (whole body composition) พบว่าปลานิลแดงก่อนการทดลองมีค่าองค์ประกอบทางเคมี คือ โปรตีน 53.944 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5.077 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 2.497 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัวที่เลี้ยงด้วยอาหารปลานิลระยะอนุบาล 6 สูตร มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โปรตีนที่สะสมในตัวปลา มีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) คือ 59.050 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าลดลงในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 (100% SBM) สูตร 6 (100% MBP) สูตร 3 (70% MBP) สูตร 2 (70% SBM) และสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) โดยมีค่า 57.927, 56.901, 56.318, 55.900 และ 54.793 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง ในขณะที่ไขมันมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; Ref diet) โดยมีค่าเท่ากับ 24.792 เปอร์เซ็นต์ และไขมันมีค่าไม่แตกต่างกันซึ่งอยู่ในช่วง 14-16 เปอร์เซ็นต์ ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 ถึงสูตร 6 และมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง ส่วนปริมาณเถ้ามีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 (ชุดควบคุม; Ref diet) เช่นกัน โดยมีค่า 17.642 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 ถึงสูตร 6 พบว่ามีปริมาณเถ้าต่ำกว่าอยู่ในช่วง 13-15 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง ดังตารางที่ 28

ตารางที่ 28 องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลแดงทั้งตัวเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงด้วยอาหารอนุบาล 8 สัปดาห์ (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี	ก่อนการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง						probability	pooled SE
		สูตร 1 (Ref diet)	สูตร 2 (70% SBM)	สูตร 3 (70% MBP)	สูตร 4 (0% PP)	สูตร 5 (100% SBM)	สูตร 6 (100% MBP)		
โปรตีน (%)	53.944 ^c	54.793 ^{de}	55.900 ^{cd}	56.318 ^{cd}	59.050 ^a	57.927 ^{ab}	56.901 ^{bc}	0.0001	0.433
ไขมัน (%)	5.077 ^c	24.792 ^a	16.595 ^b	15.501 ^b	16.292 ^b	15.209 ^b	14.421 ^b	0.0001	1.266
เถ้า (%)	2.497 ^c	17.642 ^a	15.560 ^b	14.295 ^c	15.395 ^b	14.076 ^c	13.153 ^d	0.0001	0.256

หมายเหตุ a,b,c,d,e อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชจำพวกกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลชนิดเม็ดลอยน้ำเมื่อใช้อุนุบาลปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลานิลแดงบางพารามิเตอร์เท่านั้นคือ น้ำหนักเฉลี่ย (mean body weight) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain, %WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่แหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีผลต่ออัตราการอดในการอนุบาล คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (protein efficiency ratio, PER) และอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ($P > 0.05$)

การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลเมื่อพิจารณาจากการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร สามารถใช้ทดแทนปลาป่นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Huang (2004) ในการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง dehulled soybean meal ในอาหารทดลอง 4 สูตร ที่มีสัดส่วนของปลาป่น 0, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (หรือ 57, 50, 43 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ของกากถั่วเหลือง) ในปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) ขนาด 155 กรัมเฉลี่ยในบ่อคอนกรีต ระบบน้ำหมุนเวียน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio) และองค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัว (muscle composition) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Nyirend *et al.* (2000) ในปลานิล *O. karongae* ขนาด 4-5 กรัม ในประเทศมาลาวี พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากสัตว์ (ปลาป่น และเนื้อกระดูกป่น) ที่มีสัดส่วนโปรตีนจากสัตว์ต่อกากถั่วเหลือง 10:0, 5:5 และ 0:10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร 3 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และสามารถใช้อากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารปลานิล

สอดคล้องกับการศึกษาของ Goda *et al.* (2007) ในการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืช 3 ชนิด คือ กากถั่วเหลืองเอ็กทราดูเดอร์ (extruder soybean meal, SBM) ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (full-fat soybean, FFSB) และโปรตีนข้าวโพด (corn gluten meal, CGM) ในอาหารปลานิล โปรตีน 28 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 19 เมกกะจูล/กิโลกรัม โดยชุดควบคุมเป็นอาหารที่มีแหล่งโปรตีนหลักจากปลาป่น และอาหารทดลองที่ใช้โปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่น มีการเติม แอล-ไลซีน และ ดีแอล-เมทไธโอนีน ให้ครบตามความต้องการของปลานิล นำมาเลี้ยงปลานิล 2 ชนิด คือ *Oreochromis*

niloticus และ *Sarotherodon galilaeus* เป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ($P < 0.05$) น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (final mean body weight) ปริมาณอาหารที่ให้ (feed intake) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) มีค่าต่ำสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่มี CGM เป็นแหล่งโปรตีน ปลาทั้งสองชนิดสามารถใช้ประโยชน์โปรตีนจาก SBM ในอาหารต่อการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio) พบว่าการใช้ FFSB เป็นแหล่งโปรตีนมีประสิทธิภาพดีกว่าพืชโปรตีนชนิดอื่น ส่วนพามีเตอร์ของคุณประโยชน์สุทธิในอาหาร ได้แก่ protein productive value (PPV) fat retention (FR) และ energy retention (ER) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในปลาทั้งสองชนิด โดยปลา *O. niloticus* สามารถใช้ประโยชน์จาก SBM และ FFSB ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต สำหรับปลา *S. galilaeus* พบว่าการใช้ SBM ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารจะยับยั้งการเจริญเติบโตและลดคุณประโยชน์สุทธิของอาหาร

สอดคล้องกับการศึกษาของ Solton *et al.* (2008) ในการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชผสม 5 ชนิด ได้แก่ cottonseed, sunflower, canola, sesame meals และ linseed meals ในอาหารปลา นิล พบว่าการทดแทนที่ระดับ 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ เมื่อทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในระดับที่สูงขึ้น 60, 75, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารลดลง ($P < 0.05$) สำหรับอาหารปลานิลสามารถใช้โปรตีนพืชทดแทนปลาป่นได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนอาหารต่อกิโลกรัม และราคาอาหารต่อกิโลกรัมปลาที่เพิ่มขึ้น ได้ 11.40 และ 6.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม การใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในระดับสูง หรือทั้งหมดในสูตรอาหารยังมีข้อจำกัดในปริมาณการทดแทนและชนิดของสัตว์น้ำ สำหรับอาหารปลานิลแดงในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการใช้กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีผลทำให้น้ำหนักเฉลี่ย (mean body weight) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ วิจิตร (2529) ทดลองใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลแดง ขนาด 1.75-1.77 กรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมื่อทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับ Davis and Stickney (1978) ที่ทดลองใช้

กากั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลานิล พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตต่ำสุด เนื่องจากระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นในปลาป่นมีสูงกว่ากากั่วเหลือง นอกจากนี้ Jackson *et al.* (1982) รายงานว่า การใช้กากั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารปลาหมอเทศ พบว่าการใช้กากั่วเหลืองแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลาเจริญเติบโตดีกว่าการทดแทนที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ปลาจะมีการเจริญเติบโตต่ำ และอาหารสูตรที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ปลาจะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด

การใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลานิล ในการทดลองพบว่า โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพดีไม่แตกต่างจากกากั่วเหลือง และสามารถใช้ทดแทนกากั่วเหลืองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิล นอกจากนี้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นมีกรดอะมิโนไลซีนสูง ไม่มีสารพิษ มีเยื่อใยต่ำเพียง 0.53 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้ได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารและสามารถทดแทนกากั่วเหลืองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารสัตว์น้ำให้ใช้ร่วมกับรำละเอียด 8-10 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยย่นระยะเวลาและการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารดีขึ้น (อรพินท์, 2550) ส่วนการใช้ทดแทนปลาป่นในระดับสูง หรือทั้งหมดในสูตรอาหาร ยังมีข้อจำกัดเช่นเดียวกับการใช้กากั่วเหลืองเนื่องจากโปรตีนถั่วเขียวมีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่ำเช่นเดียวกับกากั่วเหลือง นอกจากนี้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นยังมีกรดอะมิโนทรีโอนีนต่ำกว่าปลาป่นและกากั่วเหลือง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) เมื่อใช้ทดแทนปลาป่นในระดับที่สูงขึ้นจะทำให้อาหารขาดกรดอะมิโนได้ จำเป็นต้องมีการเสริมกรดอะมิโนบางชนิด เช่นเมทไธโอนีน และทรีโอนีน ให้เพียงพอกับความต้องการของปลานิล สอดคล้องกับการศึกษาของ Rizal and Khajareem (2007) ศึกษาการใช้โปรตีนถั่วเขียว 2 ชนิด (70 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน) เพื่อใช้ทดแทนกากั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อ ในลูกไก่อายุ 1 วัน สรุปว่า โปรตีนถั่วเขียวชนิด 70 เปอร์เซ็นต์โปรตีน สามารถใช้ทดแทนกากั่วเหลืองได้ ที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ จะให้ประสิทธิภาพการผลิตไก่เนื้อและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจสูงสุด ส่วนโปรตีนถั่วเขียวชนิด 75 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไม่สามารถใช้ทดแทนกากั่วเหลืองในสูตรอาหารไก่เนื้อได้

ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากข้อมูลการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร การใช้กากั่วเหลืองหรือโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนสามารถทดแทนปลาป่นได้มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิล โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพดีไม่แตกต่างจากกากถั่วเหลือง จึงสามารถใช้ได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารรวมทั้งสามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิลระยะอนุบาล

2.1.3 การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลา (size distribution)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า จำนวนปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารปลานิลระยะอนุบาลที่มีแหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นแตกต่างกัน 6 สูตร การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวหลังการอนุบาลด้วยอาหารทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่าการกระจายขนาดของปลานิวเกรด เอ (น้ำหนัก > 25.0 กรัม/ตัว) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าสูงสุด 22.617 เปอร์เซ็นต์ ในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตร 4 โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% PP) ไม่แตกต่างกับปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตร 2 กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% SBM) และอาหารสูตร 3 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% MBP) มีการกระจายขนาดของปลาเกรด เอ 15.945 และ 15.540 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% SBM) และสูตร 6 โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) มีการกระจายขนาดของปลาเกรด เอ 11.816 และ 8.662 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่ามีการกระจายขนาดของปลาเกรด เอ ต่ำสุด 4.910 เปอร์เซ็นต์

กระจายขนาดของปลานิวเกรด บี (น้ำหนัก 20.0-25.0 กรัม/ตัว) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าสูงสุด 26.888 เปอร์เซ็นต์ ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (70% MBP) ไม่แตกต่างกับปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตร 6 (100% MBP) สูตร 2 (70% SBM) และสูตร 4 (0% PP) ซึ่งมีการกระจายขนาดของปลาเกรด บี 26.322, 21.953 และ 21.647 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 (100% SBM) และสูตร 1 (ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่ามีการกระจายขนาดของปลาเกรด บี ต่ำสุด 20.198 และ 17.691 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กระจายขนาดของปลานิวเกรด ซี (น้ำหนักเฉลี่ย < 20.0 กรัม/ตัว) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าสูงสุด 77.399 และ 65.016 เปอร์เซ็นต์ ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1 ชุดควบคุม; Ref diet) และสูตร 6 (100% MBP) ตามลำดับ ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตร 5 (100% SBM) และสูตร 2 (70% SBM) มีการกระจายขนาดของปลาเกรด

ซี 67.986 และ 62.102 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 3 (70% MBP) และสูตร 4 (0% PP) พบว่ามีการกระจายขนาดของปลาเกรด ซี ต่ำสุด 57.571 และ 55.736 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 29

ทั้งนี้เนื่องจาก การได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) ทำให้ปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่า (ตารางที่ 27) การได้รับอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองหรือโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหาร จึงทำให้ได้ปลานิลแดงเกรด เอ (น้ำหนักมากกว่า 25 กรัม/ตัว) ในสัดส่วนที่สูงกว่า นอกจากนี้พบว่าการใช้กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% SBM) ทำให้ปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโต และได้ผลผลิตปลาเกรด เอ ไม่แตกต่างกับการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) เป็นแหล่งของโปรตีนในอาหาร

ตารางที่ 29 เปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของน้ำหนักตัวปลานิลแดง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์

เกรดของปลา	น้ำหนัก (กรัม/ตัว)	การกระจายขนาดปลา (เปอร์เซ็นต์)						probability	pooled SE
		สูตร 1 (Ref diet)	สูตร 2 (70% SBM)	สูตร 3 (70% MBP)	สูตร 4 (0% PP)	สูตร 5 (100% SBM)	สูตร 6 (100% MBP)		
ปลาน้ำเกรด เอ	> 25.0	4.910 ^c	15.945 ^{ab}	15.540 ^{ab}	22.617 ^a	11.816 ^b	8.662 ^{bc}	0.0047	3.845
ปลาน้ำเกรด บี	20.0-25.0	17.691 ^b	21.953 ^{ab}	26.888 ^a	21.647 ^{ab}	20.198 ^b	26.322 ^{ab}	0.0195	2.067
ปลาน้ำเกรด ซี	< 20.0	77.399 ^a	62.102 ^{bc}	57.571 ^c	55.736 ^c	67.986 ^b	65.016 ^a	0.0013	2.890

หมายเหตุ a,b,c อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียว
เข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น
0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

2.1.4 เพอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ (edible flesh)

ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นที่แตกต่างกันในอาหาร 6 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยเปอร์เซ็นต์เนื้อมีส่วนสูงสุด 50.430 เปอร์เซ็นต์ ในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (0% PP) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% SBM) อาหารสูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (70% MBP) อาหารสูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% SBM) และอาหารสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) มีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ไม่แตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 46-48 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่าปลาที่มีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ต่ำที่สุด คือ 44.360 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ดังตารางที่ 30

ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน จะทำให้ปลาที่มีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้สูง เนื่องจากปลาป่นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนคุณภาพดี ปลานิลสามารถสังเคราะห์และใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนและโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้โปรตีนที่ปลาได้รับจากอาหารเมื่อมีการย่อยและดูดซึมแล้ว ส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้เพื่อการดำรงชีพและยังมีโปรตีนส่วนที่เหลือเพียงพอที่จะนำไปสร้างเนื้อและสร้างผลผลิต ทำให้ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน มีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้สูงกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารในสูตรที่ใช้กากถั่วเหลืองหรือใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นแหล่งโปรตีน

2.1.5 ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index)

ค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลแดงหลังการได้รับอาหารทดลอง พบว่าไม่มีแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาลจะทำให้ค่าดัชนีตับต่อตัวมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) มีค่าดัชนีตับต่อตัว 2.317 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อมีการทดแทนปลาป่นโดยการใช้อากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) พบว่าค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลแดงเพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่า 2.594 และ 2.613 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วย

โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ที่ระดับ 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) และ 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่า ค่าดัชนีติดต่อดำของปลานิลแดงลดลง โดยมีค่า 2.139 และ 2.175 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองจะทำให้ปลานิลแดงมีค่าดัชนีติดต่อดำสูงกว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น และพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม: Ref diet) มีค่าดัชนีติดต่อดำในระดับสูงเช่นกัน ดังตารางที่ 30

2.1.6 ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen)

ปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในเซลล์ตับของปลานิลแดงหลังจากได้รับอาหารทดลอง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) มีการสะสมไกลโคเจนที่เซลล์ตับต่ำที่สุด คือ 0.586 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชในสูตรอาหาร พบว่าปลานิลแดงมีการสะสมไกลโคเจนที่เซลล์ตับเพิ่มขึ้น ($P < 0.01$) โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) ที่ใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน 70 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ไกลโคเจนสะสมในเซลล์ตับ 0.607 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มสัดส่วนการใช้กากถั่วเหลืองเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ไกลโคเจนสะสมในเซลล์ตับเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.01$) โดยมีค่า 0.782 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในสูตรอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น พบว่าการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70 MBP) ทำให้ปลานิลแดงมีการสะสมไกลโคเจนที่เซลล์ตับสูงขึ้นเช่นเดียวกันกับการใช้กากถั่วเหลือง โดยมีค่า 0.715 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มสัดส่วนการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร พบว่า เปอร์เซ็นต์ไกลโคเจนสะสมในเซลล์ตับลดลง ($P < 0.01$) โดยมีค่า 0.631 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 30

ปลานิลสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตจากพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเมื่อเพิ่มสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากพืชจึงทำให้มีสารอาหารเหลือหรือมีมากเกินไปต่อการดำรงชีพ ร่างกายจึงมีการเก็บสะสมไว้ในรูปไกลโคเจนที่เซลล์ตับหรือที่กล้ามเนื้อ (เวียง, 2542) เช่นเดียวกับการทดลองของ Metwally and El-Gellal (2009) พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำในสูตรที่ใช้รำสาลี (wheat bran) และสูตรที่ใช้รำข้าวบาร์เลย์ (barley bran) มีปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในตับ 3.96 และ 4.15 g/gm wet. wt. ตามลำดับ และในกล้ามเนื้อ 1.76 และ 1.49 g/gm wet.wt. ตามลำดับ โดยพบว่ามีปริมาณไกลโคเจนสูงกว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรที่ใช้ olive mill waste และสูตรที่ใช้ dat ston mill waste อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 30 เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ ค่าดัชนีตับต่อตัว และเปอร์เซ็นต์ไกลโคเจนที่ตับของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

พารามิเตอร์	สูตรอาหารตามชุดการทดลอง						probability	pooled SE
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
	(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่กินได้ (%)	44.360 ^c	47.390 ^b	48.059 ^b	50.430 ^a	46.420 ^b	46.511 ^b	0.0001	0.492
ค่าดัชนีตับต่อตัว (%)	2.620 ^a	2.594 ^a	2.139 ^a	2.317 ^a	2.613 ^a	2.175 ^a	0.3085	0.338
ไกลโคเจนในตับ (mg glucose/ml)	0.662 ^c	0.607 ^c	0.715 ^b	0.586 ^f	0.782 ^a	0.631 ^d	0.0001	0.007

หมายเหตุ a,b,c,d,e,f อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

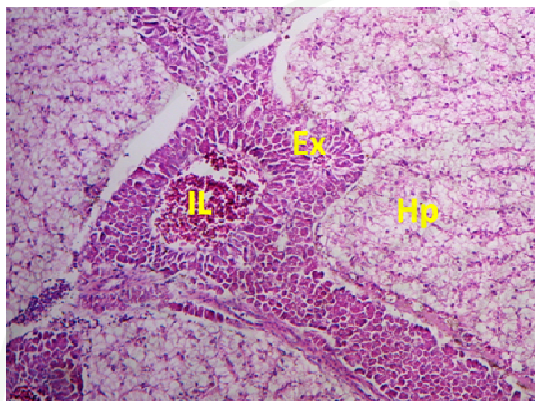
2.1.7 เนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ตับ (histology of hepatocyte)

เซลล์ตับปกติของปลานิลมีลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยม มีนิวเคลียสรูปกลมอยู่กลางเซลล์ พบ sinusoid แทรกอยู่ระหว่างเซลล์ตับทั่วไป และพบตับอ่อนกระจายอยู่ในตับ ที่ตับอ่อนพบ exocrine pancreas; Ex ล้อมรอบส่วนของ endocrine pancreas ซึ่ง exocrine pancreas ประกอบด้วย acinar cells; An ที่มีรูปร่างคล้ายปิรามิด หรือหลายเหลี่ยม ซึ่งทำหน้าที่สร้างเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนของปลาได้แก่ proteases, amylase, chitinase และ lipases (Fange and Grove, 1979) ส่วน endocrine pancreas จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม เรียกเซลล์กลุ่มนี้ว่า islet of langerhans; IL (ภาพที่ 7 (ก) และ (ข)) endocrine pancreas ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนอินซูลินและกลูคาگون เพื่อควบคุมการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต (Groman, 1982) สำหรับ ภาพที่ 7 (ค) เป็นเซลล์ตับของปลานิลแดงขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นลูกปลาก่อนการทดลอง พบว่าเซลล์ตับมีขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป นิวเคลียสใหญ่เกือบเต็มเซลล์ และพบตับอ่อนแทรกตัวอยู่ระหว่างเซลล์

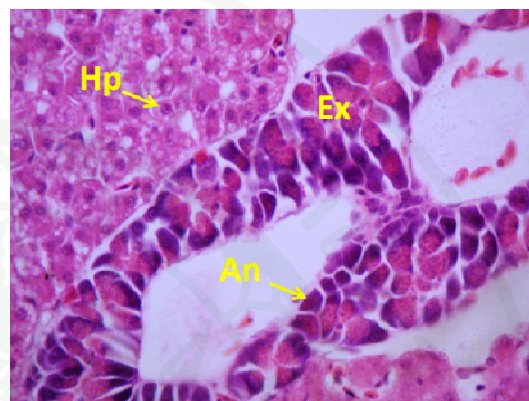
การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นในอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) และสูตร 3 (70% MBP) เซลล์ตับเรียงตัวห่างกัน เซลล์ตับและนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกับเซลล์ตับของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1 ชุดควบคุม; Ref diet) และพบว่าเซลล์ตับขยายขนาด นิวเคลียสส่วนใหญ่ถูกเบียดไปอยู่ที่ขอบเซลล์ (ดังภาพที่ 8) เนื่องจากปลาที่ได้รับอาหารในสูตรดังกล่าว มีปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมและเหลือเพียงพอสำหรับการดำรงชีพ ร่างกายจึงสะสมสารอาหารส่วนที่เหลือในรูปของไกลโคเจนหรือไขมันเก็บสะสมไว้ที่เซลล์ตับ ทำให้เซลล์ตับขยายขนาดและเบียดให้นิวเคลียสไปอยู่ที่ขอบเซลล์

สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 (100% SBM) และสูตร 6 (100% MBP) พบว่าเซลล์ตับมีขนาดใหญ่ เรียงตัวห่างกัน และนิวเคลียสถูกเบียดไปอยู่ที่ขอบเซลล์ (ภาพที่ 8) อาหารปลานิลที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5) หรือจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6) เป็นอาหารที่ขาดความสมดุลทางโภชนาการ อาหารมีปริมาณโปรตีนเพียงพอแต่ขาดสมดุลของกรดอะมิโน เช่นอาจมีปริมาณกรดอะมิโนบางตัวมาก หรือบางตัวน้อย ในกรณีที่อาหารมีปริมาณกรดอะมิโนไม่เพียงพอจะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ส่วนกรดอะมิโนบางตัวที่เหลือหรือบางตัวที่ร่างกายไม่สามารถนำไปสังเคราะห์ได้ จะถูก deamination แล้วขับออกนอก ร่างกาย ส่วนโปรตีนที่เหลือและที่สามารถสังเคราะห์ได้จะเปลี่ยนเป็นไกลโคเจน สะสมตามอวัยวะต่างๆ เช่นที่เซลล์ตับและกล้ามเนื้อ ซึ่งพบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 และสูตร 6 มีปริมาณ

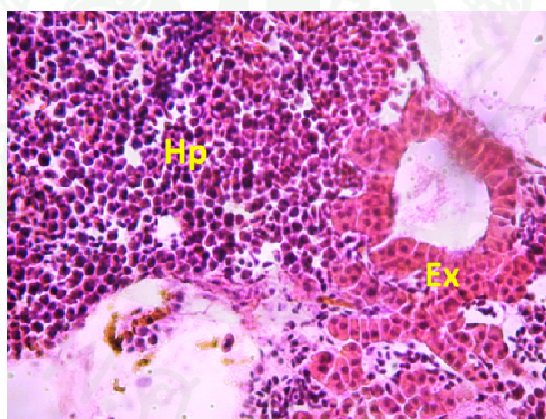
ไกลโคเจนสะสมในเซลล์ตับสูงกว่าปลาในชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 30) สอดคล้องกับรายงานของ สุปราณี และคณะ (2536) ที่ศึกษาในปลาช่อน และ Eurell and Haensly (1982) ที่ศึกษาในปลา Atlantic croaker กล่าวว่า ถ้าเซลล์ตับมีการสะสมของไกลโคเจนและไขมันอยู่ในเซลล์มาก จะทำให้นิวเคลียสถูกดันไปอยู่ที่ขอบเซลล์ และเซลล์ตับจะเรียงชิดติดกัน



(ก) กำลังขยาย 100 เท่า



(ข) กำลังขยาย 400 เท่า

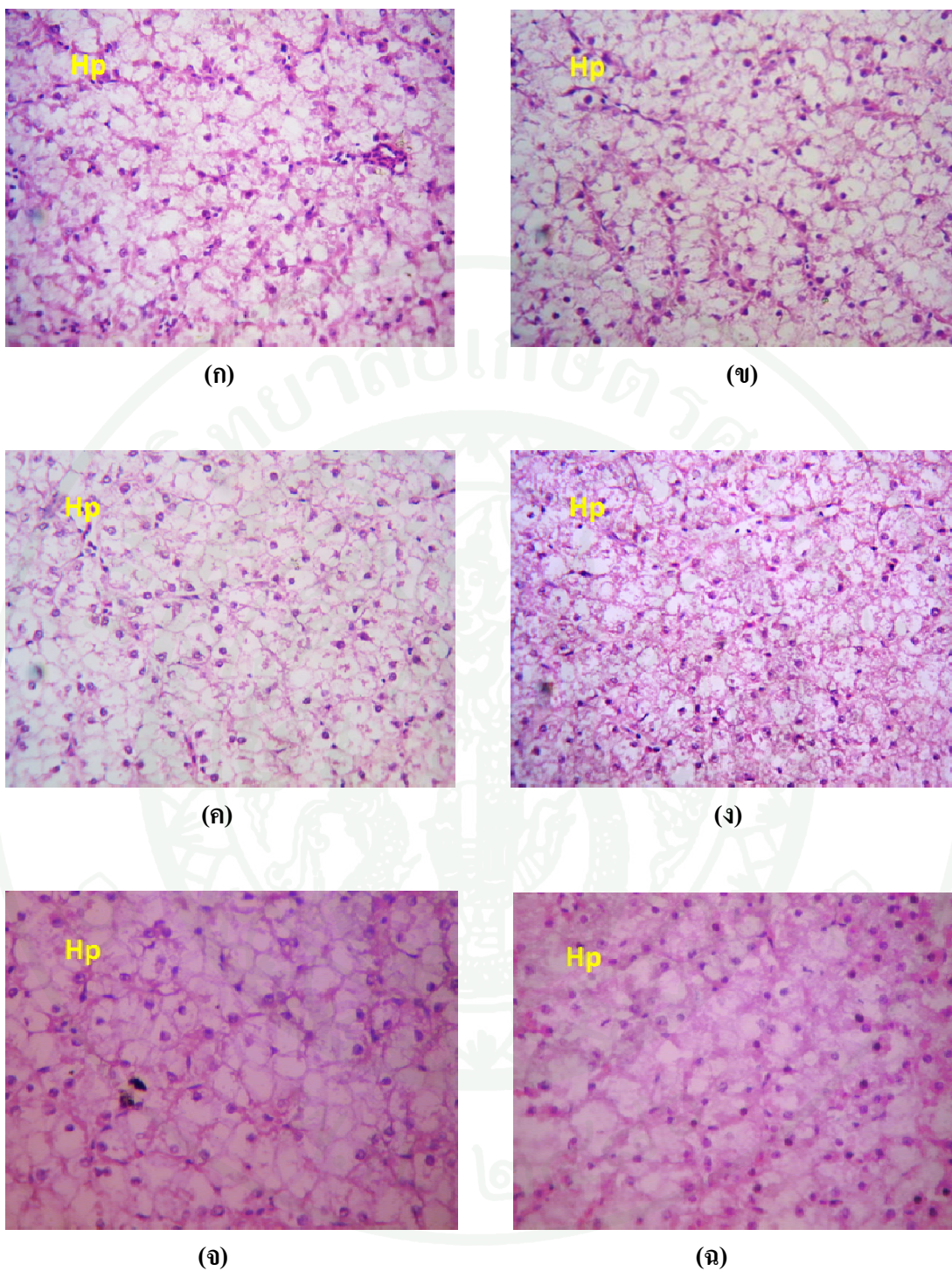


(ค) กำลังขยาย 400 เท่า

ภาพที่ 7 (ก) และ (ข) ตัวอย่างเซลล์ตับของปลานิล (ค) เซลล์ตับของปลานิลแดงก่อนการทดลอง

หมายเหตุ An = acinar cells, Ex = exocrine pancreas, Hp = hepatocytes และ

IL = islet of langerhans



ภาพที่ 8 เซลล์ตับของปลานิลแดงหลังได้รับอาหารทดลอง (ก) สูตร 1 ชุดควบคุม: Ref. diet

(ข) สูตร 2: 70% SBM (ค) สูตร 3: 70% MBP (ง) สูตร 4: 0% PP

(จ) สูตร 5: 100% SMB (ฉ) สูตร 6: 100% MBP

หมายเหตุ Hp = hepatocyte (ทุกภาพกำลังขยาย 400 เท่า)

ส่วนปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) ซึ่งเป็นอาหารอีกสูตรหนึ่งที่ขาดความสมดุลทางโภชนาการ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของเซลล์ตับแตกต่างไปจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ โดยเซลล์ตับมีขนาดเล็กกว่าปกติและเรียงชิดติดกัน นิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ (ภาพที่ 8) เนื่องจากปลานิลแดงที่ได้รับกรดอะมิโนและโปรตีนคุณภาพดีจากปลาป่นที่มีในอาหารสูตร 4 (0% PP) ทำให้ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์หรือสังเคราะห์ได้ทั้งหมด ไม่เหลือพอที่จะสะสมหรือเปลี่ยนรูปเป็นไกลโคเจนและไขมันได้ จึงทำให้ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) มีปริมาณไกลโคเจนสะสมในเซลล์ตับต่ำกว่าปลาในชุดการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 30) สอดคล้องกับการศึกษาของ Storch and Juario (1983) ที่ศึกษาในปลานวลจันทร์ทะเล (*Chanos chanos*) พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ขาดความสมดุลทางโภชนาการหรือในภาวะที่อดอาหาร เซลล์ตับจะมีขนาดเล็กลง องค์ประกอบภายในเซลล์จะรวมตัวกันแน่น และการสะสมของไกลโคเจนในระดับลดลง

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลโดยรวม การใช้กากถั่วเหลืองหรือโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนสามารถทดแทนปลาป่นได้ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิล โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดในการอนุบาล ประสิทธิภาพของอาหารและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน นอกจากนี้ โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพดีไม่แตกต่างจากกากถั่วเหลืองจึงสามารถใช้ได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารรวมทั้งสามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิล ดังนั้น การอนุบาลปลานิลแดงหลังจากการแปลงเพศเพื่อให้ได้เป็นปลานิลแดงระยะปลานิว การใช้กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (อาหารสูตร 2: 70% SBM) และการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (อาหารสูตร 3: 70% SBM) มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารอนุบาลปลานิลแดงเชิงการค้า โดยทำให้ปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตดี และให้ผลผลิตไม่แตกต่างกับการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร

2.2 อัตรารอดตาย การขับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคหลังจากการขนส่ง

การศึกษาผลของแหล่งโปรตีนชนิดต่างๆ ในอาหารต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานเชื้อโรคของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ภายหลังจากการได้รับอาหารอนุบาล 8 สัปดาห์ ทั้งในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง และในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ในถังระบบเปิด ที่ความหนาแน่น 10 และ 15 ตัว/ลิตร ที่มีระบบการให้อากาศและควบคุมอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และภายหลังจากการลำเลียงขนส่ง ได้ทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคของปลานิลแดงทั้งสองสภาวะ มีผลการทดลองดังนี้

2.2.1 การทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย

จากการทดสอบความทนทานต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม โดยคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง (Medial Lethal Concentration, 24 hr-LC₅₀) ในปลานิลแดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นขนาดเดียวกันที่ใช้ในทดลองเพื่อศึกษาอัตราการรอดตายและการขับถ่ายแอมโมเนียระหว่างการลำเลียงขนส่ง ในการทดลองขั้นต้นพบว่า ระดับความเข้มข้นสูงสุดของแอมโมเนีย ที่ไม่ทำให้ปลานิลแดงตายเลย และระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ปลานิลแดงตายทั้งหมด ภายในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า 30 และ 200 พีพีเอ็ม ตามลำดับ สำหรับในการทดลองขั้นละเอียด ได้จัดความเข้มข้นใหม่ตามสัดส่วนลอกกาลีทิม มี 10 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ 31.293, 75.335, 79.584, 85.091, 89.447, 94.833, 99.768, 104.955, 109.394 และ 149.335 พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลแดงในเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 0, 33.33, 38.89, 41.67, 47.22, 52.78, 61.11, 75.00, 80.55 และ 94.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การตายของปลาทดลองที่เกิดขึ้นเนื่องจากความเป็นพิษของแอมโมเนีย โดยแอมโมเนียเป็นสาเหตุของการระคายเคืองแล้วทำให้เกิดโรคเหงือกได้ง่าย Burrow (1964) พบว่า การเพิ่มจำนวนเซลล์บริเวณเหงือกของปลาแซลมอนที่ได้รับแอมโมเนียเป็นต้นเหตุให้เกิดโรคเหงือก และเหงือกเพิ่มจำนวนเซลล์ (hyperplasia) และเชื่อมติดกันทำให้ปลาไม่สามารถแลกเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนกับน้ำได้เต็มที่ Brockway (1950) พบว่า ปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่เพิ่มขึ้นทำให้ความเข้มข้นของออกซิเจนในเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว เหลือเพียง 1 ใน 7 ของสภาวะปกติ ทั้งนี้เนื่องจากแอมโมเนียมีผลกระทบต่อการขนส่งออกซิเจนในเลือด โดยทำให้ฮีโมโกลบินของเลือดสูญเสียความสามารถในการรวมตัวกับออกซิเจน และมีผลทำให้เลือดไม่สามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ได้อีกด้วย และพบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดจะเพิ่มขึ้น 15 เปอร์เซ็นต์ ของสภาวะปกติ นอกจากนี้ Lloyd (1961) เชื่อว่าแอมโมเนียมีผลต่อการ

หายใจเป็นอันดับแรก เพราะในสภาวะที่มีออกซิเจนน้อยกว่าปกติจะทำให้พิษของแอมโมเนียสูงขึ้น สำหรับในการทดลองกับปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว พบว่า ปลามีอัตราการตายสะสม ดังตารางที่ 31

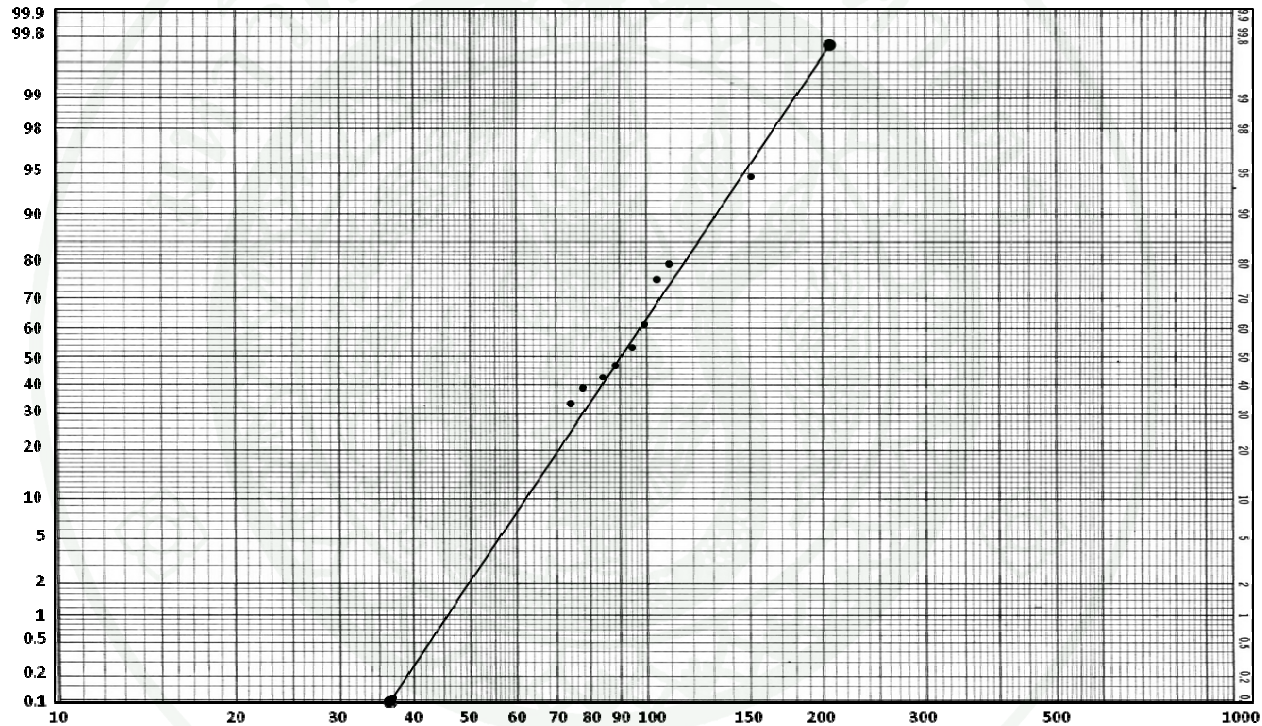
ตารางที่ 31 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียในระดับต่างๆ ในเวลา 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียรวม (ppm)	จำนวนปลา (ตัว)	การตายสะสม (เปอร์เซ็นต์)				
		30 นาที	1	6	12	24 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
31.293	12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
75.255	12	0.00	0.00	2.78	11.11	33.33
79.584	12	0.00	0.00	8.33	19.45	38.89
85.091	12	0.00	0.00	13.89	22.22	41.67
89.447	12	0.00	0.00	16.67	25.00	47.22
94.833	12	0.00	5.55	25.00	36.11	52.78
99.768	12	0.00	8.33	33.33	41.67	61.11
104.955	12	0.00	13.89	38.89	47.22	75.00
109.394	12	0.00	16.67	44.45	55.55	80.55
149.335	12	8.33	27.78	61.11	75.00	94.44

เมื่อนำอัตราการตายมาวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) โดยนำค่า x^2 ของเส้นที่ลากบน logarithmic probability paper (ภาพที่ 9) ที่ได้จากการคำนวณ มาเปรียบเทียบกับค่า x^2 ที่เปิดได้จากตาราง พบว่า ค่า x^2 ที่ได้จากการคำนวณ มีค่าน้อยกว่าค่า x^2 ที่เปิดได้จากตาราง แสดงว่า ข้อมูลที่ plot ได้มีการกระจายของจุดเบี่ยงเบนไปจากเส้นตรงที่ลากเพื่อใช้ในการประเมินค่า LC_{50} อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถใช้เส้นตรงมาประเมินค่า LC_{50} ได้ และสามารถคำนวณค่าต่างๆ ได้ดังนี้

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (พีพีเอ็ม) ตามมาตราส่วนลอกลิทึม

อัตราการตาย
สะสม
(เปอร์เซ็นต์)
ตามมาตราส่วนโปรบิท



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายสะสมและความเข้มข้นของแอมโมเนีย ที่ใช้ในการประเมินค่า 24 hr-LC_{50} ของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78

ค่าความเป็นพิษของแอมโมเนียที่ทำให้ปลาไนล์แดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 เท่ากับ 91.0000 ($83.7860 - 98.8351$) พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.3394 ($1.2675 - 1.4153$) ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (safety concentration) เป็นการปรับค่า (application factor) โดยนำค่า 24 hr- LC_{50} คูณกับ 0.01 ตามที่ Sprague (1969) แนะนำ ดังนั้น ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อปลาไนล์แดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว เท่ากับ $91.0000 \times 0.01 = 0.9100$ พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ดังตารางที่ 32

ตารางที่ 32 ค่า 24 hr- LC_{50} ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนีย ในปลาไนล์แดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว

χ^2 ที่ได้จากการคำนวณ < ค่า χ^2 จากตาราง	ค่า 24 hr- LC_{50} (พีพีเอ็ม)	ค่าฟังก์ชัน ความลาดเอียง	ค่าความเข้มข้น ที่ปลอดภัย (พีพีเอ็ม)
(n = 8)	91.0000	1.3394	0.9100
$1.0888 < 15.5070$	(83.7860 – 98.8351)	(1.2675 – 1.4153)	

จากการทดสอบความทนทานต่อพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 ในปลาไนล์แดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นขนาดเดียวกันที่ใช้ในทดลองเพื่อศึกษาอัตราการรอดตายและการจับถ่ายแอมโมเนียระหว่างการลำเลียงขนส่ง พบว่า ค่า 24 hr- LC_{50} เท่ากับ 91.00 พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) หรือเท่ากับ 3.348 พีพีเอ็ม ในรูปแอมโมเนียที่เป็นพิษ (un-ionized ammonia; mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$) ซึ่งแตกต่างจาก Beni and Koksai (2003) ที่ทดสอบแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ กับปลาไนล์ *O. niloticus* น้ำหนัก 10.114 ± 0.045 กรัม พบว่า ค่า 48 hr- LC_{50} มีค่าเท่ากับ 7.40 ± 0.01 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$ สำหรับ Daud *et al.* (1988) รายงานในปลาไนล์แดงลูกผสม ความยาว 8.9459 ± 0.0152 เซนติเมตร พบว่า ค่า 48 hr- LC_{50} ของแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ เท่ากับ 6.6 mg/l $\text{NH}_3\text{-N}$

2.2.2 สภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร

ก. คุณภาพน้ำ การจับถ่ายแอมโมเนีย

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดการขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร มีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 33 พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยภายหลังการขนส่ง พบว่าลดลงทุกชุดการทดลองและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ปริมาณออกซิเจนมีค่าต่ำสุด 7.42 มิลลิกรัม/ลิตร ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และพบว่าปริมาณออกซิเจนในภาชนะลำเลียงมีแนวโน้มสูงขึ้นในสูตรอาหารปลานิลที่มีการใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นแหล่งโปรตีน โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) มีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่ในภาชนะลำเลียงสูงสุด 10.90 มิลลิกรัม/ลิตร ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) อาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) มีปริมาณออกซิเจนในภาชนะลำเลียง 10.45, 10.29 และ 10.06 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณออกซิเจนมีค่าสูงใกล้เคียงกับชุดควบคุม (สูตร 1: อาหารสำเร็จรูปเชิงการค้า; Ref diet) 9.89 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าพีเอชและค่าอัลคาไลต์ของน้ำ พบว่ามีค่าลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยพีเอชของน้ำในภาชนะลำเลียงมีค่าต่ำสุด 7.11 ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4; 0% PP) ส่วนอุณหภูมิของน้ำ พบว่าเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) เช่นเดียวกับค่าความนำไฟฟ้าของน้ำและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.01$) โดยพบว่า มีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) คือ 1.52 มิลลิซีเมนส์/เซนติเมตร (mScm^{-1}) และ 21.79 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าความเค็มของน้ำ หลังจากการขนส่งมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่ามีค่าสูงสุด 0.63 พีพีที ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) เช่นเดียวกัน

การจับถ่ายแอมโมเนีย พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; $\text{mg/l total NH}_3\text{-N}$) และอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำระหว่างการลำเลียงขนส่ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าสูงขึ้นขณะลำเลียงขนส่ง และมีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) คือ 2.23 มิลลิกรัม/ลิตร (pH 7.78) และพบว่ามีค่าลดลงเมื่อมี

การใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหาร โดยมีค่า 0.98, 1.36, 1.90 และ 2.06 มิลลิกรัม/ลิตร ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) สูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) ตามลำดับ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่ามีปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำ 0.98 มิลลิกรัม/ลิตร

ขณะเดียวกันอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียของปลานิลแดงในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนในอาหาร (สูตร 4: 0% PP) โดยมีค่า 0.484 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง และมีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย 0.213, 0.296, 0.414 และ 0.447 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) อาหารสูตร 3 (70% MBP) อาหารสูตร 5 (100% SBM) และอาหารสูตร 6 (100% MBP) ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) พบว่ามีอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำ 0.98 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ดังตารางที่ 33

ข. อัตราการอดตาย

อัตราการอดตายในการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) มีอัตราการอดตายในการลำเลียงขนส่งต่ำสุด คือ 97.67 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) อาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) อาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) และอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่าปลานิลแดงมีอัตราการอดตายจากการลำเลียงขนส่ง 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับชุดควบคุม (สูตร 1: อาหารสำเร็จรูปเชิงการค้า; Ref diet) ดังตารางที่ 33

ตารางที่ 33 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดการขนส่ง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	14.56	9.87 ^c	10.29 ^b	10.90 ^a	7.42 ^d	10.06 ^{bc}	10.45 ^b	0.0001	0.234
พีเอช	8.39	7.44 ^b	7.44 ^b	7.42 ^b	7.11 ^c	7.42 ^b	7.54 ^a	0.0001	0.035
อุณหภูมิน้ำ (°C)	23.93	27.50 ^a	26.10 ^c	26.23 ^{bc}	26.07 ^c	26.10 ^c	26.30 ^b	0.0001	0.101
อุณหภูมิอากาศ (°C)	29.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	122.67	95.67 ^a	93.67 ^{ab}	92.67 ^{ab}	82.67 ^c	85.67 ^c	90.00 ^b	0.0001	2.333
ความกระด้าง (mg/l)	95.67	86.00 ^c	98.00 ^a	82.67 ^c	92.67 ^b	96.67 ^a	86.00 ^c	0.0001	2.236
ความเค็ม (ppt)	0.50	0.57 ^{ab}	0.50 ^b	0.57 ^{ab}	0.63 ^a	0.53 ^{ab}	0.53 ^{ab}	0.1172	0.053
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.57	1.26 ^b	0.97 ^b	1.05 ^b	1.52 ^a	1.08 ^b	1.12 ^b	0.0039	0.130
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	20.13 ^{ab}	18.48 ^{bc}	19.14 ^{bc}	21.79 ^a	17.82 ^{bc}	17.49 ^c	0.0100	1.235
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.00	0.98 ^d	0.98 ^d	1.36 ^c	2.23 ^a	1.90 ^b	2.06 ^b	0.0001	0.088
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.000	0.214 ^d	0.213 ^d	0.296 ^c	0.484 ^a	0.414 ^b	0.447 ^b	0.0001	0.019
อัตราการตายในการลำเลียงขนส่ง (%)	-	100.00 ^a	100.00 ^a	100.00 ^a	97.67 ^b	100.00 ^a	100.00 ^a	0.0001	0.436

หมายเหตุ a,b,c,d,e,f อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ก. ค่าโลหิตวิทยา

ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแดงหลังการล้าเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร พบว่าระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 1 อาหารสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) มีระดับแอมโมเนียในเลือด 61.182 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่า มีระดับแอมโมเนียในเลือดสูงกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า 73.970, 70.788 และ 70.545 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) มีระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า 58.121 และ 57.030 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ของปลานิลแดงหลังการล้าเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) มีระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (78.333 และ 79.333 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงถึง 92.667 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ($P < 0.01$) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่ามีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำกว่าชุดควบคุม ($P < 0.01$) โดยมีค่า 58.667 และ 53.333 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

ระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) ของปลานิลแดงหลังการล้าเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) คือ 2.738 กรัม/เดซิลิตร ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่ามีระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดต่ำสุด (1.998 กรัม/เดซิลิตร) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) สูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์;

70% MBP) และสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) พบว่า มีระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) ดังตารางที่ 34

ง. ระบบภูมิคุ้มกัน

พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงหลังจากการล้าเลียงขนสง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร ได้แก่ ค่า immunoglobulin M (Ig M) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดย Ig M มีค่าสูงสุด 0.641 กรัม/เดซิลิตร ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และพบว่าค่า Ig M ลดลงตามสัดส่วนที่น้อยลงของปลาป่นในสูตรอาหาร การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) จะไม่มีผลต่อค่า Ig M แต่การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้น 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่า ค่า Ig M ลดลง ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืช พบว่าแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง จะทำให้ปลานิลแดงมีค่า Ig M สูงกว่าแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้น

เมื่อพิจารณาถึงกระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแดง ได้แก่ค่า phagocytic activity (PA) และ phagocytic index (PI) พบว่ามีค่าลดลงตามสัดส่วนของปลาป่นที่น้อยลงในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งของโปรตีน (สูตร 4: 0% PP) พบว่าปลามีค่า PA และค่า PI สูงสุดคือ 52.58 เปอร์เซ็นต์ และ 49.59 ตามลำดับ ค่า PA และค่า PI ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) มีค่า 44.37 เปอร์เซ็นต์ และ 34.13 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) จะทำให้ค่า PA และค่า PI ลดลง (38.85 เปอร์เซ็นต์ และ 31.58 ตามลำดับ) ส่วนปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) พบว่าค่า PA และค่า PI เท่ากับ 40.18 เปอร์เซ็นต์ และ 31.47 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้นเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่า ค่า PA และค่า PI ของปลานิลแดงลดลง (37.42 เปอร์เซ็นต์ และ 31.26 ตามลำดับ) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) มีค่า PA เท่ากับ 42.27 เปอร์เซ็นต์ และค่า PI เท่ากับ 32.70 ดังตารางที่ 34

จ. ความต้านทานต่อเชื้อโรค

ความต้านทานต่อเชื้อโรคของปลานิลแดง ผลจากการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร กับปลานิลแดง ภายหลังการขนส่ง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร โดยการแช่ต่อเนื่อง เป็นเวลา 10 วัน พบว่าอัตราการรอดตายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการรอดตายสูงสุด 97.78 เปอร์เซ็นต์ ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร (สูตร 4: 0% PP) สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) อาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) อาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) และอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่ามีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับ อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: ชุดควบคุม; Ref diet) โดยมีอัตราการรอดตายจากการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* คือ 91.11, 82.22, 82.22 และ 80.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 34

ตารางที่ 34 ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร และอัตราการรอดตายภายหลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน

พารามิเตอร์	ก่อนการขนส่ง	สิ้นสุดการขนส่ง/ชุดการทดลอง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ค่าโลหิตวิทยา									
Blood ammonia (µg/dl)	43.939	61.182 ^c	58.121 ^d	57.030 ^d	73.970 ^a	70.788 ^b	70.545 ^b	0.0001	1.506
Blood glucose (mg/dl)	114.000	81.667 ^b	78.333 ^b	79.333 ^b	92.667 ^a	58.667 ^c	53.333 ^d	0.0001	2.483
Total serum protein (g/dl)	2.239	2.305 ^b	2.413 ^b	2.324 ^b	2.738 ^a	2.300 ^b	1.998 ^c	0.0001	0.095
ระบบภูมิคุ้มกัน									
Ig M (g/dl)	0.595	0.230 ^c	0.327 ^b	0.250 ^c	0.641 ^a	0.346 ^b	0.137 ^d	0.0001	0.035
Phagocytic activity (%)	60.38	42.27 ^c	44.37 ^b	40.18 ^d	52.58 ^a	38.85 ^c	37.42 ^f	0.0001	0.402
Phagocytic index	45.48	32.70 ^{bc}	34.13 ^b	31.47 ^c	49.59 ^a	31.58 ^c	31.26 ^c	0.0001	1.027
ความต้านทานต่อเชื้อโรค									
Survival rate (%)	100.00	88.89 ^b	91.11 ^b	82.22 ^b	97.78 ^a	82.22 ^b	80.00 ^b	0.0015	4.876

หมายเหตุ a,b,c,d,e,f อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

2.2.3 สภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร

ก. คุณภาพน้ำและการขับถ่ายแอมโมเนีย

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดการขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร มีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 35 พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยภายหลังการขนส่ง พบว่าลดลงทุกชุดการทดลองและมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.01$) ปริมาณออกซิเจนมีค่าต่ำสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) โดยมีค่า 4.50 และ 4.84 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) โดยมีค่า 9.52 และ 8.86 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่าน้ำในภาชนะลำเลียงมีปริมาณออกซิเจน 7.82 และ 8.45 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าพีเอชและค่าอัลคาไลต์ของน้ำ พบว่ามีค่าลดลงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) พีเอชของน้ำมีค่าต่ำสุด 6.94 และ 7.04 ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) ตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิของน้ำ พบว่าเพิ่มสูงขึ้นและมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าสูงสุด 26.80 และ 26.70 องศาเซลเซียส ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) และสูตร 3 (70% MBP) เช่นกัน ส่วนค่าความนำไฟฟ้าของน้ำ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับค่าความเค็มของน้ำและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

การขับถ่ายแอมโมเนีย พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) และอัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำภายหลังการขนส่ง ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า; Ref diet) ปริมาณแอมโมเนียรวมในภาชนะลำเลียงมีค่าสูงในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100

เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) โดยมีค่า 2.44, 2.39 และ 2.36 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ รวมทั้งมีอัตราการจับถ่ายแอมโมเนีย 0.530, 0.519 และ 0.514 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง ตามลำดับ

ข. อัตราการอดตาย

อัตราการอดตายในการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว / ลิตร พบว่าอัตราอดตายเป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) มีอัตราการอดตายจากการขนส่ง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (99.78 เปอร์เซ็นต์) การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) ในสูตรอาหาร พบว่าไม่มีผลต่ออัตราการอดตายในการขนส่ง แต่การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) ในสูตรอาหาร จะทำให้อัตราการอดตายในการขนส่งลดลง สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) สูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) และสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) พบว่าปลาที่มีอัตราการอดตายต่ำและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการอดตายหลังจากการขนส่ง 98.44, 93.11 และ 83.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 35

ตารางที่ 35 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดการขนส่ง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	14.56	8.86 ^b	9.52 ^a	4.84 ^c	4.50 ^f	7.82 ^d	8.45 ^c	0.0001	0.120
พีเอช	8.39	7.30 ^a	7.19 ^b	7.04 ^c	6.94 ^d	7.38 ^a	7.18 ^b	0.0001	0.050
อุณหภูมิน้ำ (°C)	23.93	26.50 ^{ab}	26.30 ^{bc}	26.70 ^a	26.80 ^a	25.93 ^{cd}	26.03 ^{cd}	0.0006	0.195
อุณหภูมิอากาศ (°C)	29.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	122.67	95.33 ^a	82.33 ^{bc}	86.00 ^b	78.00 ^c	78.00 ^c	78.00 ^c	0.0001	2.297
ความกระด้าง (mg/l)	95.67	88.00 ^b	90.67 ^b	86.67 ^{bc}	82.67 ^c	82.33 ^c	96.00 ^a	0.0003	2.593
ความเค็ม (ppt)	0.50	0.50 ^b	0.60 ^a	0.57 ^{ab}	0.53 ^{ab}	0.57 ^{ab}	0.60 ^a	0.0713	0.041
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.57	1.12 ^b	1.27 ^{ab}	1.22 ^b	1.12 ^b	1.16 ^b	1.38 ^a	0.0164	0.084
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	23.10 ^a	23.76 ^a	22.11 ^a	22.44 ^a	22.77 ^a	24.75 ^a	0.8129	2.524
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.00	1.99 ^c	2.01 ^c	2.36 ^{ab}	2.44 ^a	2.39 ^{ab}	2.17 ^{bc}	0.0002	0.130
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.000	0.433 ^c	0.437 ^c	0.514 ^{ab}	0.530 ^a	0.519 ^{ab}	0.472 ^{bc}	0.0026	0.028
อัตราการตายในการลำเลียงขนส่ง (%)	-	99.78 ^a	100.00 ^a	94.00 ^c	83.55 ^d	98.44 ^b	93.11 ^c	0.0001	1.864

หมายเหตุ a,b,c,d,e,f อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ก. ค่าโลหิตวิทยา

ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแดงหลังการล้าเลี้ยงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร พบว่าระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ปลาที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: ชุดควบคุม; Ref diet) สูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) มีระดับแอมโมเนียในเลือดสูง 83.848, 82.667, 80.939 และ 80.363 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำกว่าชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) โดยมีค่า 75.515 และ 76.910 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (57.00 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) และในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่ามีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ 38.333 และ 39.333 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีระดับน้ำตาลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) โดยมีค่า 47.667 และ 45.333 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

ระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) สูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) สูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) มีระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดสูงกว่าชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่ามีระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ดังตารางที่ 36

ง. ระบบภูมิคุ้มกัน

พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงหลังการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร พบว่าค่า immunoglobulin M (Ig M) ของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในทุกชุดการทดลอง มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ($P < 0.01$) โดยค่า Ig M มีค่าสูงสุด 0.499 กรัม/เดซิลิตร ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และพบว่าค่า Ig M ลดลงตามสัดส่วนที่น้อยลงของปลาป่นในสูตรอาหาร การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) พบว่าไม่มีผลต่อค่า Ig M และการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้น 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่าไม่มีผลต่อค่า Ig M เช่นเดียวกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืช พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร ทำให้ปลานิลแดงมีค่า Ig M สูงกว่าการใช้โปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้นแหล่งของโปรตีน

เมื่อพิจารณาถึงกระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแดงหลังการลำเลียงขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร ได้แกค่า phagocytic activity (PA) และ phagocytic index (PI) พบว่ามีค่าลดลงตามสัดส่วนของปลาป่นที่น้อยลงในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) พบว่ามีค่า PA และค่า PI สูงสุดคือ 37.97 เปอร์เซ็นต์ และ 32.48 ตามลำดับ ค่า PA และค่า PI ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) มีค่า 31.25 เปอร์เซ็นต์ และ 26.34 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) พบว่าค่า PA และค่า PI ลดลง (25.41 เปอร์เซ็นต์ และ 22.58 ตามลำดับ) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่าค่า PA และค่า PI เท่ากับ 30.19 เปอร์เซ็นต์ และ 24.90 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวแช่ซึ้นเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่า ค่า PA และค่า PI ของปลานิลแดงลดลง (25.24 เปอร์เซ็นต์ และ 20.17 ตามลำดับ)

ดังตารางที่ 36

จ. ความต้านทานต่อเชื้อโรค

ความต้านทานต่อเชื้อโรครายหลังการขนส่ง ผลจากการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร กับปลานิลแดงภายหลังการขนส่ง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร โดยการแช่เป็นเวลา 10 วัน พบว่าอัตราการรอดตายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยมีอัตราการรอดตายสูงสุด 91.11 เปอร์เซ็นต์ ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และอัตราการรอดตายต่ำสุด 71.11 เปอร์เซ็นต์ ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ ; 70% SBM) พบว่าอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม (82.22 เปอร์เซ็นต์) แต่เมื่อสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) พบว่าปลาอัตราการรอดตายลดลง (75.56 เปอร์เซ็นต์) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) มีอัตราการรอดตาย 77.78 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่าปลานิลแดงมีอัตราการรอดตายลดลงเช่นกัน (71.11 เปอร์เซ็นต์) ดังตารางที่ 36

ตารางที่ 36 ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสถานการณ์ลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร และอัตราการรอดตายภายหลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน

พารามิเตอร์	ก่อนการขนส่ง	สิ้นสุดการขนส่ง/ชุดการทดลอง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ค่าโลหิตวิทยา									
Blood ammonia (µg/dl)	43.939	83.848 ^a	75.515 ^c	76.970 ^c	80.363 ^b	80.939 ^{ab}	82.667 ^{ab}	0.0006	1.783
Blood glucose (mg/dl)	114.000	47.333 ^{ab}	47.667 ^{ab}	45.333 ^{ab}	57.000 ^a	38.333 ^b	39.333 ^b	0.0124	5.364
Total serum protein (g/dl)	2.239	2.079 ^c	2.228 ^b	2.573 ^a	2.247 ^b	2.708 ^a	1.977 ^c	0.0001	0.078
ระบบภูมิคุ้มกัน									
Ig M (g/dl)	0.595	0.040 ^d	0.218 ^b	0.116 ^c	0.499 ^a	0.219 ^b	0.130 ^c	0.0001	0.025
Phagocytic activity (%)	60.38	26.96 ^c	31.25 ^b	30.19 ^b	37.97 ^a	25.41 ^c	25.24 ^c	0.0001	1.002
Phagocytic index	45.48	21.01 ^{cd}	26.34 ^b	24.90 ^b	32.48 ^a	22.58 ^c	20.17 ^d	0.0001	1.101
ความต้านทานต่อเชื้อโรค									
Survival rate (%)	100.00	82.22 ^b	82.22 ^b	77.78 ^{bc}	91.11 ^a	75.56 ^{bc}	71.11 ^c	0.0006	2.913

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

2.2.4 สถานะการเลี้ยงปลาคูที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง

ก. คุณภาพน้ำและการจับถ่ายแอมโมเนีย

คุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง ของปลานิลแดงในสถานะที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 37 โดยค่าความเค็มและความนำไฟฟ้าของน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) พารามิเตอร์ที่เปลี่ยนแปลงได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยหลังการขนส่ง พบว่ามีค่าลดลงและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ระหว่างชุดการทดลอง ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) พบว่ามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำสุด (9.24 มิลลิกรัม/ลิตร) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำสูงถึง 10.81 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) อาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) และอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่าปริมาณออกซิเจนในภาชนะหลังจากสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) โดยมีค่า 10.81, 10.13 และ 10.14 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนพีเอชของน้ำ พบว่ามีค่าลดลง โดยมีค่าต่ำในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) สำหรับในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่า ค่าพีเอชของน้ำลดลงเล็กน้อยและไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (พีเอช 8.08) อุณหภูมิของน้ำมีค่าสูงขึ้นและแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ระหว่างชุดการทดลอง

นอกจากนี้ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูง โดยพบว่าปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมีค่าสูงสุด 12.21 มิลลิกรัม/ลิตร ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และมีค่าสูงในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) โดยมีค่า 9.24 และ 10.34 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนปลา

นิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำดำ (3.90 และ 5.94 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ)

การจับถ่ายแอมโมเนีย พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia; mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ในน้ำมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าสูงสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) โดยมีค่า 0.66 มิลลิกรัม/ลิตร รวมทั้งปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่ามีปริมาณแอมโมเนียในน้ำสูงเช่นกัน (0.52 และ 0.51 mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$ ตามลำดับ) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำดำและไม่ได้แตกต่างจากชุดควบคุม (0.43 mg/l total $\text{NH}_3\text{-N}$) ขณะเดียวกันอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียของปลานิลแดงในสภาวะการเลี้ยงปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง พบว่าอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) มีค่า 0.143 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ชั่วโมง นอกจากนี้ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่ามีอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำสูงเช่นกัน (0.114 และ 0.111 mg/kg/hr ตามลำดับ) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำดำและไม่ได้แตกต่างจากชุดควบคุม (0.092 mg/kg/hr)

ข. อัตรารอดตาย

อัตราการรอดตายของปลานิลแดงในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 37

ตารางที่ 37 คุณภาพน้ำ การขับถ่ายแอมโมเนียและอัตราการตายของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง

พารามิเตอร์	เริ่มต้น	สิ้นสุดการทดลอง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ออกซิเจน (mg/l)	14.56	10.44 ^b	10.81 ^a	10.20 ^b	9.24 ^c	10.13 ^b	10.14 ^b	0.0001	0.182
พีเอช	8.39	8.08 ^a	8.03 ^{ab}	8.03 ^{ab}	7.87 ^c	7.97 ^{bc}	7.93 ^{bc}	0.0082	0.058
อุณหภูมิน้ำ (°C)	23.93	26.55 ^a	26.30 ^b	26.63 ^a	26.74 ^a	26.28 ^b	26.12 ^b	0.0007	0.135
อุณหภูมิอากาศ (°C)	29.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00	-	-
อัลคาไลด์ (mg/l)	122.67	96.33 ^a	95.00 ^{ab}	93.33 ^{ab}	86.33 ^c	85.67 ^c	92.00 ^b	0.0001	2.095
ความกระด้าง (mg/l)	95.67	86.00 ^d	98.00 ^a	84.67 ^d	94.33 ^b	95.33 ^b	89.33 ^c	0.0001	1.312
ความเค็ม (ppt)	0.50	0.50 ^a	0.50 ^a	0.50 ^a	0.57 ^a	0.53 ^a	0.53 ^a	0.3149	0.041
ความนำไฟฟ้า (mScm ⁻¹)	0.57	0.85 ^b	0.80 ^b	0.88 ^{ab}	1.03 ^a	0.82 ^b	0.85 ^b	0.0682	0.088
คาร์บอนไดออกไซด์ (mg/l)	0.00	9.24 ^b	3.90 ^c	5.94 ^c	12.21 ^a	9.24 ^b	10.34 ^{ab}	0.0001	1.383
แอมโมเนียรวม (mg/l total NH ₃ -N)	0.00	0.43 ^c	0.40 ^c	0.42 ^c	0.66 ^a	0.52 ^b	0.51 ^b	0.0001	0.025
อัตราการขับถ่ายแอมโมเนีย (mg/kg/hr)	0.00	0.092 ^c	0.087 ^c	0.091 ^c	0.143 ^a	0.114 ^b	0.111 ^b	0.0001	0.005
อัตราการตาย (%)	-	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	-	-

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

ก. ค่าโลหิตวิทยา

ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่มี การลำเลียงขนส่ง พบว่าระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia) มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่ว เจียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBPC) และ มีระดับแอมโมเนียในเลือดสูง 44.939, 42.242 และ 42.606 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ส่วนปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) มีระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำสุด (21.24 ไมโครกรัม/เดซิลิตร) สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเจียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) พบว่าระดับแอมโมเนียในเลือดไม่แตกต่างจาก ชุดควบคุม (33.940 ไมโครกรัม/เดซิลิตร)

ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ระดับ น้ำตาลในเลือดมีค่าสูงในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) โดยมีค่า 166.00 ไมโครกรัม/เดซิลิตร สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) สูตร 3 (70% MBP) สูตร 5 (100% SBM) และสูตร 6 (100% MBP) พบว่าระดับน้ำตาล ในเลือดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet)

ระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดมีค่าสูงในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) โดยมีค่า 2.851 กรัม/เดซิลิตร และพบว่าปลาที่ ได้รับอาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเจียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) มีระดับโปรตีนทั้งหมด ในเลือดต่ำสุด (2.022 กรัม/เดซิลิตร) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) สูตร 3 (70% MBP) และสูตร 5 (100% SBM) พบว่าระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) โดยมีค่า 2.444, 2.335 และ 2.272 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 38

ง. ระบบภูมิคุ้มกัน

พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าค่า immunoglobulin M (Ig M) ของปลานิลแดงในสถานะที่ไม่มีการลำเลียงขนส่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ค่า Ig M มีค่าสูงสุด 0.499 กรัม/เดซิลิตร ในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) และพบว่า Ig M มีค่าต่ำสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (โปรตีน ถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) โดยมีค่า 0.372 กรัม/เดซิลิตร สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) อาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBPC) พบว่าค่า Ig M ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (สูตร 1: Ref diet) โดยมีค่า 0.538, 0.465 และ 0.543 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

กระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาว ได้แก่ค่า phagocytic activity (PA) และ phagocytic index (PI) ของปลานิลแดงในสถานะที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง พบว่ามีค่าลดลงตามสัดส่วนของปลาป่นที่น้อยลงในสูตรอาหาร ($P < 0.01$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) พบว่า มีค่า PA และค่า PI สูงสุดคือ 72.35 เปอร์เซ็นต์ และ 69.90 ตามลำดับ รองลงมาเป็นค่า PA และค่า PI ของปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) ซึ่งมีค่า 66.52 เปอร์เซ็นต์ และ 47.23 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) พบว่า ค่า PA และค่า PI ลดลง (54.95 เปอร์เซ็นต์ และ 50.56 ตามลำดับ) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 (70% MBP) พบว่า ค่า PA และค่า PI เท่ากับ 57.16 เปอร์เซ็นต์ และ 53.60 ตามลำดับ แต่เมื่อสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) พบว่า ค่า PA และค่า PI ไม่มีความแตกต่างกัน (63.84 เปอร์เซ็นต์ และ 57.26 ตามลำดับ) ดังตารางที่ 38

จ. ความต้านทานต่อเชื้อโรค

ความต้านทานต่อเชื้อโรคของปลานิลแดงในสถานะที่ไม่มีการลำเลียงขนส่ง ผลจากการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร โดยการแช่ เป็นเวลา 10 วัน พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในทุกชุดการทดลอง มีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 38

ตารางที่ 38 ค่าโลหิตวิทยาและค่าพารามิเตอร์ในระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว ในสภาวะปกติที่ไม่มีการลำเลียงขนส่งเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 12 ชั่วโมง และอัตราการรอดตายภายหลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค เป็นเวลา 10 วัน

พารามิเตอร์	ก่อนการทดลอง	สิ้นสุดระยะเวลา/ชุดการทดลอง						probability	pooled SE
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6		
		(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)		
ค่าโลหิตวิทยา									
Blood ammonia (µg/dl)	43.939	32.788 ^b	21.242 ^c	33.940 ^b	44.939 ^a	42.242 ^a	42.606 ^a	0.0001	1.981
Blood glucose (mg/dl)	114.000	128.333 ^b	137.000 ^b	117.333 ^b	166.000 ^a	117.000 ^b	112.333 ^b	0.0022	12.708
Total serum protein (g/dl)	2.239	2.405 ^b	2.444 ^b	2.355 ^b	2.851 ^a	2.272 ^b	2.022 ^c	0.0001	0.095
ระบบภูมิคุ้มกัน									
Ig M (g/dl)	0.595	0.461 ^{bc}	0.538 ^b	0.372 ^c	0.889 ^a	0.465 ^{bc}	0.543 ^b	0.0001	0.081
Phagocytic activity (%)	60.377	58.82 ^{cd}	66.52 ^{ab}	57.16 ^{cd}	72.35 ^a	54.95 ^d	63.84 ^{bc}	0.0012	2.320
Phagocytic index	45.483	45.11 ^d	47.23 ^{cd}	53.60 ^{bc}	69.90 ^a	50.56 ^{bcd}	57.26 ^b	0.0001	4.139
ความต้านทานต่อเชื้อโรค									
Survival rate (%)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	-	-

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

คุณภาพน้ำในการลำเลียงขนส่ง 12 ชั่วโมง ของปลานิลแดงทั้งสองความหนาแน่นในการลำเลียง พบว่า พารามิเตอร์ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนคือ ปริมาณออกซิเจน โดยหลังการขนส่งพบว่า ลดลงทุกชุดการทดลอง และออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าต่ำสุดในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากพืช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) ในทุกสภาวะ เช่นเดียวกับค่าพีเอชของน้ำที่ลดต่ำลง ขณะที่อุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นสูง ทำให้ปลาระหว่างการลำเลียงขนส่งเกิดความเครียดและร่างกายสูญเสียสมดุลออสโมติก ทำให้ค่าความนำไฟฟ้าของน้ำในภาชนะลำเลียงมีค่าแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ส่วนความเค็มของน้ำพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งค่าความนำไฟฟ้าและความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นขณะลำเลียงขนส่งเนื่องจากปลานิลแดงเสียสมดุลออสโมติกให้น้ำในภาชนะลำเลียง สอดคล้องกับ Miles *et al.* (1974); Nikinmaa *et al.* (1983) ที่กล่าวว่า ความเครียดของปลาขณะลำเลียงขนส่งทำให้ค่าฮีมาโตคริตในเลือดเพิ่มขึ้นจากการบีบตัวของม้ามและการเสียสมดุลออสโมติก ปลาน้ำจืดจะเสียเกลือแร่คัลเซียมและโซเดียมออก ให้แก่น้ำที่ใช้น้ำขนส่ง สำหรับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะการลำเลียงขนส่งที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนในสภาวะการลำเลียงขนส่งที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร และสภาวะปกติที่ไม่มีการขนส่ง พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$)

จากการทดลองพบว่าชนิดของวัตถุดิบแหล่งโปรตีนและสัดส่วนของการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาลมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในภาชนะที่ใช้ลำเลียงขนส่ง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ทั้งในสภาวะการเลี้ยงปกติและสภาวะที่มีการลำเลียงขนส่ง (ตารางที่ 33, 35 และ 37) โดยพบว่า ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียของปลานิลแดงในสภาวะที่มีการลำเลียงขนส่ง มีค่าสูงกว่าปลาในสภาวะการเลี้ยงปกติ และในสภาวะการลำเลียงขนส่งปลานิลแดงขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร พบว่าปริมาณการจับถ่ายแอมโมเนียในภาชนะลำเลียงสูงกว่าที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร และปริมาณแอมโมเนียที่สูงขึ้นในภาชนะลำเลียงมีผลทำให้อัตราการตายของปลาในการขนส่งลดลง ($P < 0.01$) อาหารปลานิลระยะอนุบาลในสูตรที่ขาดความสมดุลทางโภชนาการที่มีการใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชหรือจากสัตว์เพียงแหล่งเดียวจะมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำภายในภาชนะลำเลียงเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.01$)

ในสภาวะการลำเลียงขนส่ง 10 ตัว/ลิตร และสภาวะปกติที่ไม่มีการขนส่ง ปริมาณแอมโมเนียรวมและอัตราการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำของปลาที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70

เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) มีปริมาณต่ำและไม่แตกต่างจากชุดควบคุม เช่นเดียวกันในสถานะการลำเลียงขนส่ง 15 ตัว/ลิตร ปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำของปลาที่ได้รับ อาหารสูตร 2 (70% SBM) และสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100% MBP) ไม่แตกต่างจากชุด ควบคุม และพบว่าปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าสูงในปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจาก ฟิช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) สูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 %; 100% SBM) ในทุกสถานะ โดยผลของแหล่งโปรตีนในอาหารมีต่อปริมาณการขับถ่ายแอมโมเนียในระหว่างการ ขนส่ง ทำให้คุณภาพน้ำระหว่างการขนส่งลดลง โดยปลานิลแดงที่กินอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจาก ปลาป่น มีการขับถ่ายของเสีย ซึ่งอยู่ในรูปแอมโมเนียในโตรเจน มากกว่าปลาที่กินอาหารที่มีแหล่ง โปรตีนจากกากถั่วเหลือง และโปรตีนถั่วเขียว และอาหารผสมที่มีสัดส่วนของโปรตีนจากฟิชและ สัตว์ สอดคล้องกับ Walsh and Wright (1995) รายงานว่า ปริมาณไนโตรเจนที่สัตว์น้ำขับถ่าย แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ได้รับ และความไม่สมดุลทางโภชนา ซึ่งส่งผลเพิ่มผลภาวะ จากการสะสมของเสียประเภทไนโตรเจน เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท และของเสียประเภทฟอสฟอรัส ทั้งในดินและน้ำ เนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนที่ร่างกายสังเคราะห์แล้วจะอยู่ในรูปสารประกอบ อินทรีย์สะสมในเนื้อเยื่อบางส่วนจะถูกขับออกสู่แหล่งน้ำ ได้แก่ โปรตีน ยูเรีย และกรดยูริก (เปี่ยม ศักดิ์, 2538) ส่วนมูลของปลาประกอบด้วยอาหารที่เหลือจากการย่อยและสิ่งปดอมปนโดยเฉพาะ ไนโตรเจนในท่อทางเดินอาหารที่มาจากเอนไซม์ จุลินทรีย์และเซลล์เชื่อมุ้ชั้นในสุดของท่อทางเดิน อาหารประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาขึ้นกับองค์ประกอบของวัตถุดิบอาหารเป็นสำคัญ (Savitz, 1971) อัตราการขับถ่ายแอมโมเนียจะสูงขึ้นเมื่อมีการให้โปรตีนแก่ปลามากขึ้น ซึ่งปริมาณ แอมโมเนียที่สูงขึ้นนี้จะมีผลต่อการตายของสัตว์น้ำ (โชคชัย, 2548; เกรียงศักดิ์, 2549; Lin and Pan, 2004)

จากการศึกษาอัตราการรอดตายในการลำเลียงขนส่ง พบว่า ที่ความหนาแน่นในการลำเลียง 10 ตัว/ลิตร และปลาในสถานะปกติที่ไม่มีการขนส่ง สูตรอาหารที่ปลานิลแดงได้รับไม่มีผลกระทบต่อ อัตราการรอดตายในการขนส่ง โดยมีอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ยกเว้นปลา นิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (โปรตีนจากฟิช 0 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) เมื่อ เพิ่มความหนาแน่นในการลำเลียงเป็น 15 ตัว/ลิตร พบว่ามีเพียงปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) เท่านั้นที่ปลาไม่อัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการขนส่งปลานิลแดงที่กินอาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) อาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) และอาหารสูตร 4 (ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) พบว่าปลานิลแดงมีอัตราการรอดตายในการขนส่งต่ำ และมีความ แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ปริมาณ

แอมโมเนียรวมในน้ำระหว่างการขนส่งของทั้งสองความหนาแน่น สูงกว่า 0.91 พีพีเอ็ม ซึ่งไม่ปลอดภัยกับปลานิลแดง เนื่องจากพารามิเตอร์ที่มีผลต่ออัตราการตายระหว่างการลำเลียงขนส่งคือ ปริมาณออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และแอมโมเนีย สูตรอาหารปลานิลที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP) จากกากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5: 100% SBM) และจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) รวมทั้งในสูตรอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มนั่น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 100% MBP) พบว่า ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรดังกล่าวจะขับถ่ายของเสียออกมามากขณะลำเลียงขนส่ง จึงมีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย ทำให้ปลาเกิดความเครียดจากพิษของแอมโมเนีย รวมทั้งการอยู่หนาแน่นในภาชนะที่จำกัด การเคลื่อนที่ของมวลน้ำที่รุนแรงระหว่างการขนส่ง เมตาบอลิซึมที่สูงขึ้นทำให้ปลาหายใจเร็ว และมีความต้องการออกซิเจนมากกว่าปกติ ทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการขนส่งสูงขึ้น และปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในชุดการทดลองที่ปลานิลแดงได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 4: 0% PP)

นอกจากนี้ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จากการหายใจ มีผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำระหว่างการลำเลียงขนส่งลดต่ำลง และพบว่า ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในภาชนะลำเลียงอยู่ในช่วง 17.49-21.79 มิลลิกรัม/ลิตร (ที่ความหนาแน่น 10 ตัว/ลิตร) และ 22.11- 26.75 มิลลิกรัม/ลิตร (ที่ความหนาแน่น 15 ตัว/ลิตร) ซึ่งอยู่ระดับที่เป็นอันตรายต่อปลา โดยมีผลทำให้อัตรารอดในการขนส่งลดลง ($P < 0.01$) สอดคล้องกับ วิรัช (2544); โชคชัย (2548); เกรียงศักดิ์ (2549) ที่กล่าวว่า ปลาสามารถทนคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 60 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ แต่ถ้าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดต่ำลงเหลือ 3-5 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพียง 20 มิลลิกรัม/ลิตร ก็เป็นอันตรายกับสัตว์น้ำได้ เนื่องจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายอยู่ในน้ำระหว่างการลำเลียงขนส่งสูง จะส่งผลทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดไม่สามารถขับออกจากตัวปลาได้ จะกลายเป็นพิษโดยจะไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนออกซิเจนในกระบวนการหายใจของปลา และกล่าวว่า ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในเลือดและในน้ำระหว่างการขนส่งสูง ทำให้ปลาตายได้แม้จะมีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่ในน้ำในภาชนะลำเลียงสูงก็ตาม

Smart (1976, 1978) กล่าวว่า สาเหตุที่ทำให้ปลาตายมีหลายสาเหตุร่วมกัน คือแอมโมเนียมีผลต่อการควบคุมระบบขับถ่ายน้ำและเกลือแร่รวมทั้งทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซในเลือดผิดปกติ และแอมโมเนียเป็นสาเหตุให้พลังงานที่สำรองไว้ในสมองลดลงจนทำให้สมองทำงานผิดปกติ

แอมโมเนียในระดับความเข้มข้นต่ำๆ แม้จะไม่ทำให้ปลาตายแต่ก็มีผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาที่แสดงออกในรูปสารยับยั้งการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน โรคและสุขภาพของสัตว์น้ำ

จากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาหลังการขนส่งปลานิลแดง พบว่า ระดับแอมโมเนียในเลือด (blood ammonia) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยที่ความหนาแน่นในการลำเลียง 10 ตัว/ลิตร ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์; 0% PP) อาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) อาหารสูตร 6 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์; 100% MBP) และปลาที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: Ref diete) พบว่ามีระดับแอมโมเนียในเลือดสูง 73.970, 70.788, 70.545 และ 61.182 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ส่วนปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) และสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) พบว่ามีระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า 58.121 และ 57.030 เช่นเดียวกัน ที่ความหนาแน่นในการขนส่ง 15 ตัว/ลิตร ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: Ref diete) อาหารสูตร 6 (100% MBP) อาหารสูตร 5 (100% SBM) และอาหารสูตร 4 (0% PP) พบว่ามีระดับแอมโมเนียในเลือดสูง 83.848, 82.667, 80.939 และ 80.363 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) และสูตร 3 (70% MBP) พบว่ามีระดับแอมโมเนียในเลือดต่ำกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า 75.515 และ 76.910 ไมโครกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 34, 36 และ 38 โดยระดับแอมโมเนียในเลือดสูงขึ้นประมาณ 2 เท่า ในปลานิลแดงที่มีการลำเลียงขนส่ง ปริมาณแอมโมเนียที่สูงขึ้นในภาชนะลำเลียงมาจากการขับถ่ายของเสียของปลา โดยปลามีการขับถ่ายแอมโมเนียออกจากเลือดได้น้อย เนื่องจากต้องใช้พลังงานมากในการขับแอมโมเนียที่มีความเข้มข้นต่ำในเลือดออกสู่น้ำในภาชนะลำเลียงที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียที่สูงกว่า ทำให้ปลามีระดับแอมโมเนียในเลือดสูงขึ้นระหว่างการขนส่ง

ระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่า ปลานิลแดงในสถานะที่มีการลำเลียงขนส่งมีระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลงจากสถานะปกติ เนื่องจากขณะลำเลียงขนส่งปลาจะมีเมตาบอลิซึมสูงกว่าปกติ ทำให้ปลาใช้อัตราการใช้ ออกซิเจนสูงขึ้น (เกรียงศักดิ์, 2549) เมื่อปลาถูกรบกวนจากการเคลื่อนที่ของมวลน้ำ และอยู่อย่างหนาแน่นในภาชนะที่จำกัด ปลาจะเกิดความเครียดและกระตุ้นการใช้น้ำตาลของเซลล์ รวมทั้งปลาทดลองเป็นปลาที่ผ่านการอดอาหารมาแล้ว 2 วัน ซึ่งพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่ปลาอดอาหาร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลอง พบว่าอาหารปลานิลที่มีความสมดุลทางโภชนาการสูงและมีสัดส่วนของแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารมาก จะมีแนวโน้ม

ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ($P < 0.05$) เนื่องจากปลาเกิดความเครียดจากพิษของแอมโมเนีย ซึ่งสอดคล้องกับ Roche and Boge (1996) ที่กล่าวว่า ปลาจะมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นเมื่อเกิดความเครียด ซึ่งระดับน้ำตาลในพลาสมาที่ใช้เป็นพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงความเครียดของปลาได้นอกจากนี้ Lin and Pan (2004) รายงานว่า ปลานิลแดงขนาด 157.37 กรัม ที่ได้รับพิษจากแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด แต่ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นได้เมื่อปลาได้รับพิษอย่างต่อเนื่องมากกว่า 48 ชั่วโมง แม้มีความเข้มข้นต่ำเพียง 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร

สำหรับระดับโปรตีนทั้งหมดในซีรัม (total serum protein) พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ซึ่งมีค่าไม่แน่นอนตามสัดส่วนของแหล่งโปรตีนในอาหาร สอดคล้องกับ Agbede and Aletor (2003) ที่กล่าวว่า แหล่งของโปรตีนในอาหารและคุณภาพโปรตีนไม่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์โปรตีนทั้งหมดในซีรัม อัลบูมิน และ กลอบูลิน โดยขัดแย้งกับ Tewe (1985) ที่รายงานไว้ว่า โปรตีนทั้งหมดในซีรัม และอัลบูมิน จะได้รับอิทธิพลโดยตรงจากคุณภาพและปริมาณโปรตีนที่ได้รับจากอาหาร อย่างไรก็ตาม Keneko et al. (1997) กล่าวว่า ค่าโปรตีนทั้งหมดในซีรัมเป็นค่าที่แสดงถึงภาวะทางโภชนาการและการสูญเสียโปรตีนในเบื้องต้นได้ดี แสดงว่าปริมาณและคุณภาพโปรตีน และกรดอะมิโนในอาหารมีเพียงพอต่อความต้องการแม้ในสภาวะที่ปลามีความเครียด

ระบบภูมิคุ้มกันโรคจากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า ค่าอิมมูโนกลอบูลิน เอ็ม (immunoglobulin M; Ig M) ของปลานิลแดงหลังจากการขนส่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ค่า Ig M สูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งโปรตีน (สูตร 4: 0% PP) และค่า Ig M ลดลงตามสัดส่วนที่น้อยลงของปลาป่นในสูตรอาหาร และพบว่า การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 5 100% SBM) ไม่มีผลต่อค่า Ig M แต่การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 6: 100% MBP) มีผลให้ค่า Ig M เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในสูตรที่มีแหล่งโปรตีนจากพืชในสัดส่วนเดียวกัน พบว่าสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง ทำให้ปลามีค่า Ig M สูงกว่าสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น สำหรับค่า immunoglobulin M (Ig M) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ป้องกัน เป็นแอนติบอดีสำหรับต่อสู้กับเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมจากภายนอก ซึ่งมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับกระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) และสัมพันธ์กับอัตราการขับถ่ายแอมโมเนียในน้ำระหว่างการ

ลำเลียงขนส่ง โดยปลานิลแดงจะมีการขับถ่ายแอมโมเนียออกมามาก จนปลาเกิดความเครียดและมีการใช้ออกซิเจนในปริมาณสูง เมื่อปลาอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีสารพิษจะมีการสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้น ซึ่ง Lin and Pan (2004) รายงานว่า ในปลานิลแดงที่ได้รับพิษของแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวจะเพิ่มจำนวนขึ้นจาก 17.57×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เป็น 23.26×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เช่นเดียวกับ Fournie *et al.* (2001) รายงานว่า แมคโครฟาจของปลาที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรม มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ หรือปนเปื้อนตะกอนดินสูง จะพบเซลล์แมคโครฟาจมารวมกลุ่มกันเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการรวมกลุ่มของเซลล์แมคโครฟาจในปลาที่มีกระดูกสันหลัง มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบ humoral และเป็นการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมบางประการ (Raa, 1996) เช่นเดียวกับ Douglas *et al.* (2005) ได้ใช้การรวมกลุ่มของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage aggregation) ในปลา rock bass (*Ambloplites rupestris*) เป็นดัชนีทางชีววิทยาเพื่อบ่งชี้ถึงสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนตะกอนและสารอินทรีย์ในปริมาณสูง

นอกจากนี้ ยลประภา (2547) ได้ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาตะเพียน (*Barbodes gonionotus* Bleeker) ในบ่อดินที่มีการเตรียมบ่อเลี้ยงแตกต่างกัน พบว่า ปลานิลและปลาตะเพียนที่เลี้ยงในบ่อที่มีการเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การกลืนทำลาย (phagocytosis) ของเซลล์แมคโครฟาจจากไตส่วนต้นต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงในบ่อที่ไม่มีการเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.0008$) ซึ่งเป็นบ่อที่มีปริมาณค่าเฉลี่ยของแบคทีเรียในกลุ่ม *Aeromonads* สูงสุด และกล่าวว่า พิเศษของน้ำ ความเป็นด่าง และความโปร่งแสงของน้ำ ไม่มีความเกี่ยวข้องกับอัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจ แต่คุณภาพน้ำอย่างอื่น ได้แก่ แอมโมเนีย ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และปริมาณตะกอนดินอาจมีผลต่ออัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจของปลานิลและปลาตะเพียนได้

ความต้านทานต่อเชื้อโรค จากการศึกษาความต้านทานต่อเชื้อโรคภายหลังการขนส่ง โดยการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยการแช่ เป็นเวลา 10 วัน พบว่า อัตรารอดตายของปลานิลแดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่า ปลานิลแดงในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีความต้านทานต่อเชื้อโรคได้ดีกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเชิงการค้า (ชุดควบคุม; Ref diet) อาหารสูตร 2 (70% SBM) อาหารสูตร 3 (70% MBP) อาหารสูตร 5 (100% SBM) และอาหารสูตร 6 (100% MBP) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า คุณภาพของโปรตีนและปริมาณของกรดอะมิโนในปลาป่นมีคุณภาพสูงกว่าในกากถั่วเหลือง

และในโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น ตามลำดับ นอกจากนี้ กรดอะมิโนอาร์จินีนที่มีปริมาณสูงในปลาป่น เป็นกรดอะมิโนที่สำคัญโดยเป็นสารตั้งต้นของกรดอะมิโนซิดูรีนในระบบภูมิคุ้มกันโรค ซึ่งซิดูรีนจะชักนำให้ฟาโกไลโซโซม (phagolysosome) ที่อยู่ภายในเซลล์แมคโครฟาจ ให้สังเคราะห์ ไนตริก ออกไซด์ ส่งออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอมได้ดี (Bansal and Ochoa, 2003) ดังนั้นปลานิลแดงในกลุ่มที่ได้รับอาหารในสูตรที่มีสัดส่วนโปรตีนจากปลาป่นสูง จึงทำให้ปลานิลแดงมีความต้านทานต่อเชื้อโรคภายหลังการขนส่งได้ดีกว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารในกลุ่มอื่นๆ

2.3 ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะอนุบาล

การผลิตอาหารปลานิลเพื่อการอนุบาลลูกปลาหลังจากการแปลงเพศในการทดลองครั้งนี้พบว่า ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีน (สูตร 4: 0% PP) มีต้นทุนการผลิตสูงสุด 24.61 บาท/กิโลกรัม ส่วนต้นทุนการผลิตอาหารอนุบาลปลานิลสูตร 2 (กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% SBM) อาหารสูตร 3 (โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์; 70% MBP) อาหารสูตร 5 (กากถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์; 100% SBM) และอาหารสูตร 6 ที่ใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (100% MBP) เป็นแหล่งโปรตีนในอาหาร มีต้นทุนการผลิตใกล้เคียงกัน คือ 19.39, 18.38, 18.07 และ 16.50 บาท/กิโลกรัม ต่ำกว่าราคาอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้าในท้องตลาดซึ่งมีราคา 21.25 บาท/กิโลกรัม และพบว่า ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 4 (0% PP) สูตร 6 (100% MBP) สูตร 3 (70% MBP) และสูตร 5 (70% MBP) ให้ผลผลิตต่อกระชังสูง โดยมีผลกำไรเบื้องต้น 535.59, 450.43, 382.85 และ 357.30 บาท/กระชัง ตามลำดับ สำหรับปลานิลแดงที่ได้รับอาหารสูตร 2 (70% SBM) และได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (สูตร 1: Ref diet) พบว่าให้ผลผลิตและกำไรต่อกระชังต่ำ คือ 173.17 และ 165.10 บาท/กระชัง ดังตารางที่ 39

ตารางที่ 39 ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลระยะอนุบาลและรายได้ต่อกระชังในการอนุบาลปลานิลแดง

วัตถุดิบ	ราคาวัตถุดิบ	สูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาล					
	ต.ค. 2552	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6
	(บาท/กก.)	(Ref diet)	(70% SBM)	(70% MBP)	(0% PP)	(100% SBM)	(100% MBP)
ปลาป่น 55 % โปรตีน (กก.)	36.00	-	16.00	16.00	53.00	0.00	0.00
กากถั่วเหลือง 48 % โปรตีน (กก.)	19.50	-	42.85	0.00	0.00	60.75	0.00
โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น (กก.)	22.00	-	0.00	30.00	0.00	0.00	43.00
ข้าวโพด (กก.)	10.00	-	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
รำสัสด (กก.)	9.00	-	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
มันสำปะหลัง (กก.)	6.60	-	3.70	16.92	10.50	0.00	17.75
น้ำมันปลา (กก.)	80.00	-	0.00	0.00	0.00	2.25	1.75
น้ำมันถั่วเหลือง (กก.)	32.00	-	2.45	2.00	2.00	0.00	0.00
พรีมิกซ์ (กก.)	200.00	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ไคแคลเซียมฟอสเฟต (กก.)	9.00	-	1.50	1.58	1.00	3.50	4.00
น้ำหนักรวม (กก.)	-	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กก.)	-	21.25	19.39	18.37	24.61	18.07	16.50
ผลผลิตปลานิลแดง/กระชัง 10 ตารางเมตร อัตราปล่อย 800 ตัว ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์							
อัตราการรอด (%)		70.92	62.58	70.88	77.17	73.46	76.92
ปริมาณอาหารที่ให้ (กก./กระชัง) [FCR]		7.873 [1.028]	7.948 [1.028]	8.588 [0.922]	8.674 [0.839]	8.261 [0.982]	8.173 [0.904]

ตารางที่ 39 (ต่อ)

รายการ	สูตรอาหารปลานิลระยะอนุบาล					
	สูตร 1 (Ref diet)	สูตร 2 (70% SBM)	สูตร 3 (70% MBP)	สูตร 4 (0% PP)	สูตร 5 (100% SBM)	สูตร 6 (100% MBP)
ปลานิลเกรด เอ น้ำหนักเฉลี่ย > 25 กรัม (% / กระชัง)	4.91	15.95	15.54	22.62	11.82	8.66
มูลค่าปลานิลเกรด เอ ในราคา 4.53 บาท/ตัว (บาท/กระชัง)	126.19	361.73	399.17	632.60	314.67	241.40
ปลานิลเกรด บี น้ำหนักเฉลี่ย 20-25 กรัม (% / กระชัง)	17.69	21.95	26.89	21.65	20.19	26.32
มูลค่าปลานิลเกรด บี ในราคา 3.48 บาท/ตัว (บาท/กระชัง)	343.55	382.42	530.62	465.13	412.91	563.63
ปลานิลเกรด ซี น้ำหนักเฉลี่ย < 20 กรัม (% / กระชัง)	77.40	62.10	57.57	55.73	67.99	65.02
มูลค่าปลานิลเกรด ซี ในราคา 2.30 บาท/ตัว (บาท/กระชัง)	1,010.01	715.06	750.82	791.33	919.00	920.25
รายได้รวม (บาท/กระชัง)	1,480.47	1,459.21	1,680.61	1,889.06	1,646.58	1,725.28
ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กระชัง)	167.30	154.11	157.76	213.47	149.28	134.85
ต้นทุนค่าลูกพันธุ์ปลา (บาท/กระชัง)	440	440	440	440	440	440
ต้นทุนค่าจัดการด้านการเลี้ยง (บาท/กระชัง)	700	700	700	700	700	700
กำไรเบื้องต้น (บาท/กระชัง)	173.17	165.10	382.85	535.59	357.30	450.43

หมายเหตุ สูตร 1: อาหารเม็ดสำเร็จรูปเชิงการค้า (ควบคุม: Ref diet); สูตร 2: กากถั่วเหลือง 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% SBM); สูตร 3: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 % ต่อ ปลาป่น 30 % (70% MBP); สูตร 4: โปรตีนจากพืช 0 % ต่อ ปลาป่น 100 % (0% PP); สูตร 5: กากถั่วเหลือง 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% SBM) และสูตร 6: โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 100 % ต่อ ปลาป่น 0 % (100% MBP)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การทดลองที่ 1: ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในอาหารปลานิล ระยะแปลงเพศต่อการเจริญเติบโต คุณภาพการแปลงเพศ การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังการขนส่ง

การผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศเชิงการค้าเมื่อใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ปลานิลระยะแปลงเพศ (สูตร 1: 0% MBP) มีประสิทธิภาพสูงสุดต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดในการอนุบาล ประสิทธิภาพและคุณสมบัติของโปรตีน และเปอร์เซ็นต์การกระจายขนาดของ น้ำหนักตัวในขนาดที่ตลาดต้องการสูง รวมทั้งลูกปลามีอัตราการแปลงเพศ 100 เปอร์เซ็นต์

สามารถทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นในสูตรอาหารปลานิลระยะแปลงเพศ ได้ไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาหารสูตร 2 (25% MBP) มีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารปลานิลเพื่อการผลิตลูกปลานิลแดงแปลงเพศเชิงการค้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อพิจารณาจากคุณค่าทางโภชนาการต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดในการอนุบาล คุณภาพโปรตีน ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน คุณภาพการแปลงเพศ และสารอาหารต่ออัตราการรอดตายและสุขภาพที่ดีของลูกปลาในการขนส่ง ตลอดจนต้นทุนการผลิตอาหาร พบว่าไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 1; 0% MBP)

ปริมาณการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำหลังการขนส่ง มีค่าลดลงเมื่อใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงขึ้น ($P < 0.01$) ลูกปลานิลแดง ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม/ตัว ที่ใช้ทดลองลำเลียงขนส่ง มีค่า 24 hr- LC_{50} ของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวม เท่ากับ $40.660 \text{ mg/l total NH}_3\text{-N}$ และค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย เท่ากับ $0.406 \text{ mg/l total NH}_3\text{-N}$ ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 ปริมาณแอมโมเนียในภาชนะลำเลียงหลังการขนส่งอยู่ในระดับที่ไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพลูกปลานิลแดง เพราะมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย จึงมีผลต่ออัตราการรอดตายในการขนส่ง สำหรับความต้านทานเชื้อโรคหลังการลำเลียงขนส่ง มีค่าลดลงเมื่อใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ($P < 0.01$)

การทดลองที่ 2: ศึกษาสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในอาหารปลานิลระยะอนุบาลต่อการเจริญเติบโต การจับถ่ายแอมโมเนีย และความต้านทานโรคของปลานิลแดง หลังการขนส่ง

การใช้กากถั่วเหลืองหรือโปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนสามารถทดแทนปลาป่นได้ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลานิล โดยไม่มีผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโต อัตรารอดในการอนุบาล ประสิทธิภาพของอาหารและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพดีไม่แตกต่างจากกากถั่วเหลืองจึงสามารถใช้ได้ไม่จำกัดในสูตรอาหารและสามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิลระยะอนุบาล ดังนั้น การอนุบาลลูกปลานิลแดงแปลงเพศเพื่อให้ได้เป็นปลานิลแดงระยะปลานิว การใช้กากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 2: 70% SBM) และการใช้โปรตีนถั่วเขียวเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตร 3: 70% MBP) ในสูตรอาหารมีความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารอนุบาลปลานิลแดงเชิงการค้าได้ โดยทำให้ปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตดี และให้ผลผลิตและกำไรต่อกระชังไม่แตกต่างกับการใช้ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร

นอกจากนี้ แหล่งของโปรตีนและความสมดุลทางโภชนาในอาหารมีผลต่อการจับถ่ายแอมโมเนียในน้ำระหว่างการขนส่ง จากผลการทดสอบความทนทานต่อพิษของแอมโมเนียในรูปแอมโมเนียรวมของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม/ตัว ซึ่งเป็นปลาที่ใช้ในการทดลองลำเลียงขนส่ง พบว่า ที่อุณหภูมิ 26.32 องศาเซลเซียส พีเอช 7.78 มีค่า 24 hr- LC_{50} เท่ากับ 91.000 พีพีเอ็ม ค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย 0.910 พีพีเอ็ม และพบว่า ปริมาณแอมโมเนียในน้ำหลังการลำเลียงขนส่งไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพปลานิลแดง เพราะมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย ซึ่งมีผลกระทบต่อเนื่องถึงอัตราการตายในการขนส่ง ค่าโลหิตวิทยา ระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานต่อเชื้อโรครายหลังการขนส่งให้ลดลง สูตรอาหารปลานิลในชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้เป็นอาหารอนุบาลลูกปลานิลเชิงการค้า และการใช้อาหารที่มีสัดส่วนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชต่อวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากสัตว์ ในสัดส่วน 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร จะช่วยลดปริมาณแอมโมเนียและการจับถ่ายของเสียในภาชนะลำเลียงลงได้ มีผลให้อัตราการรอดตายในการขนส่ง ความต้านทานต่อเชื้อโรครายหลังการขนส่ง ดีกว่าการเลือกใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชหรือโปรตีนจากสัตว์เพียงแหล่งเดียว

ข้อเสนอแนะ

1. โพรตีนถั่วเขียวเข้มข้นเมื่อได้รับความชื้นจากการผสมกับสารละลายฮอโมนที่มีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย จะเกิดความเหนียวและจับตัวเป็นก้อน เมื่อนำมาทดแทนปลาป่นในระดับที่สูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ทำให้อาหารผสมฮอโมนจับตัวเป็นก้อน และจมตัวในน้ำ เมื่อนำไปใช้เป็นอาหารปลานิลเพื่อการแปลงเพศ จะเกิดปัญหาการหมักหมมของอาหารที่ก้นกระชัง และปัญหาแอมโมเนียสูง
2. โพรตีนถั่วเขียวเข้มข้น เมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการเจลาตินและมีความเหนียว ใช้เป็นสารเหนียวในสูตรอาหารได้ แต่เมื่อใช้ในระดับสูงในสูตรอาหาร เช่น สูตร 6 (100% MBP) จะทำให้เกิดปัญหาในกระบวนการอัดเม็ดโดยอาหารจะเหนียวและติดหน้าแว่น
3. ควรให้ลูกปลานิลแดงอดอาหาร โดยการพักปลาในน้ำที่ผ่านระบบกรองแพลงก์ตอนโดยพักปลาในกระชังหรือในบ่อคอนกรีต เพื่อให้ปลาขับถ่ายของเสียก่อนการลำเลียงขนส่ง อย่างน้อย 24 ชั่วโมง สำหรับลูกปลานิลแดงแปลงเพศ และ 48 ชั่วโมง สำหรับปลานิลแดงระยะปลานีว จะดีกว่าการให้ปลาอดอาหารโดยการพักปลาในกระชังบ่อดิน เพราะขณะที่พักปลา ปลายังคงได้รับอาหารจากแพลงก์ตอนในธรรมชาติ ทำให้เกิดปัญหาแอมโมเนียและของเสียจากสิ่งขับถ่ายของปลาในภาชนะขณะลำเลียงขนส่ง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2526. **ปลานิลสีแดง**. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

_____. 2541. **คู่มือการเพาะเลี้ยงปลานิลเพศผู้สายพันธุ์จิตรลดา 2**. สถาบันวิจัยและพัฒนา
พันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

_____. 2548. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2548**. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการ
ประมง, ศูนย์สารสนเทศ, กรมประมง. แหล่งที่มา: <http://www.fisheries.go.th/it2D%stat/>,
25 มกราคม 2551.

กลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ. 2534. **อาหารสัตว์น้ำ**. เอกสารเผยแพร่ฝ่ายฝึกอบรม, กองส่งเสริมประมง
กรมประมง, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

กิจการ สุขมาตย์, อุษณีย์ เอกปนิธานพงศ์, T. Itami และ จิราพร เกสรจันทร์. 2543. ระบบ
ภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: I. เทคนิคในการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันโรคและองค์ประกอบ
เลือดในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (พิเศษ):
567-580.

เกรียงไกร สีตะพันธุ์ และ วารางคณา พระคุณ. 2549. **การโตของปลานิล ปลาหมอเทศ และปลา
นิลแดง**. สำนักวิชาเกษตร ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยนเรศวรวิทยา
เขตสารสนเทศพะเยา.

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2549. **วิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากร
น้ำ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. แหล่งที่มา: [http://www.coursewares.mju.ac.th/
section2/fa301/Chapter1.htm](http://www.coursewares.mju.ac.th/section2/fa301/Chapter1.htm), 29 มีนาคม 2551.

จรัญ จันทลักษณ์. 2547. **สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย**. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์ไทย
วัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

จินตนา อูปติสสกุล, อรอนงค์ นัยวิกุล และ สมชาย ประภาวัต. 2538. การใช้ประโยชน์จาก ถั่วเขียว, น. 348-363. ใน รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียว ครั้งที่ 6. ศูนย์วิจัยพืชไร่ ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

จิระศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 2551. การเลี้ยงและโรคที่พบในปลานิลที่เลี้ยงในประเทศไทย. น. 10-23. ใน รายงานสัมมนาวิชาการเรื่องรู้ทันปัญหาสุขภาพและการเลี้ยงปลานิล. คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

จุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์, จำเริญศรี พวงแก้ว, จุอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ กิจการ สุขมาตย์. 2551. ผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกัน โรคจากเชื้อ *Streptococcus sp.* ใน ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch, 1790). วารสารการประมง 61 (4): 334-343.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2548. เอกสารประกอบการสอนวิชาโรคปลา. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ, มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 142 น.

ชัยภูมิ บุญชาศักดิ์. 2548. การใช้โปรตีนและกรดอะมิโนในสัตว์กระเพาะเดี่ยว. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชาญณรงค์ รอดคำ. 2551. โรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. น. 35-44. ใน รายงานสัมมนาวิชาการเรื่องรู้ทันปัญหาสุขภาพและการเลี้ยงปลานิล. คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

โชคชัย เหลืองธูปราณีต. 2548. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ โพธิ์เพชร, กรุงเทพฯ.

ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ. 2540. การศึกษาฟิล์มที่รับประทานได้จากโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นวลมณี พงศ์ธนา, พุทธิรัตน์ เป้าประเสริฐกุล และ บัญชา ทองมี. 2538. การจำแนกเพศปลานิล. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 3. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง.

นวลมณี พงศ์ธนา, สายฝน เสี่ยงหวาน และ จินตนา นิชรรม. 2547. ผลของการใช้ฮอร์โมนแอนโดรเจนในการแปลงเพศปลานิล. วารสารการประมง ปีที่ 57 (3): 251-259.

นันทิยา อุ่นประเสริฐ, มะลิ บุญยรัตผลิน และ ถาวร สินธุเสน. 2530. ผลของระดับโปรตีนต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราการแลกเนื้อของลูกปลานิลสีแดง, น. 45-51. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี, 2530. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

นิลนิต กิจอันเจริญ, ชุติมา หาญจวนิช และ นงนุช สุวรรณเพ็ง. 2549. ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. วารสารวิจัย มข. 11 (1): 53-61.

นเรศ ช้วนยุค, หิรัญ กังแฮ, เรวัตร คงประดิษฐ์ และ กิจการ สุขมาตย์. 2548. โรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). วารสารสงขลานครินทร์ วทท. ปีที่ 27 (ฉบับพิเศษ 1): 307-319.

บรรเจิด สอนสุภาพ. 2546. การใช้ประโยชน์จากอาหารและการขับถ่ายในโตรเจนและฟอสฟอรัสของปลานิลแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปกรณ อุ่นประเสริฐ. 2541. การเลี้ยงปลาหมอเทศ. [ออนไลน์], แหล่งที่มา: http://www.ku.ac.th/2agri/f_mor/index1.html, 28 มิถุนายน 2550.

เปี่ยมศักดิ์ มานะเสวต. 2538. แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 318 น.

พจนา สีมันตร. 2536. การใช้ประโยชน์จากโปรตีนถั่วเขียวในการผลิตอาหารว่างชนิดพองตัวโปรตีนสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พงศ์สันต์ อรุณสินทวีพร. 2548. การพัฒนาโปรตีนถั่วเขียวสำหรับการใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรรณศรี จริโมภาส. 2531. ปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทย. วารสารการประมง 1: 41-43.

เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม. 2531. ถั่วเขียว. พิมพ์ครั้งที่ 1. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพ, กรุงเทพฯ.

มลศิริ วิโรทัย. 2544. อุตสาหกรรมแปรรูปอาหารขนาดกลางและขนาดย่อม. พัฒนาคุณภาพวิชาการ, กรุงเทพฯ. 128 น.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, สุภัทรา อุไรวรรณ และ พรรณศรี เชิดชูพันธุ์. 2527. ปลานิลสีแดง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง. 20 น.

_____, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัลวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และ วิมล จันทรโรทัย. 2536. การพัฒนาการเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ. 96 น.

ชลประภา ดำรงผล. 2547. ผลของการเตรียมบ่อเลี้ยงปลาต่ออัตราการกลืนทำลายของเซลล์แมคโครฟาจ จากไตส่วนต้นในปลานิลและปลาดุก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัชต์ ชัดติยะ และ ดวงพร พิษผล. 2550. การแยกเชื้อแบคทีเรีย สเตรปโตคอคคัส อินีเอ ที่ก่อโรคจากปลานิลพันธุ์ผสมในกระชังเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. ณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เรณู ว่องส่งสาร. 2537. การแปลงเพศปลานิลในกระชัง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 41/2537. ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดอุดรธานี.

เรณู ว่องส่งสาร และ นพนันท์ อยู่รอง. 2549. คู่มือการผลิตปลานิลแปลงเพศ. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุดรธานี, กองประมงน้ำจืด, กรมประมง, อุดรธานี. 35 น. แหล่งที่มา: <http://www.fisheries.go.th/if-udonthani>, 28 มีนาคม 2551.

วิจิตรา กุลตังวัฒนา. 2529. การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลานิลสีแดง.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิมล จันทรโรทัย. 2536. อาหารสัตว์น้ำ. ความก้าวหน้าของการศึกษาความต้องการสารอาหารของปลาและกุ้ง. น. 99-106. ใน 50 ปี คณะประมง. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิรัช จิวแหยม. 2544. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และ K.L. Wee. 2532. การทดแทนโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตในอาหารปลานิลแดง. น. 381-393. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27 (สาขาสัตวแพทย์และประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมจิต เพิ่มทรัพย์. 2529. คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์ของถั่วเขียวทั้งเมล็ด, สตาร์ช และโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเขียวสายพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมชาย จอมดวง. 2526. การผลิตและการทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์ถั่วเขียวและถั่วเหลือง.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, วิบูลย์ พิมพ์พันธ์, นภาพร บานชื่น, ทศนีย์ สุโกศล, ชารารักษ์ ชารากุล, ศัลสนีย์ เสนะวงส์ และ ศิริเลิศ ทรงศิริวิไล. 2537. อิมมูโนวิทยา. เคมีพรินติ้ง, กรุงเทพฯ.

สุปราณี ชินบุตร, กัลยา จำเริญรัตน์ และ ชะลอ ลิ้มสุวรรณ. 2536. เนื้อเยื่อของปลาช่อน. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- เสถียรพงษ์ ขาวหิโต. 2550. การใช้อาหารต่างชนิดกันต่อประสิทธิภาพการแปลงเพศ การเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนในลูกปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อดิสร กฤษณวงศ์. 2542. การพัฒนาสายพันธุ์ปลาตะเพียนและการจัดการด้านการเลี้ยง. บริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)
- อรพิน ชัยประสพ. 2531. การปรับปรุงสมบัติการใช้ประโยชน์ของโปรตีนถั่วเหลืองและถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรพินท์ จินตสถาพร. 2550. วิชาอาหารสัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรุณี สมมณี และ รัชณี จิตาพิทย. 2546. ผลของการขาดวิตามิน C ต่อการเจริญเติบโต การตาย และลักษณะผิดปกติของปลานิล. วารสารการประมง 56 (1): 29.
- อำพล พงศ์สุวรรณ และ อารีย์ สิทธิมงคล. 2532. คู่มือการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. โครงการพัฒนาประมงภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. กรมประมงและองค์การช่วยเหลือรัฐบาลแคนาดา.
- Abdalla, A.A.F. and C.D. McNabb. 1998. Acute and sublethal growth effects of un-ionized ammonia to Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, pp. 35-44. In D. Randall and D. MacKinley, eds. **Nitrogen Production and Excretion in Fish**. International Congress on the Biology of Fish, Symposium Proceeding, July 27-30, 1998.
- Agbede, J.O. and V.A. Aletor. 2003. Evaluation of fish meal replaced with leaf protein concentrate from gyricidia in diets for broiler chicks: effect on performance, muscle growth, haematology and serum metabolite. **Int. J. Poult. Sci.** 4: 242-250.

Anadu, D.I., O.C. Anozie and A.D. Anthony. 1990. Growth response of tilapia zillii feed diets containing various levels of ascorbic acid cobalt chloride. **Aquaculture** 88: 329-336.

Ananichev, A.V. 1959. Digestive enzymes of fish and seasonal changes in their activity. **Biochemistry** 24: 952-958.

Anantraksakul, P. 1989. **Protein Recovery from Mung Bean Vermicelli Industry by Ultrafiltration**. Asain Institute of Technology Thesis, Bangkok.

Anderson, J., A.J. Jackson, A.J. Matty and B.S. Capper. 1984. Effect of dietary carbohydrate and fiber on the tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn). **Aquaculture** 37: 303-314.

Anwar, M.F. and A.K. Jafri. 1995. Effect of varying dietary lipid levels on growth, feed conversion, nutrient retention and carcass composition of catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Asian Fish. Soc.** 8 (1): 55-62.

A.O.A.C. 2000. **Official Method of Analysis of the Association of the Official Analysis Chemists**. 17th eds., Association of Official Analysis Chemists, Inc., Arlington, Virginia.

APHA. 1998. **Standard Method for Examination of Water and Wastewater**. 20th Edition. American Public Health Association, American Water Work Association, and Water Pollution Control Federation. Washington D.C., USA.

Bancroft, J.D. 1967. **Histochemical Techniques** (2nd edition). Butterworths, London.

Bansal, V. and J.B. Ochoa. 2003. Arginine availability, arginase, and the immune response. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**. 6: 223-228.

- Bart, A.N., A.R.S.B. Athauda, M.S. Fitzpatrick and W.M. Contreras-Sanchez. 2003. Ultrasound enhanced immersion protocols for masculinization of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **J. World Aqua. Soc.** 34 (2): 210-216.
- Benli and Koksall. 2003. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. **Turk J. Vet. Anim. Sci.** 29 (2005): 339-344.
- Bennetau-Pelissero, C., B. Breton, B. Bennetau, F. Le Menn and S.J. Kaushick. 2002. Effect of genistein enriched diet on the sex steroid endocrinology and reproduction efficiency of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Reveu de Medicine Veterinaire.** 155: 513-516.
- BioMerieux. 2002. **API 20E Identification System for Enterobacteriaceae and other Non-fastidious Gram-negative Rods.** BioMerieux, Inc., France.
- Bocek, A., R.P. Phelps and T.J. Popma. 1992. Effect of feeding frequency on sex-reversal and on growth on Nile tilapia, *Oreochomis niloticus*. **J. Appli. Aqua.** 1 (3): 97-103.
- Bocek, A. 2001. **Water Harvesting and Aquaculture for Rural Development: Transporting Fish.** International Center for Aquaculture and Aquatic Environments. Auburn University.
- Boorman, K.N. 1979. Regulation of protein and amino acid intake, pp. 87-126. *In* K.N. Boorman and B.M. Freeman, eds. **Food Intake Regulation in Poultry.** British Poultry Science Ltd., Symposium XIV. Edinburgh, Scotland.
- Bowen, S.H. 1982. Feeding digestion and growth qualitative considerations. pp. 141-156. *In* R.S.V. Pullin, R. H. Lowe-McConell, eds. **The Biology and Culture of Tilapia. ICLARM Conference Proceedings 7.** International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

Boyd, C.E. and C.S. Tucker. 1992. **Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture**. Alabama, Auburn University.

Brockway, D.R. 1950. Metabolic products and their effect. **Prog. Fish. Cult.** 12: 127-129.

Burrow, R.E. 1964. Effects of accumulated excretory products on hatchery reared salmonids. **Bureau of Spot Fisheries and wildlife Research Report.** 66: 1-11.

Chang, S.L., Huang, C.M. and I.C. Liao 1988. Effects of various feeds on seed production by Taiwanese red tilapia. In R.S.V. Pullin, T. Rhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean, eds. **Proceedings of the 2nd International Symposium on Tilapia in Aquaculture.** ICLARM. Bangkok, Thailand.

Chou, B.C. and S.Y. Shiau. 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Aquaculture** 143: 185-195.

Coffmann, C.W. and V.V. Garcia. 1977. Functional properties and amino acid content of protein isolate from mungbean flour. **J. Food Technol. (U.K.).** 12: 473-485.

Cowey, C.B. and J.R. Sargent. 1979. Nutrition, pp. 1-96. In W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett, eds. **Fish Physiology.** Vol. 8. Academic Press, New York.

Croz, E.M. and I.L. Laudencia. 1977. Protein requirements of *Tilapia mossambica* fingerlings, Kalikason Philip. **J. Fish. Biol.** 692: 177-182.

Daisy, E.K. 1979. **Food Legumes.** London Tropical Products Institute. pp. 207.

Daud, S.K., Hasbollah, D. and Law, A.T. 1988. Effects of un-ionised ammonia on red tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus* Hybrid). **The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture.** Bangkok, Thailand. 1988; 15: 411-413.

- Davis, A.T. and R.R. Stickney. 1978. Growth responses of *Tilapia aurea* to dietary protein quality and quantity. **Trans.Am. Fish. Soc.** 107 (3): 479-483.
- De Oca, G.A.R.M. 2005. **Evaluation of Dietary Phytochemicals on Sex Differentiation and Growth in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Ph.D. Thesis, Ohio State University, USA.
- De Silva, S.S. and T.A. Anderson. 1995. **Fish Nutrition in Aquaculture**. Chapman and Hall, London.
- Duh, P. D., P. D. Du and G. C. Yen. 1999. Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. **Food Chem. Toxicol.** 37: 1055-1061.
- Duke, J.A. 1981. **Handbook of Legumes of World Economic Importance**. Plenum Press, New York.
- Duke, J.A. 1983. **Handbook of Legumes of World Economic Importance**. Plenum Press, New York. pp. 275-278.
- Douglas, E.F., V.S. Blazer, M.M. Gasper and C.L. Turcotte. 2005. Using fish biomarkers to monitor improvements in environmental quality. **J. of Anim. Health.** 17: 263-266.
- Ellis, A. E. 1988. Ontogeny of the immune system in teleost fish, pp. 20-31. *In* A. E. Ellis (ed). **Fish Vaccination**. Academic Press, London.
- El-Sayed, A.M. and S.Teshima. 1992. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fry. **Aquaculture** 103: 55-63.

- Eurell, J.A. and W.E. Haensly. 1982. The histology and ultra structure of the liver of Atlantic croaker, *Micropogon undulates* L. **J. Fish Biol.** 21: 113-125.
- Evans, J.J. and D.J. Pasnik. 2006. Identification and epidemiology of *Streptococcus iniae* and *S.agalactiae* in tilapia *Oreochromis spp.*, pp. 25-42. **In Proceeding 7th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.** September 6-8, 2006.
- Fange, R. and D. Grove. 1979. Digestion, pp. 162-241. *In* W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett, eds. **Fish Physiology.** Vol. 8. Academic Press, New York.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2008. **Yearbook; Fishery Statistic Catches and Landing.** Fishery Statistic Bulletin for the South China Sea Area, Rome: FAO.
- FAO/UNDP. 1980. **Fish Feed Technology.** FAO/UNDP. Training Course at University of Washington.
- Fitzsimmons, K.M. 2007. A good year for tilapia producers and consumers in 2007. **Aquaculture Asia Pacific** 4 (4): 24-25.
- Fournie, J.W., J.K. Summers, L.A. Courtney and V.D. Engle. 2001. Utility of splenic macrophage aggregates as a indicator of fish exposure to degraded environments. **J. of Anim. Health.** 13: 105-116.
- Gale, W.L., M.S. Fitzpatrick, M. Lucero, W.M. Contreras-Sanchez and C.B. Schreck. 1999. Masculinization of nile tilapia *Oreochromis niloticus* by immersion in androgens. **Aquaculture** 178: 349-357.
- Gatlin, D.M. and R.R. Stickney. 1982. Fall-winter growth of young of channel catfish in response to quantity and source of dietary lipid. **Trans. Am. Fish. Soc.** 111: 90-93.

- Geer, T.S. and K. Singh. 2005. **Training Course on Tilapia Seed Production**. Mon Repos Freshwater Aquaculture Demonstration Farm and Training Centre, Mon Repos, East Coast Demerara, Guyana; FAO and CIDA.
- Goda, A.M.A-S., M.E. Wafa, E.R.El-Haroun and M.A.K. Chowdhury. 2007. Growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) and tilapia galilae *Sarotherodon galilaeus* (Linnaeus, 1758) fingerlings fed plant protein-based diets. **Aquaculture Research** 38 (8): 827-837.
- Grasshoff, K. 1976. **Methods of Seawater Analysis**. Verlag Chemie, New York.
- Groman, D.B. 1982. **Histology of the Striped Bass**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 116 p.
- Guimarães, A.T.B., H.C. Silva de Assis, and W. Boeger. 2007. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 68: 57-62.
- Halver, J.E. and R.W. Hardy. 2002. **Fish Nutrition**. Academic Press, Inc., New York.
- Halver, J.H. 1989. **Fish Nutrition**. (2nd ed.), Academic Press, Inc., New York.
- Harper, A.E., Benvenaga, N.J. and Wohlhueter, R.M. 1970. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. **Physiol. Rev.** 50:428-543.
- _____. and Q.R. Rogers. 1965. Amino acid diets and maximal growth in the rat. **J. Nutri.** 87: 267-73.

- Hartley, A.G. 2001. **Comparison of Open and Closed Commercial Transportation System for Mono-sex Tilapia Fry (*Oreochromis niloticus*), in Thailand.** M.Sc. Thesis, University of Stirling, Scotland.
- Helferich, W.G., J.E. Andrade and M.S. Hoagland. 2008. Phytoestrogens and breast cancer: a complex story. **Inflammopharmacology**. 16 (5): 219-226.
- Hanley, F. 1987. The digestibility of foodstuff and the effect of feeding selectivity on digestibility determinations in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture** 66: 163-179.
- Hepher, B. 1988. **Nutrition of Pond Fish.** Cambridge University Press, Cambridge.
- Hseu, J.R., F.I. Lu, H.M. Su, L.S. Wang, C.L. Tsai and P.P. Hwang. 2003. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquaculture** 218: 251-263.
- Huang, C.H. 2004. **Substituting De-hulled Soybean meal for Fish meal in diets for Hybrid Tilapia Rearing in water Re-circulating system.** Aquaculture Nutrition Department of Aquatic Biosciences National, Chiayi University, Taiwan.
- Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Techniques.** W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Iwama, G. and T. Nakanishi. 1996. **The Fish Immune System.** Academic Press, Inc., California.
- Jackson, A.J., B.S. Capper and A.J. Matty. 1982. Evaluation of some plants in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. **Aquaculture** 27: 97-109.

- Jantawat, P., N. Chinprahast and U. Siripatrawan. 1998. Effects of hydrolyzing conditions on chemical and sensory properties of hydrolysed mungbean protein. **J. Sci. Soc. Thailand.** 24: 147-154.
- Jauncey, K. 1998. **Tilapia Feed and Feeding.** Pisces Press Ltd., Bridge of Allan, Scotland.
- Jauncey, K. and Ross. 1982. **A Guide to Tilapia Feed and Feeding.** Institute of aquaculture, University of Sterling, Scotland. 111p.
- Jobling, M. 1986. Gastrointestinal overload-a problem with formulate feeds?. **Aquaculture** 51: 257-263.
- Johann, C. and E.A. Lentini. 1971. Simultaneous determination of glycogen and lipid from heart muscles. **Analytical Biochemistry.** 43: 183-187.
- Kalinowski, A., E.T. Moran Jr and C.L. Wyatt. 2003. Methionine and cystine requirement of slow and fast feathering broiler males from three to six weeks of age. **Poult. Sci.** 82: 1428-1437.
- Kawai, S. and S. Ikenda. 1973. Studies on digestive enzymes of fishes. IV Development of digestive enzyme of carp and black sea bream after hatching. **Bull. Jap. Soc. Fish.** 39: 877-881.
- Kearns, J.P. 1986. **Feed Manufacturing Workshop: Extrusion cooking of shrimp feeds.** Khamphansan campus, Kasetsart University, Thailand. 33 p.
- Keneko, J. J., J. W. Harvey and M. L. Bruss. 1997. **Clinical Biochemistry of Domestic Animal.** 5th ed. Academic Press, Sandiego.

- Klesius, P.H., J.J. Evans, C.A. Shoemaker and D.J. Pasnik. 2006. Vaccines to prevent *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae* disease in tilapia *Oreochromis niloticus*. pp. 15-24. **In Proceeding 7th International Symposium on Tilapia in Aquaculture.** September 6-8, 2006.
- Lepage, O., O. Tottmar and S. Winberg. 2003. Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.** 205: 3679-3687.
- Lin, T. L. and B. S. Pan. 2004. **Effect of Ammonia on Blood Characteristics and Lipoygenase Activities in Culture Red Tilapia.** Department of Food Science, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, ROC.
- Lim, C. E. and C.D.Webster. 2006. Nutrient Requirements, pp. 469-501. **In** C. E. Lim and C.D. Webster, eds. **Tilapia: Biology, Culture and Nutrition.** Food Products Press. New York.
- Litchfield, J.T. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 96: 99-113.
- Lloyd, R. and L.D. Orr. 1969. The diuretic response by rainbow trout to sub-lethal concentration of ammonia. **Water Res.** 3: 335-344.
- Lloyd, R. 1961. The toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **J. Water Waste Treat.** 8: 278-279.
- Lovell, R.T. and T. Limsuwan. 1982. International synthesis and dietary non essentiality of vitamin B12 for *Tilapia niloticus*. **Trans. Am. Fish. Soc.** 111: 485-490.
- _____. 1989. **Nutrition and Feeding of Fish.** Van Nostrand Reinhold, New York.

- Lovell, R.T. 1993. Energy in fish nutrition, pp. 205-216. *In* **Energy Nutrition of Production Animal**. Nutrition Institute. RITZ-CARLTON. Clayton, Missouri.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193: 265-275.
- Lutz, C.G. 2001. **Practical Genetics for Aquaculture**. MPG Books Ltd, Bodmin, Cornwall, UK.
- Manning, M. J. and M. S. Mughal. 1985. Factors affecting the immune response of immature fish, pp. 27-40. *In* A.E Ellis (ed.). **Fish and Shellfish Pathology**. Academic Press, London.
- Matthew, L. 1992. **Introduction of Aquaculture**. John Wiley and Sons, Inc. USA.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clin Chim Acta**. 17: 297-304.
- McKenzie, R. C., T.S. Rafferty and G.J. Beckett. 1998. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology Today** 19: 342-345.
- Mendoza, E.M.T., M. Adachi, A.E.N. Bernardo and S. Utsumi. 2001. Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) globulin: purification and characterization. **J. Agric. Food chem.** 49: 1552-1558.
- Metwally, M.A.A. and A.M. El-Gellal. 2009. Used of some plate waste for fish feeding with reference on its impact on growth performance and body composition. **J. World Appl. Sci.** 6 (10): 1309-1313.

- Miles, H.M., S.M. Loehner, D.T. Michaud and S.L. Salivar. 1974. Physiological response of hatchery reared muskellunge (*Esox masquinongy*) to handling. **Trans. Am. Fish. Soc.** 2: 336-342.
- Moriarty, D.J.W. 1973. The physiology of digestion of blue green algae in Cichlid fish, *Tilapia nilotica*. **J. Zool. Lond.** 10171: 25-39.
- Naivikul, O. and B.L. D' Applonia. 1978. Comparison of legume and wheat flour carbohydrate I sugar analysis. **Cereal Chem.** 55: 913-918.
- Nakasawa, Y. 2003. Acid hydrolysis of native and annealed starches and branch-structure of their naegeli dextrans. **Carbohydr. Res.** 338: 2871-2882.
- National Research Council (NRC). 1983. **Nutrient Requirements of Fish.** National Academic Press, Washington, DC.
- _____. 1993. **Nutrient Requirements of Fish.** National Academic Press, Washington, D.C.
- Nikinmaa, M., A. soivio, T. Nakari and S. Lindgren. 1983. Handling stress in brown trout *Salmon trutta* : physiology responses to transport in freshwater or salt water, and recovery in natural brackish water. **Aquaculture** 34: 93-99.
- Nyirenda, J., M.M.Wabumba, E. Kaunda and J. Sales, 2000. Effect of substituting animal protein sources with soybean meal in diets of *Oreochromis karongae* (Trewavas, 1941). **The ICLARM Quarterly** 23 (4): 13-15.
- Office International des Epizooties (OIE). 2007. **Aquatic Animal Health Code 2007.**
- Patankar, V.B. 1973. Esterases in the stomach of fishes with different food habits. **Folia Histochem. Cytochem.** 11: 253-258.

- Phelps, R.P. and T.J. Popma. 2000. Sex reversal of tilapia. pp. 34-59. *In* B.A. Costa-Pierce and J.E. Rakocy, eds. **Tilapia Aquaculture in the Americas**, Vol. 2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States.
- Philippart, J.C.L. and J.C.L. Ruwat. 1982. Ecology and distribution of tilapia. pp. 15-19. *In* R.S.V. Pullin, R. H. Lowe-McConnell, eds. **The Biology and Culture of Tilapia. ICLARM Conference Proceedings 7**. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Purseglove, J.W. 1997. **Tropical Crops: Dicotyledons**, Vol 1 and Vol 2. The English Language Book Society and Longman Publishers, London.
- Raa, J. 1996. Immunostimulants used in fish and shellfish farm. **Fisheries Sci.** 4 (3): 000-000.
- Reddy, N.R., M.D. Pierson, SK. Sathe and D.K. Salunkhe. 1984. Chemical nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates: a review. **Food Chem.** 13: 25-68.
- Rizal, G.M. and J. Khajarearn. 2007. Substitution of soybean meal by mung bean protein concentrate in the broiler on evaluation of productive performance, pp. 200-202. *In* **Proceeding of Veterinary 4th**. Department of Animals Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen.
- Robinson, E.H. and R.P. Wilson. 1985. Nutrition and Feeding. pp. 323-404. *In* C. S. Tucker, ed. **Channel Catfish Culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science**, 15, Amsterdam: Elsevier.
- Robinson, E. H., S. D. Rawles and R.R. Stickney. 1984. Evaluation of glanded and glandless cottonseed products in catfish diets. **Prog. Fish. Cult.** 46: 92-97.

- Roche, H. and G. Boge. 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. **Marine Environ. Res.** 41: 27-43.
- Rogers, Q.R. and P.M.B. Leung. 1973. The influence of amino acids on the neuroregulation of food intake. **Federation Proceedings American Socs., Experimental Biology.** 32: 1709-1719.
- Sanches, L.E.F. and C. Hayashi. 2001. Effect of feeding frequency on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) on different fry performance during sex reversal in hapas. **Acta Scientiarum** 23 (4): 871-876.
- Santiago, C.B., Aldaba, M.B., Aubuan, E.F. and M.A. Laron. 1985. The effects of artificial diets on fry production and growth of *Oreochromis niloticus* breeders. **Aquaculture** 47: 193.
- SAS, Institute. 1996. **SAS/STAT User's Guide**. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
- Sathe, S. K., S. S. Deshpande and D. K. Salunkhe. 1984. Dry beans of Phaseolous: a review. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 21: 41-93.
- _____. 1996. The nutritional value of selected asiatic pulses: chickpea, black gram, mung bean and pigeon pea, pp. 220-345. In E. Nwokolo and J. Smartt, eds. **Food and Feed from Legumes and Oilseeds**. Chapman & Hall, New York.
- Savitz, J. 1971. Nitrogen excretion and protein consumption of the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). **Fish. Res. Board. Can.** 28: 449-451.
- Shalaby, A.M.E., A.A. Ramadan and Y.A. E. Khattab. 2006. **Sex-reversal of Nile tilapia fry using different doses of 17 α -methyl testosterone at different dietary protein levels**. Available Source: <http://ag.arizona.edu/azaqua/ista/ISTA7/ISTA7.htm>, April 5, 2008.

Shelton, W.L., R.D. Guerrero and J. Lopez-Marcias. 1981. Factors effecting androgen sex-reversal of *Tilapia aurea*. **Aquaculture** 25: 59-65.

_____. and T.S. Hsu. 1999. Quantification of vitamin C for juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*, with L-ascorbyl-2-monophosphate-Na (AMP-Na) and L- ascorbyl-2-monophosphate-Mg (AMP-Mg). **Aquaculture** 175: 317-326.

Shiau, S.L., S.F. Lin, S.L. Yu, A.L. Lin and C.C. Kwok. 1990. Defatted and full-fat soybean meal as partial replacements for fish meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) diets at low protein levels. **Aquaculture** 86: 401-407.

Shoemaker, C.A., D.H. Xu, J.J. Evans and P.H. Klesius. 2006. Parasites and Diseases, pp. 561-582. In C. E. Lim and C.D. Webster, eds. **Tilapia: Biology, Culture and Nutrition**. Food Products Press. New York.

Singh, R.P. and T. Nose. 1967. Digestibility of carbohydrates in young rainbow trout. **Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.**, Tokyo. 17: 21-25.

Singh, S., H.D. Singh and K.C. Sikka. 1968. Distribution of nutrients in the anatomical parts of common Indian pulses. **Cereal Chem.** 45: 13-18.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non specific immunity and protection against furunculosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 41: 125-139.

Smart, G. 1976. The effect of ammonia on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **J. Fish. Biol.** 8: 471-475.

- Smart, G. 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. **J. Fish. Biol.** 8: 471-475.
- Soltan, M.A., M.A. Hanafy and M.I.A. Wafa. 2008. Effect of replacing fish meal by mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. **Global Veterinaria** 2 (4): 157-164.
- Spreaue, J.B. 1969. Measurement of Pollutant Toxicity to Fish. I. Bioassay Methods for Acute Toxicity. **Water Res.** 3: 793-821.
- Steffens, W. 1989. **Principles of Fish Nutrition**. Ellis Horwood Ltd., New York.
- Stickney, R.R. and R. Hardy. 1989. Lipid requirements of some warm water species. **Aquaculture** 79:145-156.
- Stotch, V. and J.V. Juario. 1983. The effect of starvation and subsequent feeding on the hepatocytes of *Chanos chanos* (Forsskal) fingerling and fry. **J. Fish Biol.** 23: 95-103.
- Sung, H. M. and H. S. Kyung. 1993. A study on the effect of mungbean protein on quality characteristics of angel parfait. **J. Korean Soc. Food Sci.** 9 (4): 308-311.
- Tacon, A. 1981. The possible substitution of fish meal in fish diets, pp. 46-55. **In proceedings of the SMBAHIDB fish farming meeting**. OBAN 26-27 February 1981.
- Tewe, O.O. 1985. Protein metabolism in growing pig fed corn or cassava peel based diets containing graded protein levels. **Res. Vet. Sci.** 29: 259-263.

- Thompson, I., A. White, T.C. Fletcher, D.F. Houlihan and C.J. Secombes. 1993. The effect on the stress immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diet containing different amounts of vitamin C. **Aquaculture** 114: 1-18.
- Tizard, I. R. 2004. **Veterinary Immunology: An Introduction**, 7th ed. Saunders College Publishing, Florida.
- Toyama, G.N., J.E. Corrente and J.E.P. Cyrino. 2000. Vitamin C diet supplementation for sex reversal of the Nile tilapia. **Sci. Agric.** 57 (2): 221-228.
- Tzchori, I., G. Degani, R. Eliyahu, A. Hurvitz, J. Vaya and B. Moav. 2004. The influence of phytoestrogens and oestradiol -17 beta on growth and sex determination in the European eel (*Anguilla anguilla*). **Aquac. Res.** 35: 1213-1219.
- Varadaraj, K., S. Sindhu Kumari and T.J. Pandian. 1994. Comparison of conditions for hormonal sex reversal of Mozambique tilapia. **The Progressive Fish-Culturist** 56: 81-90.
- Villaluz, A.C. 1983. Collection, storage, transport and acclimation of milkfish fry and fingerlings, pp. 85-96. In J.V. Juario, R.P. Ferraris and L.V. Benitez, eds. **Advances in Milkfish Biology**. Philippines: Island Publishing House, Inc. Philippines.
- Viola, S., S. Mokady and Y. Arieli. 1983. Effect of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture** 32: 27-38.
- Watanabe, T. 1988. **Fish Nutrition and Mariculture**. Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries.
- Wilson, R. I. and W. E. Poe. 1985. Apparent digestible protein and energy coefficients of common feed ingredients for channel catfish. **Prog. Fish-Cult.** 47: 154-158.

- Wong, M.H. 1989. Toxicity test of landfill leachate using *Sarotherodon mossambicus* (Freshwater Fish). **Ecotox. Environ. Saf.** 17: 149-156.
- Walsh, P.J. and P. Wright. 1995. **Nitrogen Metabolism and Excretion**. CRC Press, New York.
- Yilmaz, E.,S. Cek and Y. Mazlum. 2009. The effects of combined phytoestrogen administration on growth performance, sex diffentiation and body composition of sharp tooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **Turk. J. Fish. Aquat. Sci.** 9: 33-37.
- Yingst, W.L. and R.R. Stickney. 1980. Growth of caged channel catfish fingerlings reared on diets containing various lipids. **Prog. Fish. Cult.** 42: 24-26.
- Zeitoun, I.H., P.I. Tack, J.E. Halver and D.E. Ullrey. 1973. Influence of salinity on Protein requirements of rainbow trout, *Salmo gairdneri* fingerling. **J. Fish. Res. Board Can.** 30: 1867-1873.



ภาคผนวก

1. การจําแนกเพศปลานิลด้วยวิธีการของ นวลมณี และ คณะ (2538)

การจําแนกเพศปลานิลโดยใช้สีย้อม อะซิโต คาร์มิน (aceto-carmin stain) มีวิธีการดังนี้

1.1 การเตรียมสีย้อม อะซิโต คาร์มิน

ละลายสีย้อม คาร์มิน (carmin) น้ำหนัก 0.5 กรัม ในสารละลาย 45 % กรดอะซิติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด 2-4 นาที เมื่อสารละลายเย็น กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วเก็บสารละลายไว้ในขวดแก้ว

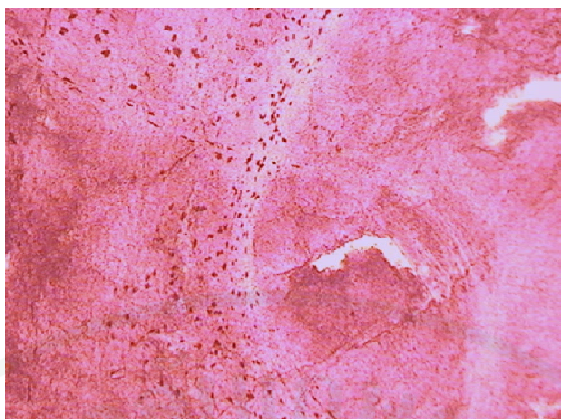
1.2 ขั้นตอนการตรวจสอบ

1.2.1 ลูกปลานิลที่ตรวจสอบ มีอายุ 1-2 เดือน ขนาด 4-6 เซนติเมตร วางยาสลบ เช่น benzocaine, quinaldine sulphate หรือ 2- phenoxyethanol เกินขนาด เพื่อให้ลูกปลาสลบ

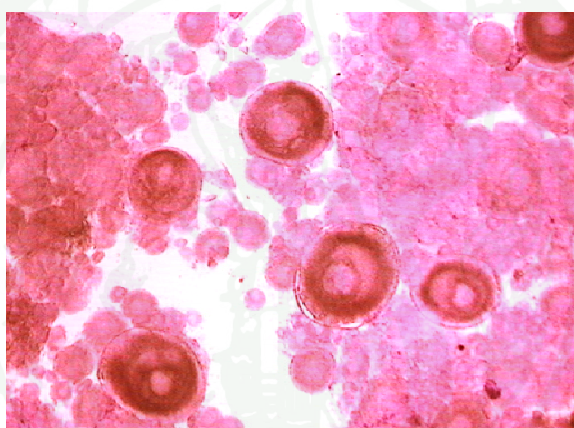
1.2.2 ผ่าเปิดบริเวณช่องท้อง ตัดอวัยวะสืบพันธุ์ (gonads) ออกมาวางบนสไลด์

1.2.3 หยดสีย้อม อะซิโต คาร์มิน 2 หยด ปิดทับด้วยกระจกสไลด์ แล้วกดเบาๆ

1.2.4 นำไปตรวจจําแนกเพศใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า



(ก) อวัยวะสืบพันธุ์ปลานิลแดงเพศผู้ กำลังขยาย 400 เท่า



(ข) อวัยวะสืบพันธุ์ปลานิลแดงเพศเมีย กำลังขยาย 400 เท่า

ภาพผนวกที่ 1 อวัยวะสืบพันธุ์ของปลานิลแดง อายุ 60 วัน

2. การประเมินค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง (Medial lethal concentration, 24 hr-LC₅₀) ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1945)

2.1 การหาค่า 24 hr-LC₅₀ ของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231±0.057 กรัม/ตัว

ตารางผนวกที่ 1 อัตราการตายสะสมของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231±0.057 กรัม ในการทดลองหาค่า 24 hr-LC₅₀ ของสารแอมโมเนีย

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (ppm)	จำนวนปลาที่ตาย (ตัว)				อัตราการตาย (%)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
0.000	0	0	0	0.00	0.00
20.468	0	0	0	0.00	0.00
38.144	10	10	13	11.00	22.00
40.665	24	24	25	24.33	48.67
42.253	29	32	31	30.67	61.33
43.827	38	37	36	37.00	74.00
46.359	42	40	40	40.67	81.33
47.770	44	44	43	43.67	87.33
50.580	48	47	48	47.67	95.33
54.912	50	50	49	49.67	99.33

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า LC₅₀ ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) สัญลักษณ์ที่ใช้มีดังนี้

- K = จำนวนระดับความเข้มข้นที่ใช้
- N = degree of freedom ของค่า χ^2 ของเส้นที่ลาก หาได้จาก $n = K - 2$
- S = ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function)
- fLC₅₀ = ค่าแฟกเตอร์ของ LC₅₀
- fs = ค่าแฟกเตอร์ของ S
- N = จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ซึ่งอยู่ระหว่างค่า LC₁₆ และ LC₈₄

R = อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นสูงสุดและความเข้มข้นต่ำสุด

A = ค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่า S และ R

สามารถคำนวณหาค่า LC_{50} ได้โดยประเมินจากอัตราการตาย ระดับความเข้มข้น และค่าที่ได้จากเส้นที่ลากบน logarithmic probability paper ได้ดังนี้

ตารางผนวกที่ 2 การคำนวณค่า 24 hr- LC_{50} ของลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม

concentration	dead/test	% observed mortality (O)	% expected mortality (E)	O-E	$\chi^2 = (O-E)^2 / E(100-E)$
20.468	0.00/50	0.00	0.00	0.00	0.00000
38.144	11.00/50	22.00	40.00	-18.00	0.13500
40.665	24.33/50	48.67	50.00	-1.33	0.00071
42.253	30.67/50	61.33	60.00	1.33	0.00074
43.827	37.00/50	74.00	70.00	4.00	0.00762
46.359	40.67/50	81.33	80.00	1.33	0.00111
47.770	43.67/50	87.33	86.00	1.33	0.00147
50.580	47.67/50	95.33	91.00	4.33	0.02289
54.912	49.67/50	99.33	97.00	2.33	0.01866
				Total	0.18819

ค่า χ^2 ที่คำนวณได้จากเส้นที่ลาก = $(\sum \chi^2 \times \text{จำนวนสัตว์ทดลอง}) / \text{จำนวนระดับความเข้มข้น}$

$$\text{ได้ค่า} = (0.1881 \times 450) / 9 = 9.4093$$

$$\text{degree of freedom, } n = K - 2 = 9 - 2 = 7$$

ค่า χ^2 ที่เปิดจากตาราง เมื่อ n เท่ากับ 7 มีค่า = 14.067

จากการคำนวณค่า χ^2 ของเส้นที่ลากบน Logarithmic probability paper ที่ได้จากการคำนวณ มาเปรียบเทียบกับค่า χ^2 ที่เปิดได้จากตาราง พบว่า ค่า χ^2 ที่ได้จากการคำนวณ มีค่าน้อยกว่าค่า χ^2 ที่เปิดจากตาราง แสดงว่า ข้อมูลที่ plot ได้มีการกระจายของจุดเบี่ยงเบนไป จากเส้นตรงที่ลาก เพื่อใช้ในการประเมินค่า LC_{50} อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถใช้เส้นตรงมาประเมินค่า LC_{50} ได้ และสามารถคำนวณค่าต่างๆ ได้ดังนี้

ค่าความเข้มข้นบนเส้นตรง ที่เปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 16.50 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่า

$$LC_{16} = 34.00$$

$$LC_{50} = 40.66$$

$$LC_{84} = 47.00$$

$$S = [(LC_{84} / LC_{50}) + (LC_{50} / LC_{16})] / 2$$

$$S = [(47.00 / 40.66) + (40.66 / 34.00)] / 2 = 1.1759$$

เมื่อ $N=250$

$$fLC_{50} = S^{2.77/\sqrt{N}} = (1.1759)^{2.77/\sqrt{250}} = 1.0287$$

ขีดจำกัดบนของ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% มีค่าเท่ากับ

$$\text{ขีดจำกัดบนของ } LC_{50} = LC_{50} \times fLC_{50} = 40.6600 \times 1.0287 = 41.8269$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของค่า } LC_{50} = LC_{50} / fLC_{50} = 40.6600 / 1.0287 = 39.5256$$

ดังนั้นค่า LC_{50} ที่ความเชื่อมั่น 95 % จึงมีค่าเท่ากับ 40.6600 (39.5256 – 41.8269)

$R = \text{ความเข้มข้นสูงสุด} / \text{ความเข้มข้นต่ำสุด}$

$$R = 54.912 / 20.468 = 2.6828$$

$$A = \text{antilog } 1.1 (\log S)^2 / \log R$$

$$A = \text{antilog } 1.1 (\log 1.1759)^2 / \log 2.6828 = 1.0296$$

$$f_s = A^{10(K-1)/K \sqrt{N}} = 1.0296^{10(9-1)/9 \sqrt{250}} = 1.0165$$

ขีดจำกัดบนของ S ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% มีค่าเท่ากับ

$$\text{ขีดจำกัดบนของค่า } S = S \times f_s = 1.1759 \times 1.0165 = 1.1953$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของค่า } S = S / f_s = 1.1759 / 1.0165 = 1.1568$$

ดังนั้นค่า S ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% จึงมีค่าเท่ากับ 1.1759 (1.1568 - 1.1953)

จากนั้นนำค่า 24 ชั่วโมง LC_{50} ไปคำนวณค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (safety concentration) โดย คูณกับ 0.01 ซึ่งเป็นการปรับค่า (application factor) ที่ Sprague (1969) แนะนำไว้ ดังนั้นค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมที่ปลอดภัยต่อลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ขนาด 0.231 ± 0.057 กรัม เท่ากับ $40.6600 \times 0.01 = 0.4066 \text{ mg/l total NH}_3\text{-N}$

2.2 การหาค่า 24 hr-LC₅₀ ของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม/ตัว

ตารางผนวกที่ 3 อัตราการตายสะสมของปลานิลแดง ขนาด 25.562±1.315 กรัม ในการทดลองหาค่า 24 hr-LC₅₀ ของสารแอมโมเนีย

ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (ppm)	จำนวนปลาที่ตาย (ตัว)				อัตราการตาย (%)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
0.000	0	0	0	0.00	0.00
31.293	0	0	0	0.00	0.00
75.255	3	4	5	4.00	33.33
79.584	5	4	5	4.67	38.89
85.091	5	5	5	5.00	41.67
89.447	6	5	6	5.67	47.22
94.833	6	7	6	6.33	52.78
99.768	7	7	8	7.33	61.11
104.955	9	9	9	9.00	75.00
109.394	9	10	10	9.67	80.55
149.335	12	11	11	11.33	94.44

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า LC₅₀ ตามวิธีการของ Litchfield and Wilcoxon (1949) สัญลักษณ์ที่ใช้มีดังนี้

- K = จำนวนระดับความเข้มข้นที่ใช้
- N = degree of freedom ของค่า χ^2 ของเส้นที่ลาก หาได้จาก $n = K - 2$
- S = ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function)
- fLC₅₀ = ค่าแฟคเตอร์ของ LC₅₀
- fs = ค่าแฟคเตอร์ของ S
- N = จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้ซึ่งอยู่ระหว่างค่า LC₁₆ และ LC₈₄
- R = อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นสูงสุดและความเข้มข้นต่ำสุด
- A = ค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่า S และ R

สามารถคำนวณหาค่า LC_{50} ได้โดยประเมินจากอัตราการตาย ระดับความเข้มข้น และค่าที่ได้จากเส้นที่ลากบน logarithmic probability paper ได้ดังนี้

ตารางผนวกที่ 4 การคำนวณค่า 24 hr- LC_{50} ของปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม

concentration	dead/test	% observed mortality (O)	% Expected mortality (E)	O-E	$\chi^2 = (O-E)^2 / E(100-E)$
31.293	0.00/12	0.00	0.00	0.00	0.00000
75.255	4.00/12	33.33	25.00	8.33	0.03701
79.584	4.67/12	38.89	33.00	5.89	0.01569
85.091	5.00/12	41.67	42.00	-0.33	0.00004
89.447	5.67/12	47.22	48.00	-0.78	0.00024
94.833	6.33/12	52.78	54.00	-1.22	0.00060
99.768	7.33/12	61.11	62.00	-0.89	0.00034
104.955	9.00/12	75.00	70.00	5.00	0.01190
109.394	9.67/12	80.55	74.00	6.55	0.02230
149.335	11.33/12	94.44	95.5	-1.06	0.00261
				Total	0.09074

ค่า χ^2 ที่คำนวณได้จากเส้นที่ลาก = $(\sum \chi^2 \times \text{จำนวนสัตว์ทดลอง}) / \text{จำนวนระดับความเข้มข้น}$

$$\text{ได้ค่า} = (0.0907 \times 120) / 10 = 1.0888$$

$$\text{degree of freedom, } n = K-2 = 10-2 = 8$$

$$\text{ค่า } \chi^2 \text{ ที่เปิดจากตาราง เมื่อ } n \text{ เท่ากับ } 8 \text{ มีค่า} = 15.507$$

จากการคำนวณค่า χ^2 ของเส้นที่ลากบน logarithmic probability paper ที่ได้จากการคำนวณ มาเปรียบเทียบกับค่า χ^2 ที่เปิดได้จากตาราง พบว่า ค่า χ^2 ที่ได้จากการคำนวณ มีค่าน้อยกว่าค่า χ^2 ที่เปิดจากตาราง แสดงว่า ข้อมูลที่ plot ได้มีการกระจายของจุดเบี่ยงเบนไป จากเส้นตรงที่ลาก เพื่อใช้ในการประเมินค่า LC_{50} อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถใช้เส้นตรงมาประเมินค่า LC_{50} ได้ และสามารถคำนวณค่าต่างๆ ได้ดังนี้

ค่าความเข้มข้นบนเส้นตรง ที่เปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 16 50 และ 84 เปอร์เซนต์ ได้ค่า

$$LC_{16} = 68.00$$

$$LC_{50} = 91.00$$

$$LC_{84} = 122.00$$

$$S = [(LC_{84} / LC_{50}) + (LC_{50} / LC_{16})] / 2$$

$$S = [(122.00 / 91.00) + (91.00 / 68.00)] / 2 = 1.3394$$

เมื่อ $N = 96$

$$fLC_{50} = S^{2.77/\sqrt{N}} = (1.3394)^{2.77/\sqrt{96}} = 1.0861$$

ขีดจำกัดบนของ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% มีค่าเท่ากับ

$$\text{ขีดจำกัดบนของ } LC_{50} = LC_{50} \times fLC_{50} = 91.0000 \times 1.0861 = 98.8351$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของค่า } LC_{50} = LC_{50} / fLC_{50} = 91.0000 / 1.0861 = 83.7860$$

ดังนั้นค่า LC_{50} ที่ความเชื่อมั่น 95 % จึงมีค่าเท่ากับ 91.0000 (83.7860 – 98.8351)

$$R = \text{ความเข้มข้นสูงสุด} / \text{ความเข้มข้นต่ำสุด}$$

$$R = 149.335 / 31.293 = 4.7721$$

$$A = \text{antilog } 1.1 (\log S)^2 / \log R$$

$$A = \text{antilog } 1.1 (\log 1.3394)^2 / \log 4.7721 = 1.0619$$

$$f_s = A^{10(K-1)/K\sqrt{N}} = 1.0619^{10(10-1)/10\sqrt{96}} = 1.0567$$

ขีดจำกัดบนของ S ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% มีค่าเท่ากับ

$$\text{ขีดจำกัดบนของค่า } S = S \times f_s = 1.3394 \times 1.0567 = 1.4153$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของค่า } S = S / f_s = 1.3394 / 1.0567 = 1.2675$$

ดังนั้นค่า S ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% จึงมีค่าเท่ากับ 1.3394 (1.2675 - 1.4153)

จากนั้นนำค่า 24 ชั่วโมง LC_{50} ไปคำนวณค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย (safety concentration) โดย คูณกับ 0.01 ซึ่งเป็นการปรับค่า (application factor) ที่ Sprague (1969) แนะนำไว้ ดังนั้นค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมที่ปลอดภัยต่อปลานิลแดง ขนาด 25.562 ± 1.315 กรัม เท่ากับ $91.0000 \times 0.01 = 0.9100$ mg/l total NH_3 -N

3. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย การเตรียม stock แบคทีเรีย การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรค (challenge test) และการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

3.1 การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ได้จากสถาบันสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง นำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้น TSA (trypticase soy agar) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อลงในขวดเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเหลว BHI (brain heart infusion broth) ปิดฝาขวด นำเข้าเครื่องเขย่า นาน 48 ชั่วโมง

3.2 การเตรียม stock ของแบคทีเรีย

3.2.1 นำเชื้อแบคทีเรีย ในข้อ 3.1 มาปั่นให้ตกตะกอนในเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Sorval RC 62 Plus ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm นาน 20 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

3.2.2 ปั่นล้างด้วยสารละลาย 0.85 % NaCl ที่ความเร็วรอบ 5,000 rpm นาน 10 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยปั่นล้าง 3 รอบ

3.2.3 ปรับความเข้มข้นของ stock เชื้อแบคทีเรีย ไว้ที่ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร โดยใช้ 0.85 % NaCl เป็นสารละลายปรับความเข้มข้น (คำนวณมาตรฐาน OD = 1.9 ที่ความยาวคลื่น 550 nm จะมีความเข้มข้นของแบคทีเรีย เท่ากับ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร หรือ ให้เทียบกับ McFarland No.10 ซึ่งเท่ากับ 3.0×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.85 % NaCl อีกเท่าตัว

3.3 การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคในปลานิลแดง

3.3.1 คำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรีย จาก stock เพื่อเติมเชื้อลงในตู้ทดลองที่มีน้ำอยู่ 50 ลิตร ให้มีความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 1.0×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร จากสมการ

$$M_1 V_1 = M_2 V_2$$

เมื่อ M_1 = ความเข้มข้นของแบคทีเรียจาก stock (1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร)

V_1 = ปริมาตรของแบคทีเรียจาก stock (V_1 มิลลิลิตร)

M_2 = ความเข้มข้นของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ (1.0×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของน้ำในตู้ทดลอง (50 ลิตร)

3.3.2 หลังจากการเติมเชื้อแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างน้ำไปตรวจสอบความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง โดยการ spread plate count technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (trypticase soy agar) แล้วนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย และคำนวณหาค่าเฉลี่ย (ในการทดลองครั้งนี้ได้ค่าเฉลี่ย $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร)

3.3.3 สุ่มตัวอย่างปลานิลแดง 100 ตัว/ซ้ำ ในทุกชุดการทดลอง ใส่ในตู้ทดลองที่มีเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ความเข้มข้น $2.467 \pm 0.145 \times 10^6$ โคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อทดสอบความต้านทานต่อเชื้อโรคโดยการแช่ต่อเนื่อง 10 วัน

3.3.4 สังเกตอาการติดเชื้อและบันทึกจำนวนปลาที่ตาย ยืนยันการติดเชื้อและสาเหตุการตาย ด้วยชุดทดสอบ API® 20-Strep (BioMerieux, 2002)

3.4 การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

จากความสามารถของแบคทีเรียในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติสารตั้งต้นที่จำเพาะ (specific substrates) และการสังเคราะห์สารที่หลากหลาย เป็นคุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย โดยทั่วไปการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียในเชิงคุณภาพจะใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารตั้งต้นและอินดิเคเตอร์ (indicator) ที่จำเพาะเพื่อบ่งชี้การปรากฏของผลผลิตจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolic products) หรือในบาง

กรณีอาจใช้การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นดัชนีบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้น เช่น การเหลวของเจลาติน (liquefaction of gelatin) ความสามารถในการย่อยสลายสารต่างๆ และการสังเคราะห์สารชนิดใหม่ๆ ของจุลินทรีย์

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียจากวิธีการดั้งเดิมข้างต้น มาเป็นการใช้ชุดวินิจฉัยแบคทีเรียสำเร็จรูป (commercial diagnostic kits) ที่ได้มาตรฐาน เป็นที่ยอมรับและมีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ API 20E, API 20NE, API Zym, API 20Strep, Biolog-GN, Micro scan และ Abbott Quantum II เป็นต้น สำหรับการประยุกต์เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อที่ก่อโรคในสัตว์น้ำได้แก่ชุด API 20E และ API 20Strep

API 20E system เป็นระบบตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae และ แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ เป็นระบบพร้อมใช้ (ready to use) อยู่ในรูปของกระปาะเล็กๆ (micro tube) ที่ภายในบรรจุสารตั้งต้นสำหรับการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี จำนวน 20 รายการ สารตั้งต้นที่อยู่ใน micro tube จะถูกละลายออกมาหลังจากการเติมสารละลายแบคทีเรีย (bacterial suspension) ในน้ำเกลือ 0.85 % ระบบจะถูกบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม และสามารถอ่านผลได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง

API 20 Strep เป็นระบบตรวจวินิจฉัยแบคทีเรียมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจสอบแบคทีเรียในกลุ่ม Streptococci ประกอบด้วยกระปาะเล็กๆ (cupules) ที่บรรจุสารตั้งต้นจำนวน 20 รายการ สำหรับการตรวจสอบปฏิกิริยาของเอนไซม์ หรือการใช้น้ำตาล การแปรผลการทดสอบจะอ้างอิงตามคู่มือที่แนบมากับชุดทดสอบ

4. การศึกษากระบวนการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytic activity) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลานิลแดง ดัดแปลงจากวิธีการของ กิจการ และคณะ (2543)

4.1 ขั้นตอน (steps of phagocytic assay)

4.1.1 leukocyte isolation

เม็ดเลือดขาวที่ไต (kidney leukocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่พบได้ที่ไตส่วนหน้า ซึ่งไตส่วนหน้าเป็นอวัยวะหลักในการเก็บเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลา ถ้าต้องการเซลล์ macrophage

ให้เก็บที่อวัยวะนี้ สำหรับเม็ดเลือดขาวในเลือด (peripheral blood leukocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่เคลื่อนที่ไปในระบบหมุนเวียนเลือด (circulating leukocyte) ซึ่งหมายถึง monocyte ถ้าต้องการเซลล์ monocyte ให้เก็บที่เลือดปลา

4.1.2 expose with simulated Ag โดยการใส่ยีสต์

4.1.3 counting and calculation

4.2 วิธีการ isolation of the peripheral blood leukocyte (PBLs)

4.2.1 กลั้วเข็มและกระบอกฉีดด้วย heparin แล้วเจาะเลือดปลาบริเวณ dorsal aorta ปริมาตร 2 ml

4.2.2 เตรียม dilution blood โดยใช้ medium RPMI หรือ PBS ในหลอดใหม่ 4 ml แล้วเติมเลือดปลานิลในข้อ 4.2.1 จำนวน 2 ml (อัตราส่วน dilute blood ต่อ medium คือ 1:2 (blood 2 ml : medium 4 ml) โดยดำเนินการบนน้ำแข็งตลอดทุกขั้นตอนการวิเคราะห์

4.2.3 แบ่ง dilute blood ออกเป็น 2 ส่วนๆ ละ 3 ml ใส่ใน PE tube ขนาด 15 ml ซึ่งภายในหลอดบรรจุสารละลาย histopaque หรือใช้ percoll ปริมาตร 3 ml จำนวน 2 หลอด (เม็ดเลือดไม่สามารถเกาะ PP tube ได้ สาร histopaque และ percoll เป็น gradient substance มีคุณสมบัติทำให้เกิดความแตกต่างกันในการตกตะกอนของเม็ดเลือดที่มีน้ำหนักต่างกันให้ตกแยกชั้นตามแรงโน้มถ่วงของโลก)

4.2.4 นำไป centrifuge ที่ 400 rpm 15 นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง swing rotor

4.2.5 ดูเฉพาะเม็ดเลือดขาว (lymphocytes, monocyte) ใส่ใน tube ใหม่ แล้วเติม phosphate buffer saline 3 ml เพื่อล้างเม็ดเลือด นำไป centrifuge ที่ 400 rpm 10 นาที 3 ครั้ง

4.2.6 ดูสารละลายเม็ดเลือด 50 μ l ใส่ใน hemacytometer นับจำนวนเซลล์แล้วปรับให้มีความเข้มข้น 2×10^6 cells/ml

4.2.7 นำเม็ดเลือดที่ได้จากข้อ 4.2.6 มา 200 μ l โดยใช้ pipette หยดลงบน cover glass บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

4.2.8 ล้างด้วย L-15 medium 3 ครั้ง

4.2.9 เดิมยีสต์ (yeast-bakery's yeast) ที่มีความเข้มข้น 2×10^7 cells/ml จำนวน 200 μ l ลงบน cover glass ที่มีเม็ดเลือดเกาะอยู่ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

4.2.10 ล้างด้วย L-15 medium 3 ครั้ง

4.2.11 fixed ด้วย 95 % methanol นาน 10 วินาที

4.2.12 ย้อมสีด้วย diff-quick staining โดยย้อมสี Giemsa's stain 10 วินาที และ Wright's stain 10 วินาที

4.2.13 ล้างด้วยน้ำประปา 3 วินาที

4.2.14 ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนับเซลล์ phagocytosis ที่เกิดขึ้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4.3 การคำนวณ

$$\text{phagocytic activity (\% PA)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่กินยีสต์}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{phagocytic index (PI)} = \frac{\text{จำนวนยีสต์ที่ถูกกิน}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด}} \times \frac{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่กินยีสต์}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด}} \times 100$$

4.4 การเตรียม heat-killed yeas

4.4.1 ละลาย baker's yeast 0.5 กรัม ในสารละลาย 0.9% NaCl 250 ml แล้วนำไปต้ม 1 ชั่วโมง ระหว่างต้มคนตลอดเพื่อไม่ให้ยีสต์ไหม้ (อาจใช้วิธี autoclave 1 ชั่วโมงก็ได้) ทิ้งให้เย็น ยีสต์จะตกตะกอน เติมน้ำในส่วนบนทิ้ง

4.4.2 นำตะกอนยีสต์ที่ต้มสุกแล้วไปล้างด้วย shrimp saline 5 นาที แล้วปั่นด้วยความเร็วรอบ 3,000 rpm 10 นาที เติสารละลายส่วนบนทิ้ง ทำการล้างทั้งหมด 5 ครั้ง

4.4.3 ละลายยีสต์ที่ล้างแล้วด้วย shrimp saline อัตราส่วน 1:1 แล้วนำไปนับจำนวนเซลล์ยีสต์ด้วย hemacytometer ให้มีจำนวนเซลล์ยีสต์ ประมาณ 5×10^8 cell/ml เก็บในตู้เย็น

5. การวิเคราะห์ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินและโปรตีนในเลือดปลานิลแดง

5.1 การวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลิน เอ็ม คัดแปลงจากวิธีการของ Siwicki *et al.* (1994)

อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) เป็นโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อโรค พบได้ในซีรัมและของเหลวในตัวปลา อิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ชั้นสูงทั่วไป มี 5 ชนิด คือ IgG, IgM, IgE, IgA และ IgD แต่ในปลาจะพบมีเพียง IgM เท่านั้น (Tizard, 2004) ค่าอิมมูโนโกลบูลินสามารถวัดได้โดยอาศัยหลักการวัดปริมาณโปรตีน โดยแบ่งตัวอย่างพลาสมาเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 วัดปริมาณโปรตีนรวมในพลาสมาและ ชุดที่ 2 ตกตะกอนโปรตีนส่วนที่เป็น immunoglobulin ด้วย polyethylene glycol แล้วนำส่วนพลาสมา มาวัดปริมาณโปรตีน ความแตกต่างระหว่างค่าโปรตีนรวมและโปรตีนหลังจากตกตะกอน immunoglobulin แล้ว คือ ค่า total immunoglobulin

5.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) spectrophotometer
- 2) automatic pipette
- 3) หลอดทดลอง ขนาด 10 ml

5.1.2 สารเคมี

- 1) bovine serum albumin (BSA)
- 2) folin reagent เจือจาง 1: 10 เก็บในตู้เย็น
- 3) working alkaline copper Solution ประกอบด้วย

0.5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1 ส่วน

ชั่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ มา 0.015 g ละลายในน้ำกลั่น deionize sterilized 3 ml.

1% NaKtartrate 1 ส่วน

ชั่ง NaKtartrate มา 0.03 g ละลายในน้ำกลั่น deionize sterilized 3 ml.

1% Na_2CO_3 ใน 0.5 NaOH 50 ส่วน

ต้มน้ำกลั่น deionize sterilized 100 ml แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็นสนิท แล้วใส่ NaOH จำนวน 2 g เมื่อละลายแล้วจึงเติม Na_2CO_3 ลงไป 1 g ปั่นหรือคนให้ละลายจนหมด ผสมสารทั้งสามตามสัดส่วน

- 4) 12% polyethylene glycol (PEG)

ละลาย 12 g PEG ในน้ำกลั่น 100 ml (ปริมาตรที่เตรียมขึ้นกับจำนวนตัวอย่าง)

5.1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 1) การทำ standard curve

เตรียม stock ของ standard albumin (BSA) ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$

(ผสม 0.01 g albumin ในน้ำกลั่น 10 ml)



ปรับความเข้มข้น stock ให้ได้ดังตาราง

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	stock (μl)	distilled water (μl)
0	0	1000
20	20	980
40	40	960
80	80	920
100	100	900

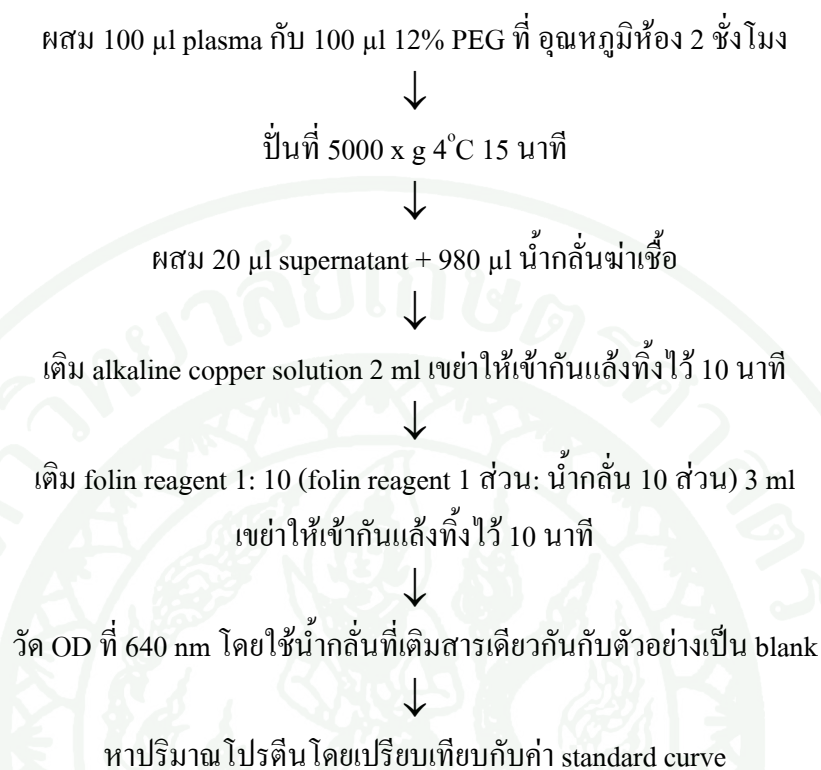
นำ standard แต่ละหลอดมาหาปริมาณโปรตีนโดย
เติม alkaline copper solution 2 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที
↓
เติม folin reagent 1: 10 (folin reagent 1 ส่วน : น้ำกลั่น 10 ส่วน) 3 ml
เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที
↓
วัด OD ที่ 640 nm โดยใช้ น้ำกลั่น ที่เติมสารเดียวกันกับตัวอย่างเป็น blank
↓
เขียนกราฟมาตรฐาน

5.2 การวัดโปรตีนในเลือด คัดแปลงจากวิธี Lowry's method (Lowry *et al.*, 1951)

5.2.1. total protein

ผสม 10 μl plasma กับ 990 μl น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
↓
เติม alkaline copper solution 2 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที
↓
เติม folin reagent 1: 10 (folin reagent 1 ส่วน: น้ำกลั่น 10 ส่วน) 3 ml
เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที
↓
วัด OD ที่ 640 nm โดยใช้ น้ำกลั่น ที่เติมสารเดียวกันกับตัวอย่างเป็น blank
↓
หาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับค่า standard curve

5.2.2. non-immunoglobulin



5.2.3. calculation

$$\text{total immunoglobulin} = \text{total protein} - \text{non immunoglobulin}$$

6. การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนในตับ ตามวิธีการของ (Johann and Lentini, 1971)

การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen; mg glucose/ml) ควรเก็บตัวอย่าง
ตับมาวิเคราะห์ทันที หากจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างไว้ควรแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

6.1 อุปกรณ์และวิธีการ

6.1.1 นำเนื้อเยื่อตับมาเติม trichloro acetic acid (TCA) 5 % แล้วนำไป homogenize 2
นาที ที่ความเร็วรอบ 1,600 rpm

6.1.2 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที (ทำ 2 ครั้ง)

6.1.3 ดูดส่วนใสมา 200-1,000 ไมโครลิตร แล้วเติม TCA 1 มิลลิลิตร และ 95 % ethanol 5 มิลลิลิตร

6.1.4 นำไปอบใน oven ที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง

6.1.5 นำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 15 นาที แล้วเติมน้ำเดือด 0.5 มิลลิลิตร กรดซัลฟิวริกเข้มข้น และ 5 % phenol อย่างละ 5 มิลลิลิตร

6.1.6 นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

7. การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย

7.1 การวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ ด้วยวิธี Koroleff's indophenols blue method (Grasshoff, 1976)

แอมโมเนียทำปฏิกิริยากับ hypochlorite ในสภาวะที่เป็นด่างทำให้เกิด monochloramine เมื่ออยู่ในสารละลายที่มี phenol และ hypochlorite โดยมี nitroprusside ions เป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา จะให้ indophenol blue สีน้ำเงิน วิธีการนี้จะทำให้เกิดการตกตะกอน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นในรูป $Mg(OH)_2$ ในน้ำตัวอย่างตะกอนจะตกเร็วมาก และทั้งส่วนชั้นของเหลวใสไว้ เนื่องจากในขณะที่มีการตกตะกอน hydroxide จะดูดซับพวก particulate matter และ humic substances ทำให้น้ำใส วิธีนี้จึงใช้ได้ดีในการวิเคราะห์แอมโมเนียในเขตนํ้ากร่อยที่มีตะกอนมากๆ หรือนํ้าจืดที่ขุ่นหรือมีสีเนื่องจากสารอินทรีย์วิธีการนี้ไม่มี error จากการเปลี่ยนแปลงความเค็ม

7.1.1 วิธีการวิเคราะห์

1) ตวงตัวอย่างน้ำ 50 ml ใส่ในขวดหรือ flask ที่มีฝาปิด แล้วเติม magnesium sulphate ในอัตราส่วนต่อไปนี้ 1 ml สำหรับน้ำจืด 0.8 ml สำหรับน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 5-15 ppt, 0.5 ml สำหรับน้ำที่มีความเค็ม 15-25 ppt สำหรับน้ำที่มีความเค็มสูงกว่านี้ไม่ต้องเติม magnesium sulphate

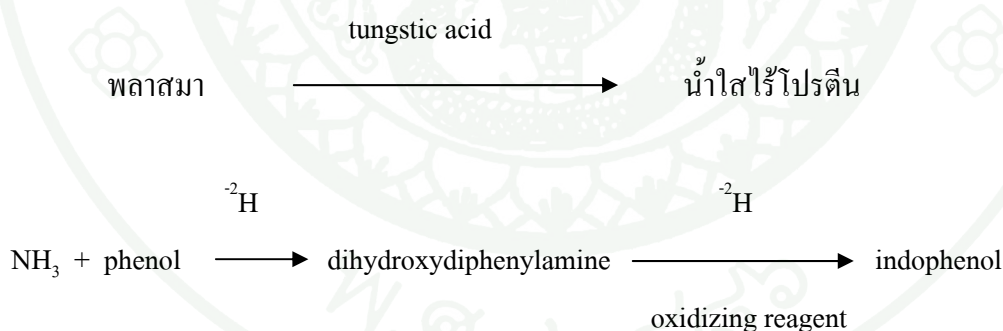
2) เติม phenol reagent 1.5 ml ตามด้วย hypochlorite reagent 1.5 ml ผสมแล้ว ปิดฝาทิ้งไว้ 6 ชั่วโมงหรือข้ามคืน

3) เทเฉพาะของเหลวใสๆ ขึ้นบน มาวัดด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 nm โดยก่อนการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจะต้องปรับตั้งค่า spectrophotometer ที่ศูนย์โดยใช้สารละลาย blank

4) คำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

7.2 การวิเคราะห์แอมโมเนียในเลือดด้วยวิธี Direct colorimetric method (McCullough, 1967)

โปรตีนในพลาสมาเมื่อถูก deproteinizing ด้วย tungstic acid ได้สารละลายใสไร้โปรตีน จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในพลาสมา โดยแอมโมเนียทำปฏิกิริยากับ phenol ในสถานะที่เป็นด่างที่มี alkaline hypochlorite ทำให้เกิด dihydroxydiphenylamine โดยมี potassium hydroxide เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะให้ indophenol สีนํ้าเงิน



7.2.1 สารเคมี

1) deproteinizing reagent (tungstic acid)

Sodiumtungstane	50 g
85 % phosphoric acid	40 ml
น้ำกลั่น	500 ml

ต้มปิดฝา 2 ชั่วโมง โดยทำในตู้ควั่น ก่อนนำไปใช้ให้เจือจาง 1:10 ด้วยน้ำกลั่น

- 2) phenol reagent
- 3) alkaline hypochlorite reagent
- 4) potassium hydroxide reagent โดยละลาย KOH 40 g ในน้ำกลั่น 100 ml

7.2.2 วิธีการ

- 1) กลัวเข็มและกระบอกฉีดด้วย 10% EDTA แล้วเจาะเลือดปลาแล้วนำมาปั่นแยกพลาสมาโดยเร็วที่สุด ถ้าไม่สามารถตรวจวัดได้ภายใน 20 นาที ให้เก็บพลาสมาใส่ช่องแช่แข็ง มิฉะนั้นจะทำให้ค่าแอมโมเนียสูงเกินความเป็นจริง เนื่องจากยังมีเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย amino substance ที่มีในเลือดได้ น้ำที่ใช้เตรียมสารละลายควรใช้น้ำปราศจากไอออน (deionizing water, DI) เครื่องแก้วที่ใช้ควรแช่กรดเกลือ 0.1-0.3 N ค้างคืนแล้วล้างด้วยน้ำ DI
- 2) precipitation step เริ่มจากพลาสมาที่แยกได้จากข้อ 1) 0.5 ml ใส่ในหลอดทดลองเติม tungstic acid 1 ml ปิดหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์ม เขย่าอย่างแรงตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปปั่นที่ 2,500 rpm นาน 10 นาที แล้วดูดส่วนใสไว้โปรตีนจำนวน 1 ml ใส่ในหลอดทดลองใหม่
- 3) color reaction step โดยการเติม phenol 1 ml และ potassium hydroxide 0.5 ml ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วเติม alkaline hypochlorite 1 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หลังจากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นนาน 5 นาที แล้วอ่านค่า absorbance ที่ 660 nm โดยใช้หลอด blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นเติมสารเช่นเดียวกับตัวอย่าง ตั้งค่า 0
- 4) คำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นายเชิด แก้วมณี
เกิดวันที่ 13 สิงหาคม พ.ศ. 2520
สถานที่เกิด อำเภอนวนนิวาส จังหวัดสกลนคร
ประวัติการศึกษา วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิชาการประจำฟาร์ม
สถานที่ทำงานปัจจุบัน บริษัท น้ำใสฟาร์ม จำกัด
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -
ทุนการศึกษาที่ได้รับ ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาระดับปริญญาโท
จาก บริษัท น้ำใสฟาร์ม จำกัด (พ.ศ. 2550)