



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่มีปลาป่นน้อย

Supplementation of Methionine in Low Fish Meal Diets of Nile Tilapia

(*Oreochromis niloticus*)

นามผู้วิจัย นายรัช ตันกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ประทีปย์ ตาบทพิยัวรรณ, Doctorat de 3 e cycle)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์เชษฐ พิชิตกุล, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่มีปลาป่นน้อย

Supplementation of Methionine in Low Fish Meal Diets of Nile Tilapia
(*Oreochromis niloticus*)

โดย

นายรัช ตันกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2554

รัชช ดันกุล 2554: การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่มีปลาปนน้อย
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค. 88 หน้า

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่มีปลาปนน้อย ศึกษาในอาหารปลา
นิลที่ประกอบด้วยปลาปน 3% และเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 % ทดลองในปลานิลน้ำหนัก
เฉลี่ย 137.4 กรัม เลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 1,000 ลิตร ในอัตรา 10 ตัว/ถัง ให้อาหารในอัตราวันละ 3 % ของ
น้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า การเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การใช้โปรตีนในอาหาร อัตรารอด และต้นทุนการผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวันของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 % มี
แนวโน้มมากกว่ากลุ่มอื่นๆ ($p=0.06$) และคุณสมบัติของโปรตีน ในปลาที่เลี้ยงเสริมเมทไธโอนีน
ที่ระดับ 0.25% สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสุขภาพสัตว์น้ำ
พบว่าโปรตีนในเลือด อิมโมโนโกลบูลิน (IgM) และไกลโคเจนไม่แตกต่างกัน แต่น้ำตาลในเลือดของปลานิลที่
ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55% สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่
บริโภคได้ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% (39.36%) และ 0.55% (39.68%) มีค่าสูง
กว่าอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% (36.81%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ดังนั้นการเสริมเมทไธโอนีน
0.25-0.55% ในอาหารปลานิลที่ประกอบด้วยปลาปน 3% มีแนวโน้มในการเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของ
ปลานิล($p=0.06$) และมีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้มีค่าสูงขึ้น ($p\leq 0.05$)

การศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในน้ำเลือดปลานิล พบว่า ปลาที่เลี้ยงเสริมเมทไธโอนีน 3
ระดับ ณ เวลาเริ่มต้น เวลา 1 ชั่วโมง และเวลา 6 ชั่วโมงมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กรดอะมิโนใน
น้ำเลือดหลังให้อาหารทดลองที่เวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง ปลาที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ
0.25%(11.91) และ0.55% (11.85) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% อย่างมีนัยสำคัญ
($p\leq 0.05$) ตามลำดับและกรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร พบว่าอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55% (14.48) และ
0.25% (13.81) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% (12.90) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)
ส่วนน้ำตาลในเลือดปลานิล หลังการให้อาหารทดลอง ณ เวลาเริ่มต้น เวลา 1 ชั่วโมง และเวลา 3 ชั่วโมง มีค่าไม่
แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่น้ำตาลในเลือดหลังให้อาหารทดลองที่เวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ปลาที่ได้รับ
อาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% (68.75) และ 0.55% (68.50) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธ
โอนีนที่ระดับ 0% (49.25) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$)

Tawat Tankool 2011: Supplementation of Methionine in Low Fish Meal Diets of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D. 88 pages.

Supplementation of methionine in low fishmeal diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) was conducted by adding 0, 0.25 and 0.55% methionine in 3% fishmeal diets. Fish with average weight of 137.4 g, were stocked in 1,000 liter fiber tanks at the density of 10 fishes per tank and fed at 3% of body weight per day for 12 weeks. The results indicate no statistical differences on growth performance, specific growth rate, feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), survival rate and feed cost, but weight gain and average daily gain of tilapia fed diet supplemental 0.55% methionine tended to be higher ($p=0.06$) than the other groups. The apparent net protein utilization (aNPU) of tilapia fed diet supplemental 0.25% methionine was significantly higher ($p\leq 0.05$) than the other groups. Blood protein, Immunoglobulin (IgM), and glycogen have no statistical different. Blood glucose of tilapia fed diet supplemental 0.55% methionine was significantly higher ($p\leq 0.05$) than the other groups. Percentage of fillet of tilapia fed diet supplemental methionine 0.25% (39.36%) and 0.55% (39.68%) were significantly higher ($p\leq 0.05$) than group of tilapia fed diet supplemental methionine 0% (36.81%). Therefore, supplemental methionine 0.25 - 0.55% in 3% fishmeal diets can enhance growth performance ($p=0.06$) and increase percentage of tilapia fillet ($p\leq 0.05$).

The amino acid in fish blood were determined on 1,3 and 6 hours after feeding. The results showed no significantly ($p\geq 0.05$) on amino acid level at 0, 1, and 6 hours after feeding. The amino acid level increased in one hours after feeding and decreased in six hours. Serum amino acid at 3 hours after tilapia fed diet supplemental 0.25% methionine is significantly higher ($p\leq 0.05$) than the other groups. Dietary amino acid in supplemental methionine 0.55% (14.48) and 0.25% (13.81) are significantly higher ($p\leq 0.05$) than group of tilapia fed diet supplemental methionine 0% (12.90). There were no statistical differences on blood glucose at 0, 1 and 3 hours, but blood glucose at 6 hours of tilapia fed diet supplemental methionine 0.25% (68.75) and 0.55% (68.50) are significantly higher ($p\leq 0.05$) than group of tilapia fed diet supplemental methionine 0% (49.25).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อรพินท์ จินตสถาพร ประธาน
กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆใน
วิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้การสนับสนุนทุนในการศึกษาและวิจัยวิทยานิพนธ์
และอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประทีปชัย ตาบทิพย์วรรณ กรรมการที่ปรึกษา
ร่วม ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจ
แก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์และสำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดี

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่บิดา มารดา และพี่ๆ
ที่ได้อบรมสั่งสอน สนับสนุนการศึกษาตั้งแต่แรกเริ่มจนถึงปัจจุบัน และให้กำลังใจข้าพเจ้ามาตลอด
ในทุกๆ เรื่อง

ธวัช ดันกุล
ธันวาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	28
อุปกรณ์	28
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์	43
สรุปและข้อเสนอแนะ	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	66
ภาคผนวก	76
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ความต้องการโปรตีนของปลานิลที่เลี้ยงในน้ำจืด	7
2 ความต้องการกรดอะมิโนของปลานิลขนาดเล็ก	8
3 เปรียบเทียบปริมาณเปอร์เซ็นต์กรดอะมิโนในกากถั่วเหลืองและปลาป่น	22
4 สูตรอาหารและองค์ประกอบโภชนาอาหารปลานิล (<i>Oreochromis niloticus</i>)	33
5 การเจริญเติบโต อัตรารอด และต้นทุน ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ระยะเวลา 12 สัปดาห์	43
6 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ระยะเวลา 12 สัปดาห์	45
7 เปอร์เซนต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเมทไธโอนีนระดับต่างๆ	48
8 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ที่ระดับต่างๆ	50
9 ค่าดัชนีตับต่อตัว และค่าไกลโคเจนที่ตับของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	52
10 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	54
11 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรท์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ อุณหภูมิ และตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)	59
12 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในเลือด หลังจากการให้อาหารเก็บตัวอย่างเลือด 4 ช่วงเวลา และกรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)	60
13 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในเลือด หลังจากการให้อาหารเก็บตัวอย่างเลือด 4 ช่วงเวลา (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แผนภาพเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน	14
2 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและโครงสร้างของกรดอะมิโนซิสทีน	18
3 การเปลี่ยนแปลง Met ต่อการสังเคราะห์ Cysteine	20
4 เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเมทไธโอนีนระดับต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	49
5 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ	51
6 ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index)	53
7 ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen)	53
8 โปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	54
9 ค่า immunoglobulin M (Ig M) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	55
10 ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	56
11 กรดอะมิโนในน้ำเลือด ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ณ ช่วงเวลาต่างๆ	61
12 กรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร	62
13 น้ำตาลในน้ำเลือด ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ณ ช่วงเวลาต่างๆ	63

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

aNPU	=	apparent net protein utilization
FM	=	fish meal
FCR	=	feed conversion efficiency
Ig M	=	immunoglobulin M
PER	=	protein efficiency ratio
SGR	=	specific growth rate

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลาชนิด (*Oreochromis niloticus*) ที่มีปลาป่นน้อย

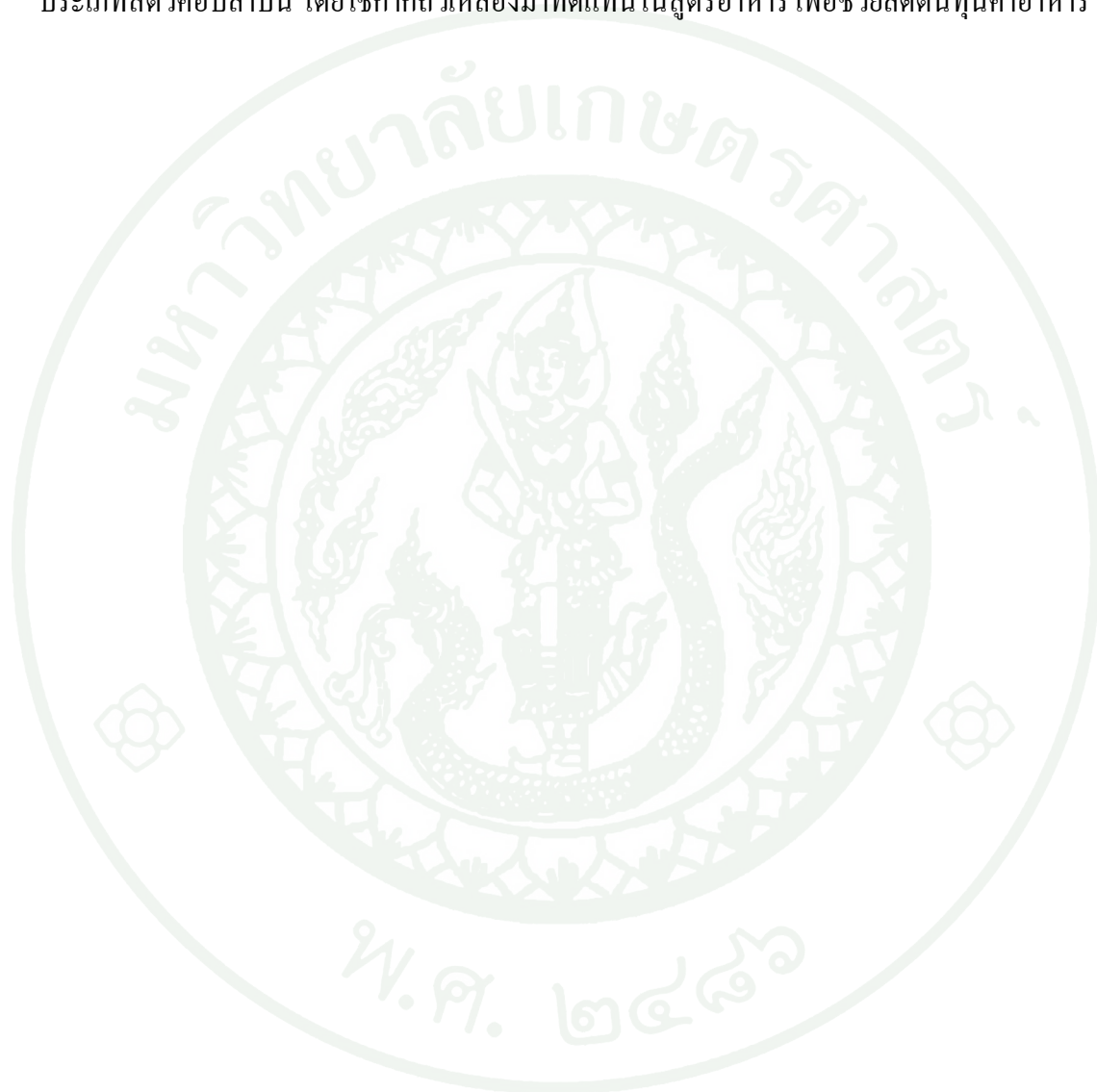
Supplementation of Methionine in Low Fish Meal Diets of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

คำนำ

การพัฒนาอาหารสัตว์น้ำโดยทั่วไปจะมุ่งเน้นทางด้านคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และ วิตามิน ที่สัตว์น้ำต้องการ รวมถึงการปรับปรุงรูปแบบของอาหารให้มีความเหมาะสมกับสัตว์น้ำในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต เพื่อให้สัตว์น้ำได้รับคุณค่าทางโภชนาการที่ครบถ้วน ตลอดจนการเลือกใช้วัตถุดิบทดแทนเพื่อที่จะลดต้นทุนในการผลิต ในปัจจุบันมีประเด็นหลักคือการผลิตอาหารปลาที่ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยต้นทุนต่ำเพื่อผลตอบแทนสูงสุด ต้นทุนของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลานั้นส่วนใหญ่แล้วมาจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนซึ่งแหล่งโปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น ส่วนแหล่งโปรตีนจากพืช ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากพืช น้ำมัน วัตถุดิบต่าง ๆ ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้มีการปลอมปนสูงโดยเฉพาะปลาป่น นอกเหนือไปจากความผันแปรของโภชนะในวัตถุดิบอาหารซึ่งเปลี่ยนไปตามฤดูและคุณภาพของปลาที่นำมาผลิตปลาป่น ทำให้การควบคุมการผลิตอาหารปลาให้ได้คุณภาพอย่างสม่ำเสมอ นั้นทำได้ยาก การศึกษาเพื่อหาแหล่งโปรตีนอื่นมาทดแทนปลาป่น มีแนวโน้มที่จะนำแหล่งโปรตีนราคาถูกจากพืชมาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร แต่โปรตีนจากพืชมีข้อจำกัด คือมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำในปริมาณน้อย หรือขาดกรดอะมิโนจำเป็นบางตัว จึงต้องมีการปรับสมดุลกรดอะมิโนในสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อตัวปลา

กรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนจำเป็นซึ่งปลาต้องได้รับจากสารอาหารให้เพียงพอ กับความต้องการ และเป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณน้อย (first limiting amino acid) เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ เพราะฉะนั้นการทำอาหารสัตว์น้ำที่ใช้วัตถุดิบจากพืชสูงๆ และใช้ปลาป่นปริมาณต่ำๆ ที่น้อยกว่า 30% ของโปรตีนรวม ในสูตรอาหารจึงจำเป็นต้องเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์เพื่อเป็นแหล่งกรดอะมิโนที่มีปริมาณน้อยในวัตถุดิบประเภทพืช ให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลที่ประกอบด้วยปลาป่นในปริมาณน้อย ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ในอาหาร และสุขภาพสัตว์น้ำ ดังนั้นศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมของปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในสูตรอาหาร ที่นำโปรตีนจากวัตถุดิบประเภทพืชมาทดแทนโปรตีนจากวัตถุดิบประเภทสัตว์คือปลาป่น โดยใช้กากถั่วเหลืองมาทดแทนในสูตรอาหาร เพื่อช่วยลดต้นทุนค่าอาหาร



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลที่ใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ในอาหาร และสุขภาพสัตว์น้ำ
2. เพื่อศึกษาผลของระดับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนและโปรตีนในเลือดปลาภายหลังการให้อาหารในเวลาที่แตกต่างกัน



การตรวจเอกสาร

ปลานิล

ปลานิล *Oreochromis niloticus* (Linn) มีชื่อสามัญว่า Nile tilapia เป็นปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกาแต่สามารถแพร่กระจายพันธุ์ได้คืบจนพบทั่วทุกภาคของโลก ปลานิลนี้มีความแข็งแรงทนทานต่อสภาพแวดล้อม เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็วและสามารถขยายพันธุ์ได้เองในธรรมชาติ จึงมีผู้นิยมเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารโปรตีน และเพื่อเป็นการค้าได้

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

ปลานิลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Oreochromis niloticus*) จัดอยู่ในวงศ์ Cichlidae รูปร่างของปลานิลคล้ายปลาหมอเทศ มีริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล และมีลายพาดขวาง 9 – 10 แถบ ครีบหลัง ครีบกันและครีบท้องมีจุดขาว และเส้นสีดำตัดขวาง ปลานิลมีลักษณะต่างจากปลาหมอเทศตรงที่ปลานิลมีเกล็ด 3 แถวที่บริเวณแก้ม และอีก 1 แถว บริเวณเหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย ครีบหลังมีตอนเดียวประกอบด้วยครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอก 9 – 10 อัน บนเส้นข้างตัวมีเกล็ด 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเฉียงจากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัว มีสีเขียวปนน้ำตาลตรงกลางมีเกล็ดสีเข้มที่กระดูกแก้มมีสีเข้มอยู่ 1 จุดบริเวณปลายอ่อนของครีบหลัง ครีบกัน และครีบท้องมีจุดสีขาว และเส้นสีดำตัดขวางอยู่ทั่วไป (มานพ และคณะ, 2536)

นิสัยการกินอาหาร

ปลานิลเป็นปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ (omnivorous) ชอบกินสาหร่าย แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์และอินทรีย์วัตถุที่อยู่ก้นบ่อ ปลานิลมีฟันอยู่ตำแหน่งขากรรไกรและกระดูกคอทำหน้าที่บดอาหารให้มีขนาดเล็กก่อนส่งผ่านเข้ากระเพาะ (Jauncey and Ross, 1982) กระเพาะอาหารตอนต้นมีลักษณะพิเศษคือน้ำย่อยมีความเป็นกรดสูงค่า pH อาจต่ำกว่า 1.5 (Moriarty *et al.*, 1973) ซึ่งสามารถย่อยแพลงก์ตอนพืช และสิ่งเน่าเปื่อยได้ดี

ปลานิลมีฟันขนาดเล็กบนขากรรไกรและบริเวณคอหอย (วีรพงศ์, 2536) ไม่มีกระเพาะแท้เหมือนปลากินเนื้อ แต่ทางเดินอาหารส่วนที่ต่อจากหลอดคอพัฒนามีโครงสร้างคล้ายกระเพาะหรือ

อาจเรียกว่ากระเพาะดัดแปลง (modified stomach) ซึ่งสามารถหลั่งน้ำย่อยเพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่างระหว่างการย่อยอาหารได้ ท่อทางเดินอาหารมีความยาวเป็น 5-8 เท่าของความยาวลำตัว (กลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ, 2534) ซึ่งมีประโยชน์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและการดูดซึมอาหาร รวมทั้งเป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถสังเคราะห์สารอาหารประเภทวิตามินได้ด้วย (มานพและคณะ, 2536) ปลานิลกินอาหารตลอดเวลาและกินจุ ปลานิลขนาดต่าง ๆ ชอบกินอาหารต่างกันเล็กน้อยปลานิลขนาด 1-2 นิ้ว กินรำ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ครัสเตเชียน และสาหร่ายเส้น ปลานิลขนาด 3-5 นิ้ว ส่วนใหญ่กินสาหร่ายเส้น และซากเน่าเปื่อย ส่วนน้อยกิน แพลงก์ตอนพืช ตัวอ่อนกุ้ง ปู แพลงก์ตอนสัตว์ ปลานิลขนาด 6-8 นิ้ว ส่วนใหญ่กินซากเน่าเปื่อย สาหร่ายเส้น ส่วนน้อยกินตัวอ่อนของกุ้ง ปู แพลงก์ตอนพืช นอกจากนี้มูลไก่ ตะไคร่น้ำ และของเน่าเปื่อยต่าง ๆ ปลานิลก็กินได้ ปลานิลขนาดใหญ่และตัวเต็มวัย อาหารส่วนใหญ่เป็นพวกพืช การที่ปลานิลสามารถกินพวกเชื้อเอนไซม์ได้ดี เนื่องจากมีทางเดินอาหารยาว (Viola and Arieli, 1983)

การผสมพันธุ์และการวางไข่

ปลานิลมีการผสมพันธุ์และวางไข่ได้ปีละประมาณ 3 – 4 ครั้ง ตัวเมียจะเริ่มวางไข่เมื่อมีความยาวเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 200 – 500 กรัม จะให้ลูกรุ่นละประมาณ 400 – 1,000 ตัว (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2526)

ระบบการย่อยอาหารของปลานิล

ระบบการย่อยอาหารของปลาเริ่มต้นที่กระเพาะ แทนที่จะเป็นปาก เอนไซม์บางชนิดถูกหลั่งจากผนังทางเดินอาหาร สารอาหารที่ถูกย่อยจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดโดยกระบวนการ passive diffusion , active transport และ กระบวนการ pinocytosis ไปสู่ตับ โดยเส้นเลือด portal vein สำหรับอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ ประมาณ 10 – 20% จะถูกขับถ่ายเป็นอุจจาระ กระบวนการย่อยอาหารในปลาโดยทั่วไปจะมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่ในปลานิลจะมีข้อแตกต่างออกไป คือปลานิลมีกระเพาะแบบกระเพาะดัดแปลง ไม่เป็นกระเพาะแท้จริง และมีลำไส้ที่ยาว ระบบการย่อยอาหารของปลานิลในการเลี้ยงแบบ intensive สิ่งสำคัญคือปริมาณออกซิเจนเมื่อมีการย่อยอาหารออกซิเจนจะถูกใช้เพิ่มขึ้น 50% และการไหลเวียนของเลือดบริเวณลำไส้จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า

ความต้องการสารอาหาร

โปรตีน

ปลานิลต้องการโปรตีนเพื่อการเติบโตและสร้างเนื้อโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบ มีมากถึง 60 % (น้ำหนักแห้ง) ในตัวปลานิล ความต้องการโปรตีนของปลานิลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่สำคัญได้แก่ ขนาด หรืออายุของปลา คุณภาพของโปรตีนในอาหารและระดับพลังงานในอาหาร (มานพ และคณะ, 2536) อาหารที่ใช้เลี้ยงปลานิลในเมืองร้อนควรประกอบด้วยโปรตีน 25-39 % และควรมีโปรตีนจากสัตว์รวมอยู่ด้วยอย่างน้อย 1 ใน 3 (Davis and Stickney, 1978) อย่างไรก็ตาม Lovell (1980) ได้แนะนำว่าในทางปฏิบัติมี 2 สถานะที่ควรนำมาพิจารณาถึงระดับโปรตีน คือระดับโปรตีนในอาหารที่ประหยัดที่สุดแม้ว่าจะไม่ทำให้มีการเจริญเติบโตสูงสุดคือประมาณ 28 % และในกรณีเลี้ยงในบ่อดินปลานิลอาจจะได้รับอาหารธรรมชาติซึ่งมีโปรตีนสูงดังนั้นระดับโปรตีนอาจจะต่ำเพียง 20-25 % ก็เป็นการเพียงพอแล้ว

โปรตีนจากพืชจะแตกต่างจากโปรตีนจากสัตว์ เนื่องจากชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ปลาแต่ละชนิดต้องการโปรตีนในระดับที่แตกต่างกัน ปลากินเนื้อต้องการโปรตีนสูงกว่าปลากินทั้งเนื้อและพืชหรือปลากินพืชอย่างเดียว และปลาว่ายอ่อนต้องการโปรตีนมากกว่าปลาที่เจริญเต็มวัยแล้ว

ระดับโปรตีนจะต้องได้สัดส่วนกับระดับพลังงานในอาหาร เพราะปลาจะกินอาหารให้ได้พลังงานตามที่ร่างกายต้องการแล้วจะหยุดกิน พลังงานจึงเป็นตัวควบคุมปริมาณอาหารที่ปลาจะกินในแต่ละวัน ดังนั้นถ้าเตรียมอาหารที่มีระดับพลังงานสูงเป็นต้องมีโปรตีนและอาหารอื่นในปริมาณที่สูงขึ้นด้วย อาหารที่มีระดับโปรตีนมากเกินไป แต่มีพลังงานที่มาจากแหล่งอื่นต่ำจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาชะงัก ดังนั้นจึงพอสรุปได้ว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานมาจากโปรตีนมากๆ ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากโปรตีนจะลดลง (FAO/UNDP, 1980)

ตารางที่ 1 ความต้องการโปรตีนของปลานิลที่เลี้ยงในน้ำจืด

ชนิดของปลานิล	ขนาดปลา (กรัม)	ความต้องการโปรตีน (%)
<i>Oreochromis mossambicus</i>	1.0 – 2.5	29 – 38
	Fry	50
	0.5 – 1.0	40
	6 – 30	30 – 35
	1.8	40
<i>Oreochromis niloticus</i>	1.5 – 7.5	36
	3.2, 3.7	30
	0.838	40
	40	30
<i>Oreochromis niloticus</i> X <i>Oreochromis aureus</i>	0.6 – 1.1	32
<i>Oreochromis niloticus</i>	24	27.5 – 35
	0.012	45
<i>Oreochromis aureus</i>	0.3 - 0.5	36
	0.16	40
<i>Tilapia zillii</i>	1.7	35 – 40
	1.65	35

ที่มา: Webster and Lim (2002)

ปลานิลมีความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นเช่นเดียวกับปลาชนิดอื่น ได้แก่ arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan และ valine ปริมาณความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นที่ปลานิลขนาดเล็กต้องการเพื่อการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความต้องการกรดอะมิโนของปลานิลขนาดเล็ก

กรดอะมิโน	ความต้องการกรดอะมิโน (% โปรตีน)
Arginine	4.20
Histidine	1.72
Isoleucine	3.11
Leucine	3.39
Lysine	5.12
Methionine	2.68
Phenylalanine	3.75
Threonine	3.75
Tryptophan	1.00
Valine	2.80

ที่มา: Webster and Lim (2002)

ไขมัน

ปลานิลต้องการไขมันเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน และเป็นตัวให้กรดไขมัน แม้ว่าปลานิลจะย่อยไขมันในอาหารได้ดี แต่การนำไขมันที่ย่อยได้ไปใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงานมีขีดจำกัด ไขมันที่มีมากเกินไป 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เกินจะไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์และทำให้อัตราการแลกเนื้อดีขึ้นแต่อย่างไร ในทางตรงกันข้ามไขมันส่วนเกินนี้จะสะสมตามอวัยวะภายในและกล้ามเนื้อ หากไขมันในอาหารสูงเกินกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต และถ้าปลานิลได้รับอาหารที่มีไขมันสูงเป็นเวลานานจะทำให้ปลานิลเกิดความเครียดและเป็นโรคร่ายหรือตายเพราะโรคตับ (มานพ และคณะ, 2536) ปริมาณไขมันที่เหมาะสมในปลานิลประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

กรดไขมันที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และเสริมโครงสร้างเซลล์ของปลานิลคือ กรดไขมันจำพวกโอเมก้า 6 คือ Linoleic ปลานิลมีความต้องการประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ สารอาหารจำพวกไขมันเป็นสารอาหารแหล่งเดียว ที่เป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็น ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของร่างกาย ไขมันเป็นตัวพาที่สำคัญของวิตามิน และยังมีส่วนช่วยในการดูดซึม

วิตามินที่ละลายในไขมันด้วย ฟอสโฟลิปิดเป็นไขมันชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อโครงสร้างของเซลล์ และการบำรุงรักษาความยืดหยุ่น และ ความสามารถในการซึมผ่านของสารของเยื่อหุ้มต่าง ๆ ให้อยู่ในสภาวะปกติ นอกจากนี้ไขมันยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ steroid hormone และ prostaglandins ด้วย ไขมันในอาหารมีส่วนช่วยในการเพิ่มกลิ่นของอาหาร และ เพิ่มกรดไขมันในปลานิลด้วย (Webster and Lim, 2002)

จากการศึกษาในปลา *Tilapia zillii* ของ Teshima et al. (1978) พบว่าการเพิ่มระดับไขมันในอาหารสูงถึง 15 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเพิ่ม protein efficiency ratio (PER) และ protein production value (PPV) นอกจากนี้ยังพบว่าปลานิลสามารถเก็บสะสมไขมันไว้ในตัวหรือส่วนที่เรียกว่า carcass และ อวัยวะภายในได้ด้วย แต่ไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตได้ (Hanley, 1991) ระดับไขมันในอาหารมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ซึ่งพบว่าการใช้ไขมันในสูตรอาหารเพิ่มจาก 5.7 เปอร์เซ็นต์ เป็น 9.4 เปอร์เซ็นต์ และระดับคาร์โบไฮเดรตจาก 31.9 เปอร์เซ็นต์ เป็น 36.9 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารจาก 33.2 เปอร์เซ็นต์ เป็น 25.7 เปอร์เซ็นต์ ได้ (Webster and Lim, 2002)

ระดับไขมันที่สูงเกิน 12 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีผลทำให้การเจริญเติบโตในปลานิลขนาดกลางลดลง ซึ่งระดับที่ทำให้ปลานิลในระยะนี้มีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือที่ระดับ 12 เปอร์เซ็นต์ ระดับไขมันต่ำสุดในอาหารของปลานิลระยะ juvenile ไม่ควรต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นระดับไขมันที่เหมาะสมในสูตรอาหารของปลานิลระยะ juvenile ควรอยู่ที่ระดับ 5 – 12 เปอร์เซ็นต์ (Chou and Shiau, 1996)

ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งของพลังงานราคาถูก แต่การใช้ประโยชน์ได้ในปลานิลมีความผันแปร และใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ ปลานิลสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้น้อยมาก การพิสูจน์ และการศึกษาความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปลานิลมีค่อนข้างน้อย มีรายงานเพียงการใช้ประโยชน์จากแป้งสูงกว่าการใช้ประโยชน์จากกลูโคสในปลานิล (Shiau and Lin, 1993) และมีรายงานว่า การใช้ประโยชน์ของ disaccharides มีค่าสูงกว่าในกลูโคส แต่ก็ยังมีค่าต่ำกว่าการใช้ประโยชน์ได้จากแป้ง (Shiau and Chuang, 1999)

จากรายงานของ Lin and Shiau (1955) พบว่าปลานิลที่ได้รับแป้งเป็นอาหารมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ malic enzyme, glucose - 6 - phosphate dehydrogenase (G - 6 - PD) และ phosphogluconate dehydrogenase (PGD) สูงกว่าปลานิลที่ได้รับกลูโคสเป็นอาหาร และเมื่อเปลี่ยนให้ปลาได้รับกลูโคสเป็นอาหารแทนแป้งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวมีค่าลดลง ในขณะที่เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารจากกลูโคสเป็นแป้งอีกครั้ง มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ดังกล่าวในระดับของปลานิล

วิตามิน

การศึกษาความต้องการวิตามินในปลานิลมีค่อนข้างจำกัด ที่ศึกษาเกี่ยวข้องกับวิตามิน C, E, B₁₂ เป็นต้น พบว่าปลานิลไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินเหล่านี้ได้ จึงจำเป็นต้องเสริมในอาหารในปริมาณ 50 มก./อาหาร 1 กก. (Strickney and Hardy, 1989) ปลานิลสามารถใช้วิตามินซีในรูปแบบต่างๆ ได้เทียบเท่ากัน ไม่ว่าจะอยู่ในรูปวิตามินซีอิสระ ในรูปเกลือ โซเดียม วิตามินซีเคือบและวิตามินซีซัลเฟต วิตามินซีจำเป็นต่อการสังเคราะห์คอลลาเจน ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญของกระดูก เหนือก เส้นเลือด และครีบ อาการขาดวิตามินที่เห็นได้ชัด ได้แก่ ลำตัวคดงอ ตกเลือดตามครีบ และผิวหนังมีสีคล้ำ วิตามินซีมีประโยชน์ต่อแม่พันธุ์ปลาหมอคโดยช่วยให้ไข่ตก อัตราการฟักสูงและลูกปลาแข็งแรง

จากการศึกษาปลานิลแดง (*O. mossambicus* X *O. niloticus*) ระยะกลาง เลี้ยงในน้ำเค็มที่ความเค็ม 32 ppt ได้รับวิตามิน Thiamine ไม่เพียงพอ พบว่า การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และระดับ haematocrit ลดลง ระดับที่เหมาะสมของวิตามิน Thiamine ที่ทำให้ปลานิลแดงมีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ ที่ระดับ 2.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Lim and Master, 1991) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการขาดวิตามิน riboflavin ในปลานิล พบว่าปลานิลจะมีความผิดปกติทางร่างกาย เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายเพิ่มขึ้น สีซีดผิดปกติ ซึ่งระดับวิตามิน riboflavin ที่เหมาะสมสำหรับปลานิล *O. aureus* ระยะเล็ก ที่เลี้ยงในน้ำจืด ได้แก่ 6 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และในปลานิลแดง (*O. mossambicus* X *O. niloticus*) ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 32 ppt พบว่าระดับวิตามิน riboflavin ที่เหมาะสมได้แก่ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

สำหรับปลานิลที่ได้รับวิตามิน pyridoxine ไม่เพียงพอ หรือไม่ได้รับวิตามินจะทำให้ระบบประสาททำงานผิดปกติ เกิดความผิดปกติทางร่างกาย เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตลดลง เกิดการกระดูกอย่างแรงของร่างกาย ครีบกร่อน เกิดการผิดปกติของเนื้อเยื่อบริเวณปาก อัตราการตาย

เพิ่มขึ้น ซึ่งระดับวิตามิน pyridoxine ที่ทำให้ปลานิลระยะเล็ก ที่เลี้ยงในน้ำจืด มีการเจริญเติบโตดีที่สุดได้แก่ที่ระดับ 1.7 – 9.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Shiau and Hsieh, 1997)

ระดับวิตามิน biotin ที่ทำให้ปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Shiau and Chin, 1999) ความต้องการ choline ในปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* มีค่าเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

เมื่อปลานิล *O. aureus* ได้รับวิตามิน pantothenic acid ไม่เพียงพอจะมีผลให้การเจริญเติบโตลดลง เกิดการตกเลือด อัตราการตายสูง โลหิตจาง ซึ่งระดับเหมาะสมที่ปลานิลควรจะได้รับคือ 10 มิลลิกรัม calcium – pantothenate ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Soliman and Wilson, 1992)

การเสริมวิตามิน C ในอาหารปลานิล *O. aureus* ที่ระดับ 50 มิลลิกรัม ascorbic acid ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Stickney et al., 1984) มีผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตตามปกติ แต่ในปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* ระยะ juvenile พบว่าการเสริมวิตามิน C ที่ระดับ 79 มิลลิกรัม ascorbic acid ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (Shiau and Jan, 1992) สำหรับระดับวิตามินซีที่แนะนำให้ใช้ในปลานิล *O. niloticus* เท่ากับ 420 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร (Soliman et al., 1994)

แร่ธาตุ

ความต้องการแร่ธาตุของปลานิลมีการศึกษาน้อย ศึกษาในแร่ธาตุ 5 ชนิด คือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม สังกะสี และ โพแทสเซียม ในน้ำที่ระดับแคลเซียมต่ำ การเสริมแร่ธาตุในอาหารมีค่าดังนี้คือเสริม calcium ที่ระดับ 0.7% และ phosphorous 0.5% ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งจะทำให้ปลานิล *O. aureus* มีการเจริญเติบโต และมีการสะสมแร่ธาตุในกระดูกที่ปกติ สำหรับปลานิล *O. nilotica* ระดับฟอสฟอรัสที่น้อยกว่า 0.9% ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลให้การเจริญเติบโต และการสะสมแร่ธาตุในกระดูกมีค่าดีที่สุด (Watanabe et al., 1980)

ในปลานิล *O. aureus* แร่ธาตุ แมกนีเซียม ที่ระดับ 0.05% และ สังกะสี ที่ระดับ 0.02% เป็นระดับที่มีผลให้การเจริญเติบโตสูงที่สุด และในปลานิล *O. niloticus* ระดับแร่ธาตุ แมกนีเซียม

และ สังกะสี ที่ระดับเหมาะสมคือ 0.059 – 0.077% (Dabrowska *et al.*, 1989) และ 0.03 %ตามลำดับ (Eid and Ghonim, 1994)

ความต้องการกรดอะมิโนของปลานิล

กรดอะมิโนที่พบมากในโปรตีนจากธรรมชาติมีอยู่ 20 ชนิด แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามคุณค่าทางโภชนาการ (Lovell, 1988) คือ

1. กรดอะมิโนจำเป็น (essential หรือ indispensable amino acids) หมายถึงกรดอะมิโนที่ปลาไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ หรือสังเคราะห์ได้ในปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จึงต้องได้รับเพียงพอและเหมาะสมจากอาหาร ซึ่งมี 10 ชนิด ด้วยกัน คือ อาร์จินีน (Arginine, Arg) ฮิสทีดีน (Histidine, His) ไอโซลิวซีน (Isoleucine, Ile) ลิวซีน (Leucine, Leu) ไลซีน (Lysine, Lys) เมทไธโอนีน (Methionine, Met) เฟนิลอะลานีน (Phenylalanine, Phe) ทรีโอนีน (Threonine, Thr) ทริปโทเฟน (Tryptophan, Trp) และวาลีน (Valine, Val)

2. กรดอะมิโนไม่จำเป็น (non-essential หรือ dispensable amino acids) หมายถึงกรดอะมิโนที่ปลาสามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายได้แก่ อะลานีน (Alanine, Ala) ไกลซีน (Glycine, Gly) ซีสทีน (Cysteine, Cys) โพรลีน (Proline, Pro) แอสปาร์ราจิน (Asparagine, Asn) กรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid, Asp) กรดกลูตามิก (Glutamic acid, Glu) กลูตามีน (Glutamine, Gln) ซีรีน (Serine, Ser) และไทโรซีน (Tyrosine, Tyr)

โปรตีนจากอาหารที่ปลานิลได้รับจะถูกย่อยด้วยกลุ่มเอนไซม์ที่เรียกว่า proteases ในกระเพาะและลำไส้เล็กโดยย่อยโปรตีนให้เป็นหน่วยย่อย (monomer) คือ กรดอะมิโน ในที่สุดจะถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็ก เข้าสู่กระแสเลือดและกระจายไปยังอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย เพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆ โดยสรุปได้ดังนี้

1. เป็นสารตั้งต้น (precursor) ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งทำหน้าที่หลากหลายชนิด เช่น แอกติน (actin) และ ไมโอซิน (myosin) ของกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดหดตัว (contractile protein) เอนไซม์ โปรตีนขนส่ง (transport protein) โปรตีนสะสม

(storage protein) โปรตีนโครงสร้าง (structural protein) โปรตีนควบคุม (control protein) โปรตีนป้องกัน (protective protein) และโปรตีนที่เป็นพิษ (toxin) เป็นต้น ดังนั้นเมื่อปลาได้รับโปรตีนหรือกรดอะมิโนจากอาหารไม่พอเพียง จึงมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตช้าลง

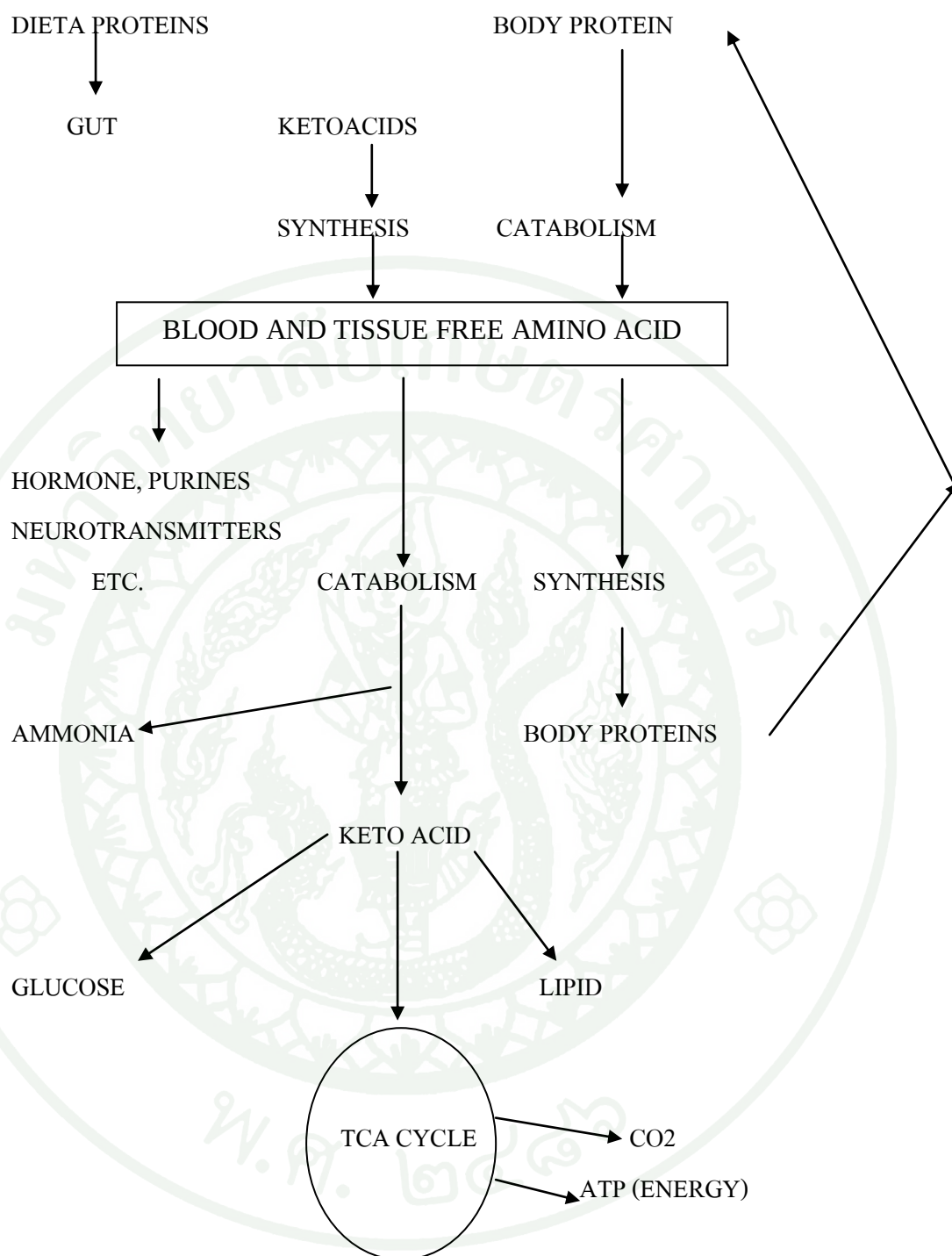
2. กรดอะมิโนอิสระในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อจะถูกควบคุมให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมและสมดุลอยู่เสมอ การปรับระดับดังกล่าวอาจเกิดขึ้นได้โดย 2 กระบวนการสำคัญคือ

กระบวนการที่ 1 เปลี่ยนเป็นไขมันหรือไกลโคเจนสะสมในร่างกาย พร้อมทั้งจะนำกลับมาใช้เป็นพลังงาน เมื่อร่างกายขาดอาหารเป็นระยะเวลานานหลายวัน

กระบวนการที่ 2 เผาผลาญให้เกิดพลังงาน โดยหมู่อะมิโนจะถูกกำจัดออกไปเป็นแอมโมเนีย และกรดอะมิโนที่ถูกกำจัดหมู่อะมิโนก็จะกลายเป็นกรดคีโต (keto acid) ซึ่งพร้อมที่จะเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิก (tricarboxylic acid cycle; TCA cycle) เพื่อเผาผลาญเป็นพลังงาน (Cowey and Walton, 1989)

ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนจำเป็นแก่ร่างกายในปริมาณที่ต่ำกว่าความต้องการจะมีการเจริญเติบโตช้า ไม่อยากกินอาหาร และมีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ (Ketola, 1982) นอกจากนี้ อาจแสดงอาการผิดปกติทางพยาธิสภาพ มีรายงานว่า ปลา lake trout ที่ได้รับอาหารที่มีเมทไธโอนีนต่ำ มีอาการเป็นดื้อ (Poston et al., 1977 อ้างโดย Ketola, 1982) ปลา sockeye salmon ที่ได้รับอาหารที่มีทริปโตเฟนต่ำ ส่งผลให้มีรูปร่างลักษณะผิดปกติตัวคดงอ (scoliosis และ lordosis) (Hslver and Shanks, 1960 อ้างโดย Ketola, 1982) การได้รับอาหารที่มีไลซีนต่ำ ส่งผลให้ปลา rainbow trout มีครีบหลังและหางเป็นแผลขาดกร่อนและมีอัตราการตายสูง (Ketola, 1983)

นอกจากปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นแล้วความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเช่นกัน ความไม่สมดุลของกรดอะมิโนทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากความเป็นปฏิปักษ์ (antagonism) หรือความเป็นพิษ (toxicity) ของกรดอะมิโน (Lovell, 1988)



ภาพที่ 1 แผนภาพเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน

ที่มา : Cowey and Walton (1989)

การศึกษาระดับความต้องการกรดอะมิโนในอาหารปลา

การศึกษาด้านนี้ทำให้ทราบถึงปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่ปลาแต่ละชนิดต้องการซึ่งวิธีการในการศึกษามีดังนี้

1. การศึกษาการเจริญเติบโต (growth studies)

โดยผลิตอาหารทดลองที่มีกรดอะมิโนที่ต้องการศึกษาในปริมาณแตกต่างกันแล้วนำไปให้ปลากินในช่วงเวลาหนึ่งจากนั้นวัดอัตราการเจริญเติบโต และประเมินระดับกรดอะมิโนที่เหมาะสมได้จากจุดเปลี่ยน (break point) ของกราฟตอบสนองการเจริญเติบโต (growth response curve) โดยน้ำหนักปลาจะเพิ่มขึ้น เมื่อระดับกรดอะมิโนในอาหารเพิ่มขึ้น จากนั้นใช้วิธีทางสถิติโดยใช้ broken – line model หรือ quadratic regression ในการหาจุดที่เป็นจุดเปลี่ยนของกราฟ ซึ่งจะเป็นระดับของกรดอะมิโนในอาหารที่ปลาต้องการ (Willson, 1994) หรือใช้ non-linear regression ซึ่งมี 4 พารามิเตอร์ สร้างกราฟการตอบสนองเพื่อกำหนดระดับของกรดอะมิโนที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต (Cho et al., 1992; Mercer, 1982) อาหารที่ใช้ในการศึกษาความต้องการกรดอะมิโนของปลา นิยมใช้แหล่งโปรตีนบริสุทธิ์ เช่น เซอีน (zein) เคซีน (casein) อัลบูมิน (albumin) และเจลาติน (gelatin) มากกว่าโปรตีนธรรมชาติ เช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง เนื่องจากควบคุมปริมาณสารอาหารได้ง่ายและนิยมใช้แหล่งพลังงานจาก เด็กซ์ตริน (dextrin) แป้ง หรือ ไขมัน เป็นต้น อาจใช้แหล่งโปรตีนตัวใดตัวหนึ่งร่วมกัน แล้วใส่กรดอะมิโนที่ต้องการศึกษาในปริมาณแตกต่างกันโดยนิยมผลิตอาหารทดลองให้มีองค์ประกอบเช่นเดียวกับไขไก่ทั้งฟอง ไข่ปลาหรือเนื้อเยื่อของปลา (Lovell, 1988)

2. การศึกษากรดอะมิโนในซีรัมหรือพลาสมาหรือเนื้อเยื่อ (serum or plasma or tissue amino acid studies)

ระดับกรดอะมิโนในซีรัมหรือพลาสมาหรือเนื้อเยื่อของปลา มีความสัมพันธ์กับกรดอะมิโนในอาหารที่ปลากิน ระดับกรดอะมิโนในซีรัมหรือพลาสมาหรือเนื้อเยื่อจะต่ำเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนในปริมาณน้อย หรือเพียงพอกับความ ต้องการ และจะมีค่าสูงขึ้น เมื่อได้รับกรดอะมิโนปริมาณเกินความต้องการ สามารถใช้ค่าที่ได้จากวิธีการนี้ประเมินความต้องการกรดอะมิโนของปลาพร้อมกับค่าที่ได้จากการเจริญเติบโต (Willson, 1994)

Lall et al. (1994) ได้ทำการศึกษาความต้องการกรดอะมิโนอาร์จินีนของปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) โดยการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลอง เป็นเวลา 14 สัปดาห์ แล้วทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลา ในช่วงเวลาที่ 6 หลังจากกินอาหาร แล้วนำมาวัดค่าอาร์จินีนอิสระในพลาสมา พบว่า ระดับอาร์จินีนอิสระในพลาสมาสูงขึ้น เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีอาร์จินีนเพิ่มขึ้น เมื่อนำค่าอาร์จินีนอิสระในพลาสมาของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มาหาความสัมพันธ์กับปริมาณในอาหารที่ปลาได้รับ เพื่อประเมินค่าอาร์จินีนในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา พบว่า ค่าคงที่ได้จากการศึกษาดังวิธีนี้มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการศึกษาการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตาม การศึกษาความต้องการกรดอะมิโนของปลาด้วย วิธีการนี้อาจได้ค่าที่มีความแตกต่างจากการศึกษาการเจริญเติบโตมาก ทั้งนี้เนื่องจากสภาพทางสรีระวิทยาของปลา (physiological status) ขณะเก็บตัวอย่างเลือด จะมีผลต่อองค์ประกอบกรดอะมิโนในพลาสมา ทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อนสูงจนไม่สามารถใช้ประเมินความต้องการกรดอะมิโนของปลาได้ (Keembiyachetty and Gatlin, 1992)

3. การศึกษาการออกซิไดซ์กรดอะมิโน (amino acid oxidation studies)

อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนน้อยกว่าความต้องการกรดอะมิโนส่วนใหญ่จะถูกใช้ไปเพื่อการสังเคราะห์โปรตีนและมีส่วนน้อยที่ถูกออกซิไดซ์ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide) แต่เมื่อได้รับกรดอะมิโนจากอาหารในปริมาณที่มากเกินไป ความต้องการ ระดับกรดอะมิโนในพลาสมาจะสูงขึ้น และถูกออกซิไดซ์เพิ่มมากขึ้น ระดับกรดอะมิโนในอาหารที่แสดงให้เห็นว่า มีการเปลี่ยนแปลงการออกซิไดซ์โดยการออกซิไดซ์เพิ่มมากขึ้น จะเป็นระดับของกรดอะมิโนของปลาต้องการ (Willson, 1989) อย่างไรก็ตาม การศึกษาความต้องการกรดอะมิโนด้วยวิธีการนี้เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอ ต้องมีการศึกษาการเจริญเติบโตของปลาไปด้วย (Anderson et al. 1993)

Anderson et al. (1993) ทำการศึกษาในปลา rainbow trout เช่นเดียวกันโดยให้ปลากินอาหารที่มีไลซีนระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ หลังจากนั้นฉีด [^{14}C] Lysine ให้แก่ปลาและวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไลซีน คำนวณปริมาณไลซีนในอาหารที่ปลาต้องการ โดยใช้ broken-line regression พบว่า ระดับไลซีนร้อยละ 1.84 ของน้ำหนักอาหาร หรือร้อยละ 3.68 ของโปรตีนในอาหาร เป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา ค่าที่ได้จากการศึกษาดังวิธีนี้นี้ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการศึกษาการเจริญเติบโต ซึ่งมีค่าร้อยละ 1.99 ของน้ำหนักอาหาร หรือร้อยละ 3.98 ของโปรตีนในอาหาร

4. วิธีการอื่น

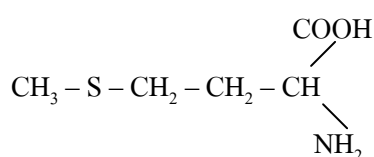
การศึกษาระดับแอมโมเนียในปลาสด เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อเป็นดัชนีบ่งชี้ระดับกรดอะมิโนในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาเนื่องจากกรดอะมิโนไม่สามารถสะสมในร่างกายได้เหมือนไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นเมื่อได้รับกรดอะมิโนในปริมาณที่มากเกินไป ก็จะมีการกำจัดหมู่อะมิโน (deamination) และมีการขับไนโตรเจน ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปแอมโมเนียออกมา ส่วนที่เป็นโครงสร้างคาร์บอนก็จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือสารประกอบอื่นเก็บสะสมไว้ในร่างกาย ปริมาณแอมโมเนียที่ขับออกจากตัวปลา จะขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณภาพของโปรตีนที่ปลาได้รับ ถ้าได้รับโปรตีนที่มีความสมดุลของกรดอะมิโนน้อย การสังเคราะห์โปรตีนของร่างกายจะเกิดได้น้อย (Lovell, 1988)

กรดอะมิโนเมทไธโอนีน

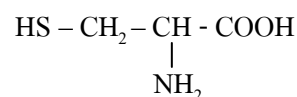
ลักษณะทั่วไปของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน

กรดอะมิโนเมทไธโอนีน (Methionine) เป็นกรดอะมิโนหนึ่งใน 20 ชนิดที่มีความสำคัญทางด้านโภชนศาสตร์ และเป็นกรดอะมิโนที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (Essential amino acid) เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้ จำเป็นต้องรับจากอาหารที่กินเข้าไป (เพิ่มศักดิ์, 2533) กรดอะมิโนเมทไธโอนีน จัดอยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกับกรดอะมิโนซิสทีน (Cystine) (อาภัสสร, 2543)

แต่ซิสทีนนับเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non Essential amino acid) เนื่องจากร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นจากกรดอะมิโนตัวอื่นได้ (NRC, 1984) โครงสร้างของเมทไธโอนีนและซิสทีน แสดงดัง ภาพที่ 2



Methionine



Cysteine

ภาพที่ 2 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและโครงสร้างของกรดอะมิโนซิสทีน

ที่มา: Murray *et al.* (2000)

กรดอะมิโนโดยทั่วไปพบได้ 2 รูปแบบคือ รูป D- form หรือเรียกว่า Right hand isomer และ L- form หรือ Left- hand isomer แต่รูปที่กรดอะมิโนสามารถนำไปสร้างเป็นโปรตีนคือ รูป L- form ดังนั้นในส่วนของ D- form ต้องถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูป L- form ก่อน (Dibner and Knight, 1984) แต่เมทไธโอนีนที่ทางการค้าจะอยู่ในรูป DL – Methionine ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็น L – Methionine ในร่างกายสัตว์ได้ (นวลจันทร์, 2544) โดยอาศัยเอนไซม์ D-amino acid oxidase เพื่อเปลี่ยนเป็น D- Methionine เป็น Keto- Methionine จากนั้นผ่านกระบวนการ Transamination เปลี่ยนเป็น L – Methionine ด้วยการทำงานของเอนไซม์ L- oe- hydroxyl acid oxidase (Dibner and Knight, 1984)

หน้าที่ของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน

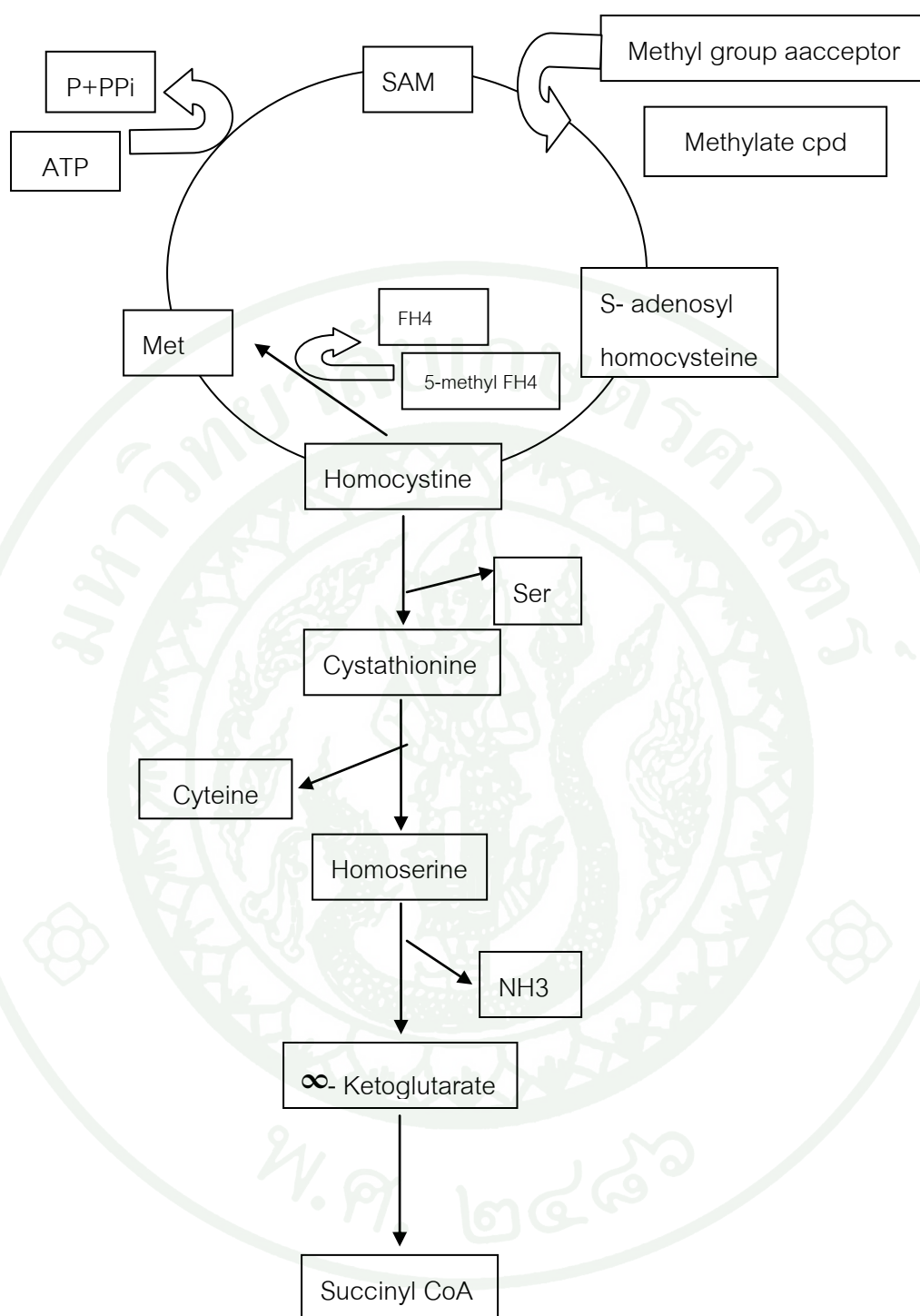
กรดอะมิโนเมทไธโอนีน มีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในร่างกาย เช่น มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ (Finkelstein, 1990)

หน้าที่ของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่อการสังเคราะห์กรดอะมิโนซิสเตอีน

กรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่ทำหน้าที่ให้หมู่เทรลที่สำคัญที่สุดในร่างกาย แต่ร่างกายมนุษย์และสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์เมทไธโอนีนได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ส่วนกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนซิสเตอีนจากเมทไธโอนีนนั้น พบว่าเมทไธโอนีนเมื่อให้หมู่เทรลแล้วจะเปลี่ยนเป็น Homocysteine ซึ่งทำหน้าที่ให้ S อะตอมในการสังเคราะห์ซิสเตอีน ส่วนที่

เหลือคือ Homoserine จะเปลี่ยนแปลงต่อไป จนได้ Succinyl CoA ส่วน Homocysteine บางส่วนจะเปลี่ยนเป็น เมทไธโอนีนได้บ้าง โดยรับหมู่เมทิลจาก 5- methyl FH4 (สุรางค์, 2524)

ดังภาพที่ 3 Homocysteine เป็นสารต้นต่อของเมทไธโอนีนและเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ซิสเตอีน การสังเคราะห์เมทไธโอนีนจากโฮโมซิสเตอีนเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาการถ่ายทอดหมู่เมทิลจาก N5- methyltetrahydrofolate ไปเป็น Homocysteine เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยานี้คือ Homocysteine methyltransferase tetrahydrofolate ทำหน้าที่เป็นพาหะของ C 1 อะตอม ส่วนในกระบวนการสังเคราะห์ส่วนใหญ่ตัวให้หมู่เมทิล S- adenosyl methionine (SAM) เช่น ปฏิกิริยาการสร้าง phosphatidylcholine โคเลสเตอรอลจาก phosphatidylethanolamine SAM ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาการถ่ายทอดหมู่ adenosyl ของ ATP ไปให้กับ S อะตอมของเมทไธโอนีนให้หมู่เมทิลกับตัวรับแล้วจะเปลี่ยนเป็น S - adenosylhomocysteine ซึ่งจะสลายต่อไปให้อะดีโนซีนและโฮโมซิสเตอีน



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลง Met ต่อการสังเคราะห์ Cysteine

ที่มา: ดัดแปลงจาก สุรางค์ (2524)

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนหลักในการผลิตอาหารปลานิล

ปลาป่น (fish meal)

ปลาป่นจัดเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของโปรตีนที่มีการใช้อย่างกว้างขวางในอาหารสัตว์ เพราะมีกรดอะมิโนสูงโดยเฉพาะไลซีน เมไทโอนีน และมีความสมดุล ปลาป่นจะช่วยเพิ่มไลซีนและเมไทโอนีนให้กับวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช เช่น ข้าวโพด, ถั่วเหลือง วัตถุดิบเหล่านี้มักจะมีเมไทโอนีน ซีสทีน และไลซีนต่ำ ปลาป่นคุณภาพดีจะมีกรดอะมิโนใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์น้ำ โดยมี แร่ธาตุ เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม ทองแดง สังกะสี แมงกานีส ไอโอดีน เช่น วิตามิน เอ ดี บี12 บีรวม ในปริมาณที่มากพอ นอกจากนี้ยังมี Unidentified Growth Factor ซึ่งนักโภชนาการจัดว่าเป็นองค์ประกอบของโภชนะที่สำคัญ (เยาวมัลย์ และสาโรจน์, 2529)

ปลาป่นที่ผลิตในประเทศไทย ทำมาจาก ปลาเป็ด เศษปลาเล็กปลาน้อย หรือหัวปลาจากโรงงานปลากระป๋อง ที่ไม่มีการคัดคุณภาพ และชนิดของปลา ทำให้ปลาป่นที่ผลิต ได้มีคุณภาพหลากหลาย และมีความผันแปรทางโภชนะสูง ดังนั้นจึงมีการแบ่งเกรดของปลาป่นตามเปอร์เซ็นต์โปรตีน สำหรับปลาป่นจากต่างประเทศจะมีการคัดคุณภาพและชนิดของปลาที่นำมาผลิต ทำให้คุณภาพปลาป่นคงที่ มีโปรตีนสูง 63 เปอร์เซ็นต์ จึงนิยมใช้ในสัตว์น้ำวัยอ่อน ที่ระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ หรือในสัตว์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารได้ต่ำ เช่น กุ้ง ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่มีราคาแพง จึงมักถูกปลอมปนด้วยวัสดุอื่นๆ เช่น ทราย เปลือกหอยบด ยูเรีย และขี้ไก่ ทำให้คุณค่าทางอาหารในปลาป่นลดลง ปลาป่นที่มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ต้องระมัดระวังในการเลือกใช้ เนื่องจากมีผลทำให้สูตรอาหารที่คำนวณไว้มีค่าโภชนะไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์ได้

สรุปปัญหาที่พบในการใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์คือ ราคาค่อนข้างสูงกว่าวัตถุดิบตัวอื่นๆ มีการปลอมปนมาก อาจมีสารพิษตกค้างจากยาที่ฉีดป้องกันแมลงวันมาตอมปลา เช่น ดีดีที ปลาป่นไม่สุกทำให้ยังมีสารไทอามีนเนสตกค้างอยู่ สารนี้จะเข้าไปทำลายวิตามินบี-1 (ไทอามีน) ปลาป่นใหม่ ทำให้คุณค่าทางอาหารของปลาป่นลดลง พบเชื้อซัลโมเนลลาทำให้เกิดโรคบิดในสุกร เกิดกลิ่นคาวในเนื้อถ้าใช้สูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นที่มีไขมันสูงจะเหม็นหืนง่าย ต้องเติมสารพวก antioxidant ระดับการใช้ได้ของฟอสฟอรัสในปลาป่นสูงสุดแค่ 10 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เกิดความไม่สมดุลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในร่างกายสัตว์ และในกรณีที่ปลาป่นมีเกลืออยู่สูงทำให้สัตว์บกท้องเสียได้ง่าย (ประยูร, 2529)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณเปอร์เซ็นต์กรดอะมิโนในกากถั่วเหลืองและปลาป่น

กรดอะมิโน	กากถั่วเหลือง (CP=44%)	Anchovy meal (CP=65%)	White fish meal (CP=62.2%)	Menhaden meal (CP=61.3%)	Herring meal (CP=72%)
ไลซีน	2.73	5.07	4.53	4.51	5.47
เมทไธโอนีน	0.59	1.95	1.68	1.63	2.16
ซีสทีน	0.67	0.65	0.75	0.57	0.72
ทรีโตนีน	0.59	0.78	0.67	0.49	0.83
ทรีโอนีน	1.72	2.82	2.57	2.46	3.07
ไอโซลูซีน	2.17	3.06	2.72	2.28	3.23
อาร์จินีน	3.18	3.81	4.02	3.68	4.21
ลูซีน	3.39	4.98	4.36	4.16	5.46
เฟนิลอะลานีน +ไทโรซีน	3.82	4.97	4.11	1.01	5.07
ฮิสติดีน	1.11	1.59	1.34	1.42	1.74
เวอลีน	2.24	3.46	3.02	2.77	3.9
ไกลซีน	1.83	3.68	4.42	4.46	4.3

ที่มา: คัดแปลงจาก Pickeering, 1994

ถั่วเหลือง (soybean)

ถั่วเหลือง เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูง มีกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิดใกล้เคียงกับปลาป่น แต่มีกรดอะมิโนซีสทีน และเมทไธโอนีนต่ำ โดยเฉพาะเมทไธโอนีน พบว่าต่ำกว่าระดับที่ควรจะมี (sub optimal) ดังนั้น เมทไธโอนีนจึงเป็นกรดอะมิโนที่เป็นตัวแรก (first limiting amino acid) ในถั่วเหลือง (Jauncey and Ross, 1982) ถั่วเหลืองที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์มีใช้ทั้งที่เป็นถั่วเมล็ด (soy grain) ถั่วอบไขมันเต็ม (full fat soybean) และกากถั่วเหลือง (soybean meal)

ถั่วเหลืองเมล็ด (soy grain)

ถั่วเหลืองเมล็ดที่ใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ จะมีโปรตีน 36-38 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมันสูงประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองเมล็ดที่ยังดิบ พบว่ามีสารพิษ ทั้งสารที่เป็นตัวกระตุ้น และตัวแก่งแย่ง รวมทั้งสารที่ทำให้เกิดการแพ้ (allergenic) สารเหนียวนำคอหอยพอก (goitrogenic) สารที่ทำให้เกิดการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง และสารต้านการแข็งตัวของเลือด (hemagglutinins) สารซาโปนิน (saponin) ซึ่งเป็นสารขัดขวางการทำงานของน้ำย่อยโคโมทรินซิน และไลซิโนอะลานีน ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนไลซีนลดลง และที่สำคัญคือ สารยับยั้งการทำงานของน้ำย่อยทรินซิน (trypsin inhibitor) สารพิษเหล่านี้จะสลายได้ด้วยความร้อน ดังนั้น ถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนจึงมีคุณค่าของโภชนะสูงกว่าถั่วเหลืองดิบ แต่ถ้าให้ความร้อนสูงเกินไป จะทำให้เสียคุณค่าทางโภชนะได้ ซึ่งจะมีผลทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนไลซีน และอาร์จินีน ลดลง

ถั่วเหลืองอบไขมันเต็ม (full fat soybean) หรือถั่วเหลืองเอ็กซ์ทราด

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถั่วเหลืองเมล็ดดิบที่ทำให้สุกด้วยเครื่องเอ็กซ์ทราดเดอร์ โดยอาศัยแรงอัดและเสียดสีเป็นเวลา 15-30 วินาที จนเกิดความร้อน อุณหภูมิ 135-150 องศาเซลเซียส จะมีผลทำให้ถั่วเหลืองสุก มีโปรตีน 36-38 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันสูง 18 เปอร์เซ็นต์ เป็นโปรตีนที่ย่อยง่ายมีค่าการใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตสูง การย่อยได้ของวัตถุดิบดี และมีกรดไขมันลิโนเลอิกสูง ใช้ได้ดีในอาหารกุ้ง และอาหารปลา ไม่จำเป็นต้องเติมไขมันจากแหล่งภายนอก ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทราดที่จำหน่ายในประเทศมีชื่อทางการค้า ต่างๆ กัน เช่น ยูนิโกรโปรตีน (unigror protein) เอเจมิลค์ (AJ milk) ซอยส์ มิลค์ (soy milk)

กากถั่วเหลือง (soybean meal)

กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลือง เมื่อสกัดเอาน้ำมันออกแล้วจะมีโปรตีน เหลือ 44 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับวิธีสกัดน้ำมันและขนาดของเมล็ด กากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ในทางการค้า แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal solvent extrated) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันด้วยสารละลายอินทรีย์ วิธีการนี้จะต้องใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิต ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอินโดเจปอนและปริมาณเชื้อโรค

ไม่เกินมาตรฐานกำหนด กากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันทั้งเปลือกและเนื้อถั่วเหลือง มีโปรตีน 44 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูง ประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์

2. กากถั่วเหลืองจากการสกัดน้ำมันด้วยการหีบหรืออัด (soybean meal mechanical extracted) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันด้วยวิธีหีบอัดทางกายภาพ โดยใช้ความร้อนในกรรมวิธีในการผลิต โปรตีนประมาณ 42 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 5-6 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูง 6-7 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์ ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอื่นใดเจือปนอยู่เกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณเยื่อใยต้องไม่เกินมาตรฐานกำหนด

3. กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือกนอกออกแล้วสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal dehulled solvent extracted) เป็นกากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลืองที่เอาเปลือกนอกออก แล้วสกัดด้วยสารอินทรีย์ และใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิต เนื้อถั่วเหลืองที่ได้ต้องไม่มีสิ่งเจือปนและปริมาณเยื่อใยไม่เกินมาตรฐานกำหนด มีโปรตีนประมาณ 48-50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยน้อย 3.5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 5-6 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะมีโปรตีนสูง แต่รูปแบบของกรดอะมิโนไม่แตกต่างกัน มีคุณค่าทางอาหารมากกว่ากากถั่วเหลืองไม่กะเทาะเปลือก 10-20 เปอร์เซ็นต์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Michael *et al.* (2006) ได้ทดลองโดยผสมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0%, 1.5% และโคลีน คลอไรด์ ที่ระดับ 0%, 0.06% และ 0.12% ลงในอาหารกึ่ง kuruma ผลการทดลองพบว่ากึ่งที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% และโคลีน คลอไรด์ 0%, 0.06% มี SGR, WG, AFI, FER และ PER เพิ่มขึ้นตามระดับของโคลีน คลอไรด์ แต่ในอาหารที่ผสมเมทไธโอนีนในระดับ 1.5% และโคลีน คลอไรด์ระดับ 0.06% และ 0.12% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของ SGR, WG, AFI, FER และ PER และที่ระดับสูงที่สุดโคลีน คลอไรด์ 0.12% ก็พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในสูตรอาหารที่มีเมทไธโอนีน 0% และ 1.5% ซึ่งวัดได้ว่ากึ่งมีการใช้ประโยชน์ของโคลีนอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากโคลีน คลอไรด์ให้หมู่เมทิล ในชุดอาหารควบคุมที่ไม่ผสมโคลีน คลอไรด์ และเมทไธโอนีนมีระดับของเมทไธโอนีนมีระดับของเมทไธโอนีนและโคลีน คลอไรด์ต่ำกว่าในร่างกาย ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากึ่งไม่มีความสามารถในการสังเคราะห์ทั้งโคลีน คลอไรด์

และเมทไธโอนีน ความต้องการเมทไธโอนีนของกุ้งจะลดลงเมื่อได้รับการเสริมกลุ่มเมทิลจากแหล่งอื่น เช่น โคลี้น คลอไรด์

Lapierre *et al.* (2006) ได้ทดลองเสริม MHA (84% HMTBA) ที่ 3 ระดับ 0.1%, 0.2%, และ 0.3% methionine activity จากการทดลองพบว่า ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอาหารทดลองต่อการเจริญเติบโตของกุ้งหรือน้ำหนักตัวสุดท้าย แต่น้ำหนักกุ้งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมระดับของ methionine analog (2- hydroxyl- 4- methylthiobutanoic acid: HMTBA) ถึง 0.2% ของกิจกรรมเมทไธโอนีนนั้นกุ้งที่ได้กินอาหารที่เสริม HMTBA ระดับสูงที่สุดมีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าอาหารชุดควบคุมและมีอัตราการรอดตายสูงกว่าอาหารชุดควบคุม

Kangsen Mai *et al.* (2006) ได้อธิบายความต้องการของ methionine ใน large yellow croaker น้ำหนักปลาเริ่มต้นที่ทดลองคือ 1.23 ± 0.02 g ความต้องการโปรตีน 43% จากปลาป่น กากถั่วเหลือง ยีสต์ ข้าวสาลี และ crystalline กับ 0.65% methionine และ 0.29% cystine อาหารที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 6 สูตร ระดับของ methionine อยู่ในช่วง 0.66-1.89% โดยระดับ methionine แตกต่างกันของแต่ละสูตรประมาณ 0.25% โดยทดลองนำไปเลี้ยงปลาในกระชังขนาด 1x1x1.5 ตารางเมตร และมีการควบคุมคุณภาพน้ำ โดยผลการทดลองพบว่าที่ระดับ methionine 1.44% และ 1.39% ของน้ำหนักอาหารทั้งหมด ให้การเจริญเติบโตสูงสุด แต่เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ ให้ผลไม่แตกต่างกัน

Qi-Cun Zhou *et al.* (2006) ได้ทดลองให้อาหารเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ถึงปริมาณความต้องการของเมทไธโอนีนของ Juvenile Cobia ได้ทดลองอาหาร 6 สูตร (ใช้ 44% CP และ 16% lipid) โดยใช้ปลาป่นและ wheat gluten เป็นแหล่งโปรตีนกับเสริมเมทไธโอนีนโดยสูตรระดับของเมทไธโอนีนคือ 0.61%, 0.83%, 1.05%, 1.30%, 1.48%, และ 1.68% และ cystine ระดับคงที่คือ 0.67 % ทำการสุ่มจากตัวอย่างการเลี้ยง 3 ซ้ำ โดยผลการทดลองประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหาร จากผลของการเสริมเมทไธโอนีนในอาหาร ทำให้น้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงสุด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระดับเมทไธโอนีนที่ใช้คือ 1.5% ในอาหาร

Dabrowska and Wojno (1977) รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลือง 40 เปอร์เซ็นต์ทดแทนปลาป่น และเพิ่มกรดอะมิโนสังเคราะห์บางตัว เช่น ไลซีน อาร์จินีน และทรีปโตเฟน ในอาหารปลา rainbow troul จะทำให้การใช้ประโยชน์จากอาหารปลาเพิ่มขึ้นมาก Tacon *et al.* (1983) รายงานว่า

เมื่อถั่วเหลือง (hexane extracted soybean meal) แทนที่แหล่งโปรตีนจากปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา rainbow trout ให้ผลการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพอาหารไม่แตกต่างกับอาหารซึ่งมีการทดแทนที่ปลาป่น 75 เปอร์เซ็นต์ ด้วยถั่วเหลือง (fullfat soybean meal) Alexis *et al.* (1985) รายงานว่า การแทนที่ปลาป่น 34 เปอร์เซ็นต์ ด้วยถั่วเหลือง 26 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา rainbow trout ทำให้อัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น อัตราแลกเนื้อเท่ากับ 1.15 ซึ่งต่ำกว่าอาหารที่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองซึ่งมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.35

Dabrowska *et al* (1977) รายงานว่า อัตราการเจริญเติบโตของปลา rainbow trout ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงักและมีการตายคาคว่ำการขาดเมทไธโอนีนในถั่วเหลืองเป็นปัจจัยสำคัญทำให้การเจริญเติบโตลดลง

Viola *et al* (1982) รายงานว่าในอาหารปลาไน (common carp) ถั่วเหลืองนั้นมีข้อบกพร่องในเรื่องในพลังงานที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ การขาดไลซีน และเมทไธโอนีน แต่อย่างไรก็ตามข้อบกพร่องนี้สามารถแก้ไขได้โดยการเสริมไขมัน และกรดอะมิโนที่ขาดแคลนไป ปริมาณความต้องการไขมัน และกรดอะมิโนจะขึ้นอยู่กับชนิดของถั่วเหลือง จากการศึกษาใช้ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่น 40 เปอร์เซ็นต์ ต้องเติมไขมัน 5 เปอร์เซ็นต์ และเมทไธโอนีน ถ้าหากว่ามีการใช้ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ ก็ต้องเติมไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ และไลซีน 0.4-0.5 เปอร์เซ็นต์

Sandholm *et al* (1976) ; Nour *et al.* รายงานว่า การใช้ความร้อนกับถั่วเหลืองทำให้ปลามีการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพอาหารดีขึ้น โดยความร้อนจากการ extrusion จะทำให้เม็ดแข็ง แฉก และทำให้เกิดความเหนียวเนื่องจากเกิด gelatinization นอกจากนี้ยังทำให้แป้งดูดซับน้ำได้ดีขึ้น และยังช่วยทำให้การใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตในอาหารได้ดีขึ้น (Hilton *et al.*, 1981)

นอกจากนี้การให้ความร้อนจะทำให้ปริมาณของ antinutrition factors ต่างๆ ในถั่วเหลืองลดลง ซึ่งมีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและอัตราการเจริญเติบโตของปลาดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองซึ่งไม่ผ่านความร้อน ถ้าหากในถั่วเหลืองซึ่งไม่ผ่านความร้อน ถ้าหากในถั่วเหลืองมีสารยับยั้งการทำงานของทริปซินมากกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักโปรตีนทั้งหมดของถั่วเหลืองจะมีผลทำให้ตับอ่อนหลั่งน้ำย่อย (pancreatic anzyme) สูงเกินไป ส่งผลให้เซลล์ตับอ่อนโตกว่าปกติ (hypertrophy) นอกจากนี้ น้ำย่อยที่หลั่งออกมาปริมาณมากก็ไม่สามารถทำงานได้ ทำให้ตับอ่อนต้องหลั่งน้ำย่อยเพิ่มมากขึ้นเป็นเหตุให้ร่างกายสูญเสียกรดอะมิโนที่จำเป็นออกไป น้ำย่อย

จากตับ ได้แก่ ทริปซิน และไคโมทริปซิน น้ำย่อยเหล่านี้จะมีกรดอะมิโนซึ่งมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่ เมื่อมีการสูญเสีย น้ำย่อยเหล่านี้ออกจากร่างกายทำให้ร่างกายมีการเจริญเติบโตลดลง (Liener, 1981) ประเสริฐ และวิมล (2540) กล่าวว่า การเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองล้วนๆ ทำให้ปลาเจริญเติบโต และใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้น แต่ไม่ทำให้การกินอาหารเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

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

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

- 1.1 โรงเรือนสำหรับเลี้ยงปลานิล
- 1.2 ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1000 ลูกบาศก์เมตร
- 1.3 ระบบเติมอากาศ เช่น สายยางต่อกับหัวทราย
- 1.4 อุปกรณ์การเปลี่ยนถ่ายน้ำ ได้แก่ สายยาง เครื่องปั้มน้ำ
- 1.5 กุ้งพลาสติกใช้เก็บอาหาร
- 1.6 กุ้งพลาสติกสำหรับบรรจุอาหาร
- 1.7 อุปกรณ์ขนย้ายปลา ได้แก่ สวิงช้อนปลา ขันพลาสติก

2. อุปกรณ์การทำอาหารทดลอง

- 2.1 เครื่องบดวัตถุดิบ
- 2.2 เครื่องชั่ง
- 2.3 เครื่องผสมอาหารแนวนอน
- 2.4 เครื่องอัดเม็ดอาหาร (extruder)

3. วัตถุดิบอาหารสัตว์

- 3.1 ปลาป่น ความชื้น 8% โปรตีน 55% ไขมัน 10% เถ้า 28% และเยื่อใย 1%
- 3.2 กากถั่วเหลือง ความชื้น 8% โปรตีน 44% ไขมัน 1% เถ้า 6% และเยื่อใย 3.5%
- 3.3 ข้าวโพด ความชื้น 13% โปรตีน 8% ไขมัน 4% เถ้า 1.3% และเยื่อใย 2.5%
- 3.4 เลือดป่น ความชื้น 13% โปรตีน 80% ไขมัน 0% เถ้า 50% และเยื่อใย 0%
- 3.5 กรดอะมิโนเมทไธโอนีน (Evonik Degussa GmbH)

4. สัตว์ทดลอง

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) น้ำหนักประมาณ 137.4 กรัม จำนวน 120 ตัว จากฟาร์มเอกชน จังหวัดราชบุรี

5. อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและตัวปลา

5.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น

5.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน

5.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน

5.4 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า

5.5 อุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใย

6. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์ Total Immunoglobulin

6.1 Spectrophotometer

6.2 Automatic pipette

6.3 หลอดทดลองขนาด 10 ml

6.4 Bovine serum albumin (BSA)

6.5 Folin reagent เจือจาง 1:10 เก็บในตู้เย็น

6.6 Working Alkaline Copper Solution

6.7 12% polyethylene glycol (PEG)

7. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดของปลานิล

7.1 กระบอกฉีดขนาด 3 และ 5 มิลลิลิตร

7.2 เข็มฉีดยาขนาด 1 นิ้ว เบอร์ 24 และเบอร์ 25

7.3 สำลี และ ถุงมือ

8. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ไกลโคเจน

9. อุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์น้ำ

9.1 เครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ ของ YSI รุ่น 550 A-12

9.2 สารเคมีในการวิเคราะห์น้ำ

9.3 เครื่องวัดค่าพีเอชของ YSI รุ่น PH 10

9.4 เครื่องวัดความนำไฟฟ้าของน้ำ ของ YSI รุ่น EC 300

9.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของ Shimadzu รุ่น UV 1201V

วิธีการ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในปลานิล โดยใช้ลูกพันธุ์ปลาจากฟาร์มเอกชนจาก จังหวัดราชบุรี ในการศึกษานี้มีการดูแลและจัดการด้านการเลี้ยงตามมาตรฐานที่ดีและเป็นไปตามเกณฑ์ว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์สภาวะวิจัยแห่งชาติ แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิลที่ประกอบด้วยปลาป่นในปริมาณน้อยในสูตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตและสุขภาพของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

1.1 แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดยใช้ปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย 137.4 กรัม จำนวน 120 ตัวแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง แต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว ปลาแต่ละกลุ่มได้กินอาหารที่มีองค์ประกอบทางโภชนาตามความต้องการ ดังแสดงในตารางที่ 5

1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

เลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) อายุ 3 เดือน น้ำหนักประมาณ 130-150 กรัม ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1000 ลูกบาศก์เมตร ในโรงเรือนปิด จำนวน 12 ถัง โดยใช้ปลาทดลองถังละ 10 ตัว เปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนทุก 3 วัน ครั้งละ 30 เปอร์เซ็นต์ ให้อากาศตลอดเวลา ปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสภาพถังทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง

1.3 อาหารและการให้อาหาร

ให้อาหารปลาแต่ละสูตรตามตารางที่ 4 วันละ 3 ครั้ง คือ เวลา 8.00 น. 12.00 น. และ 17.00 น. (ยกเว้นวันที่ทำการชั่งวัดจะงดให้อาหาร) โดยให้อาหารในอัตราร้อยละ 3 ของน้ำหนักตัว เก็บอาหารเหลือหลังจากปลาเริ่มกินอาหาร 1 ชั่วโมง และทำการชั่งน้ำหนักเพื่อปรับอาหารทุก 2 สัปดาห์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ

อาหารที่ใช้ทดลอง ได้แก่ สูตรอาหารปลาชนิด ที่ใช้กรดอะมิโนเมทไธโอนีน (methionine) เสริมในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยปลาป่น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรอาหารทดลองมี 3 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารที่ไม่ได้เสริม methionine

สูตรที่ 2 อาหารที่เสริม methionine 0.25 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 อาหารเสริม methionine 0.55 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองทุกสูตรมีคุณค่าทางโภชนาการตามความต้องการของปลานิลแนะนำโดย (NRC, 1993) องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารสัตว์และองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 4

1.4 การเตรียมอาหารทดลอง

สูตรอาหารทดลองประกอบด้วยวัตถุดิบต่างๆ ดังตารางที่ 4 จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้นน้ำมันมาผสมรวมกันในเครื่องผสมอาหาร จนเป็นเนื้อเดียวกันจึงเติมน้ำมันลงไป เมื่อ ส่วนประกอบอาหารผสมกันดีแล้ว นำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารลอยน้ำ ตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน จากนั้นใช้ลมเป่า จนอาหารมีความชื้นไม่เกิน 12 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเก็บอาหารใน ถุงพลาสติก เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยอาหารทดลองทุกสูตร คำนวณให้มีองค์ประกอบทาง โภชนาการตามความต้องการของปลานิล

ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ (Water Stability) หมายถึง สภาพของอาหารที่จมอยู่ในน้ำ และมีการสูญเสียสารอาหารในน้ำตามระยะที่กำหนด โดยศึกษาในรูปเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย สารอาหาร และพิจารณาลักษณะทั้งภายนอกและภายใน ทำการทดสอบความคงทนของอาหารปลา นิลในแต่ละสูตรตามวิธีการของ Hastings et al. (1971) ในอาหารปลาควรมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย อาหารในน้ำไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์

ความคงทนของอาหารในน้ำทำได้โดย ชั่งอาหารที่อบและทิ้งไว้ให้เย็นแล้วมา 5.0 กรัม (W_0) ใส่ในตะกร้าขนาด 6x6 ซม. ขนาดช่องตา 1.5x1.5 ซม. จำนวน 4 ตะกร้า แล้วนำไปแขวนใน ถังกลมความจุ 2 ลูกบาศก์เมตร ให้อากาศตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างครั้งละ 1 ตะกร้า ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ ศึกษาลักษณะภายนอกด้วยสายตาบันทึกความฟองตัวของเม็ดอาหาร

ทดลองหักเม็ดอาหารเพื่อคุณภาพภายใน นำอาหารที่เหลือในตะกร้าไปอบที่ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนัก (Wi) คำนวณหาน้ำหนักที่ หายไปหรือเปอร์เซ็นต์สูญเสีย

ตารางที่ 4 สูตรอาหารและองค์ประกอบโภชนาอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

วัตถุดิบอาหาร	ไม่ได้เสริม methionine	เสริม methionine 25 %	เสริม methionine 55 %	ราคา ¹ (บาท/กก.)
ปลาป่น (60%)	3	3	3	42.5
รำสาลี	10	10	10	8.80
ข้าวโพด	16.4	16.15	15.85	6.08
กากถั่วเหลือง(48%)	53	53	53	17.2
เลือดป่น	5	5	5	15
น้ำมันปลา	2	2	2	60
น้ำมันพืช	4	4	4	25
เมทไธโอนีน	0	0.25	0.55	220
ไคแคลเซียม ฟอสเฟส	2.8	2.8	2.8	32
แคลเซียมคาร์บอเนต	2	2	2	3
วิตามิน & เกลือแร่ ²	1.8	1.8	1.8	110
รวม	100	100	100	
ค่าการผลิตอาหารเม็ด (บาท/กก.)	2.00	2.00	2.00	
ต้นทุนอาหาร(บาท/กก.) ¹	18.2	18.7	19.3	
องค์ประกอบทางโภชนาการโดยการคำนวณ				
ความชื้น (%)	7.91	8.22	8.34	
โปรตีน(%)	32.01	32.02	31.99	
เยื่อใย(ไม่เกิน%)	6.62	6.61	6.61	
ไขมัน(%)	8.34	8.33	8.32	
แคลเซียม(%)	2.01	2.01	2.01	
ฟอสฟอรัส(%)	1.72	1.72	1.72	

ตารางที่ 4 (ต่อ)

องค์ประกอบทางโภชนาการโดยการคำนวณ			
ไลซีน(%) ³	2.37	2.37	2.37
เมท+ซิส(%) ³	1.23	1.48	1.78
ทรีปโตเฟน(%) ³	0.65	0.65	0.65
ทรีโอนีน(%) ³	1.73	1.73	1.73
พลังงาน(kcal/kg) ⁴	2732.43	2732.47	2719.32

Note: ¹ ราคา (บาท/ตันทุน)

² ปริมาณ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย: วิตามิน A 1,130,000 IU, วิตามิน D3 1,043,170 IU, วิตามิน E 30,000 IU, วิตามิน K3 3.25 กรัม, วิตามิน B1 12 กรัม, วิตามิน B2 5 กรัม, วิตามิน B6 30 กรัม, วิตามิน B12 12 กรัม, วิตามิน C 30 กรัม, cholinechloride 5 กรัม, niacin 10 กรัม, pantothenic acid 27 กรัม, selenium 30 มิลลิกรัม, calcium 30 กรัม.

³ ข้อมูลคำนวณได้จากวัตถุดิบ (NRC, 1993)

⁴ พลังงานที่ย่อยได้ = (%โปรตีน x 4.0) + (%ไขมัน x 8.0) + (%NFE x 2.5) (NRC, 1993)

1.5 การบันทึกข้อมูล

ศึกษาคุณภาพอาหารเพื่อประเมินสมรรถภาพการผลิต สุขภาพสัตว์น้ำ เก็บคุณภาพซาก และองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ดังนี้

1.5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองโดยวิธีการ proximate analysis โดยวิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ และเถ้า ตามวิธีของ A.O.A.C (2000) ดังนี้

1.5.1.1 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี micro-Kjeldahl (A.O.A.C ,2000)

1.5.1.2 วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดยวิธี ether-extraction (A.O.A.C ,2000)

1.5.1.3 วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น โดยวิธี oven-drying (A.O.A.C ,2000)

1.5.1.4 วิเคราะห์หาปริมาณเกลือ โดยวิธี classical-method (A.O.A.C ,2000)

1.5.1.5 วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า โดยวิธี muffle furnace combustion (A.O.A.C ,2000)

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา โดยใช้วิธีการ proximate analysis เมื่อเริ่มการทดลองและสิ้นสุดการทดลอง โดยสุ่มปลามาชำแหละ 1 ตัว นำตัวอย่างปลามาสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสรวมเป็นตัวอย่างเดียวกัน จากนั้นนำมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างและนำไปวิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีของ A.O.A.C (2000) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ (duplicate)

1.5.2 การศึกษาข้อมูลองค์ประกอบทางกายภาพของอาหารปลา

การศึกษารูปร่างองค์ประกอบทางกายภาพของอาหารปลา โดยศึกษาความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ ดังนี้

1.5.2.1 วิเคราะห์ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ ตามวิธีการของ Hasting *et al* (1971)

1.5.3 การศึกษาสมรรถภาพการผลิต ทำการเก็บข้อมูลเพื่อประเมินการเจริญเติบโต

1.5.3.1 อัตราการเจริญเติบโต (Growth rate)

อัตราการเจริญเติบโตเป็นหลักเกณฑ์ที่นิยมมากที่สุด เพราะมีความสะดวกในการคำนวณ อย่างไรก็ตาม การเจริญของปลาอาจไม่ได้เกิดจากการสังเคราะห์โปรตีนเท่านั้น อาจเกิดจากการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อ การทำอาหารทดสอบโดยทั่วไปเมื่อนำไปให้ปลากิน นิยมวัดอัตราการเจริญเติบโตจากน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Specific growth rate :SGR%/day) น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อวัน (Average dail gain=ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate :SGR%/day)

ก. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain = WG)

$$WG = (\text{น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย})$$

ข. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain = WG)

$$WG = (\text{น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย})$$

ค. น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อวัน (Average dail gain=ADG; กรัม/ตัว/วัน)

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

ง. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate :SGR%/fish/day) ตามวิธีของ Steffens (1989)

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

จ. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

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

ฉ. อัตรารอด (survival rate : SR%) ตามวิธีของ Steffens (1989)

$$SR = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$$

การประเมินคุณค่าอาหารปลา

1.5.3.2 การประเมินคุณภาพอาหารปลา

โปรตีนเป็นสารอาหารที่ช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตให้แก่ร่างกายและเป็นสารอาหารที่มีมูลค่าสูงที่สุดสูตรอาหาร ซึ่งสัตว์น้ำต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพ โปรตีนที่สัตว์น้ำได้รับจากอาหารเมื่อมีการย่อยและดูดซึมแล้วส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้เพื่อการดำรงชีพ ส่วนที่เหลือนำไปสร้างผลผลิต ในการดำรงชีพนั่นร่างกายต้องการโปรตีนเพื่อใช้ซ่อมแซมเซลล์ที่สึกหรอ หลุดร่วงสร้างเม็ดเลือดแดง สร้างน้ำย่อย และสร้างฮอร์โมน เป็นต้น ดังนั้นความต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีพจึงมีปริมาณเท่ากับปริมาณโปรตีนที่ถูกขับถ่ายออกจากร่างกายหรือสลายไปในรูปไนโตรเจนที่ถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะ (endogenous urinary nitrogen) ไนโตรเจนที่ถูกขับออกทางอุจจาระ (metabolic fecal nitrogen) และไนโตรเจนที่สูญหายไปในรูปแบบขน หนัง เกล็ด เมือก และเหงือก สำหรับการประเมินคุณภาพโปรตีนในเบื้องต้นพิจารณาจาก

ก. ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio=PER)

เป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารที่มีผลให้น้ำหนักสัตว์เพิ่มขึ้น โดยคิดเป็นอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของสัตว์กับน้ำหนักของโปรตีนที่ให้สัตว์กิน ตามวิธีการของ Zeitoun *et al.* (1973) ค่า PER ไม่มีเกณฑ์กำหนดที่ชัดเจนว่ามีค่าเท่าไรจึงจัดว่าดี แต่เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลอง

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

ข. คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (apparent net protein utilization, aNPU; เปอร์เซนต์)

เป็นค่าที่ศึกษาประสิทธิภาพของโปรตีนซึ่งสัตว์น้ำได้รับจากอาหารโดยการศึกษาระดับโปรตีนสะสมหรือกักเก็บในร่างกายสัตว์ต่อปริมาณโปรตีนในอาหารที่กิน ตามวิธีการของ Robinson and Wilson (1985) ค่า aNPU ไม่มีเกณฑ์กำหนดที่ชัดเจนว่ามีค่าเท่าไรจึงจัดว่าดี แต่ใช้เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง

$$\text{aNPU} = \frac{\text{โปรตีนเพิ่มขึ้นในปลา}}{\text{โปรตีนที่ได้รับ}} \times 100$$

ค. อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (feed intake: FI)

$$\text{อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน(กรัม/ตัว/วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน} / \text{จำนวนปลาทั้งหมด}}{\text{จำนวนวัน}}$$

1.5.3.3 การศึกษาสุขภาพสัตว์น้ำ

ก. วัดค่ากลูโคสในเลือดปลา

วัดค่ากลูโคสในเลือดปลา โดยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด One Touch Ultra ศึกษาค่ากลูโคสในเลือดปลา 3 ครั้ง คือ เจาะเลือดปลาหาค่ากลูโคสเดือนละ 1 ครั้ง ของการทดลอง โดยการสุ่มศึกษาค่ากลูโคสในเลือดปลาครั้งละ 3 ซ้ำของการทดลอง

ข. การเก็บข้อมูลการวัดระดับโปรตีนในเลือด (serum protein level) โดยวิธีดัดแปลงจากวิธี Lowry 's method (Lowry *et al.*, 1951)

วัดระดับโปรตีนในเลือด โดยเจาะเลือดปลา 3 ครั้ง เดือนละ 1 ครั้ง ของการทดลอง โดยการศึกษาค่าโปรตีนในเลือด โดยใช้ bovine Serum เป็น Standard สุ่มเจาะเลือดปลาครั้งละ 3 ซ้ำของการทดลอง

ค. วัดระดับอิมโมโนโกลบูลินในเลือด (immunoglobulin; IgM) ตามวิธีการของ Siwicki *et al.*, (1994)

วัดระดับอิมโมโนโกลบูลินในเลือด เมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยอาศัยหลักการวัดปริมาณโปรตีน แบ่งตัวอย่างพลาสมาเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 วัดปริมาณโปรตีนรวมในพลาสมาและ ชุดที่ 2 ตกตะกอนโปรตีนส่วนที่เป็น Immunoglobulin ด้วย Polyethylene glycol แล้วนำส่วนพลาสมาวัดปริมาณโปรตีน ความแตกต่างระหว่างค่าโปรตีนรวมและโปรตีนหลังจากตกตะกอน Immunoglobulin แล้ว คือ ค่า Total Immunoglobulin โดยใช้ Bovine serum albumin เป็น Standard

1.5.3.4 การเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์และเก็บคุณภาพซาก

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ซาก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างปลา โดยการสุ่มมาชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ตัว โดยทั้งน้ำหนักปลาทั้งตัว จากนั้นแยกชิ้นส่วนต่างๆ ของตัวปลาออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่บริโภคไม่ได้ (ซาก) ได้แก่ หัว เกล็ด กระดูก และส่วนที่บริโภคได้ ได้แก่ เนื้อ ซึ่งน้ำหนักส่วนที่บริโภคไม่ได้และส่วนที่บริโภคได้ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อส่วนที่บริโภคไม่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักปลาที่มีชีวิตก่อนฆ่า}}$$

การวิเคราะห์หาคุณภาพซาก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างปลาโดยการสุ่มมาชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัว นำปลามาสับให้ละเอียด นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดอีกครั้ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นเพื่อคำนวณหาคุณภาพซาก

ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index; เปอร์เซ็นต์)

ค่าดัชนีตับต่อตัว ปลาที่สุ่มจากการวิเคราะห์คุณภาพซาก นำมาผ่าเปิดช่องท้อง ดึงเอาส่วนของตับปลาทั้งหมดมาชั่งน้ำหนัก คำนวณค่าดัชนีตับต่อตัว ตามวิธีการของ Anwar and Jafri (1995)

การวิเคราะห์หาคุณภาพซาก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างปลาโดยการสุ่มมาชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัว นำปลามาสับให้ละเอียด นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดอีกครั้ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นเพื่อคำนวณหาคุณภาพซาก

ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index; เปอร์เซ็นต์)

ค่าดัชนีตับต่อตัว ตัวอย่างปลาที่สุ่มจากการวิเคราะห์คุณภาพซาก นำมาผ่าเปิดช่องท้อง ดึงเอาส่วนของตับปลาทั้งหมดมาชั่งน้ำหนัก และนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีตับต่อตัว ตามวิธีการของ Anwar and Jafri (1995)

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

ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen; mg glucose/ml)

โดยแบ่งตัวอย่างตับปลาจากการวิเคราะห์คุณภาพซาก แช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เก็บไว้เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในเซลล์ตับ ตามวิธีการของ (Johann and Lentini, 1971) โดยนำเนื้อเยื่อตับเติม 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 hot air oven อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 15 นาที แล้วเติมน้ำเดือด 0.5 มิลลิตร กรดซัลฟิวริกเข้มข้น และ 5% phenol อย่างละ 5 มิลลิตร นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

1.5.3.5 การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำ

- ก. วัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ
- ข. วัดค่าแอมโมเนีย
- ค. วัดค่าไนโตรเจน
- ง. วัดค่าพีเอช
- จ. วัดความเค็มของน้ำ
- ฉ. อุณหภูมิ

1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดจากการทดลองทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของการทดลองแต่ละชุดทดลองโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 6.12 (SAS, 1996)

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนและโปรตีนในเลือดภายหลังการให้อาหาร และกรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลานิลที่ได้รับอาหารที่ระดับ methionine 3 ระดับ โดยนำเลือดแต่ละชุดการทดลอง ชุดการทดลอง 4 ซ้ำ เก็บเลือดปลานิลภายหลังการให้อาหาร ทุก 0, 1, 3 , และ 6 ชั่วโมงเพื่อศึกษากรดอะมิโนในเลือดปลา ด้วยวิธี ninhydrin assay เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไทลซีน

2.1 การศึกษากรดอะมิโนในน้ำเลือดปลานิล

หาค่ากรดอะมิโนในน้ำเลือด ด้วยวิธี ninhydrin assay เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานไทลซีน

2.2 การศึกษากรดอะมิโนในอาหาร

หาค่ากรดอะมิโนในอาหาร ด้วยวิธี ninhydrin assay เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ไกลซีน

2.3 การศึกษาน้ำตาลในน้ำเลือดปลานิล

วัดค่ากลูโคสในเลือดปลา โดยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด One Touch Ultra ศึกษาค่ากลูโคสในเลือดปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยศึกษาค่ากลูโคสในเลือดปลาครั้งละ 4 ซ้ำ เก็บเลือดปลานิลาภายหลังการให้อาหารทุก 0, 1, 3, และ 6 ชั่วโมงเพื่อศึกษากลูโคสในเลือดปลานิล

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มการทดลอง: สิงหาคม 2553

สิ้นสุดการทดลอง: กันยายน 2554

ผลและวิจารณ์

1. การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิลที่ประกอบด้วย ปลาป่นในปริมาณน้อยในสูตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตและสุขภาพ ของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

1.1 การเจริญเติบโต สมรรถภาพการผลิต และ ต้นทุนการผลิต

ผลการศึกษาสมรรถภาพการผลิตของปลานิล พบว่าเมื่อให้อาหารมีการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ปลานิลที่กินอาหารทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด รวมไปถึงต้นทุนการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโต อัตรารอด และต้นทุน ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ระยะเวลา 12 สัปดาห์

Performance	Methionine (%)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
Initial weight (g/fish)	137.41± 10.41	137.41± 10.41	137.41± 10.41	
Final weight (g/fish)	396.25 ± 27.50 ^a	386.25 ± 37.721 ^a	435.05 ± 23.80 ^a	0.1068
Weight gain (g/fish)	257.50± 27.69 ^a	259.50±26.85 ^a	298.25± 15.71 ^a	0.0691
Average daily gain (g/fish/day)	3.06± 0.33 ^a	3.08± 0.32 ^a	3.55± 0.18 ^a	0.0675
Specific growth rate (%/fish/day)	0.934± 0.006 ^a	0.955± 0.047 ^a	0.951± 0.0028 ^a	0.5513
Survival rate (%)	100 ± 0 ^a	97.50 ± 5.00 ^a	100 ± 0 ^a	0.4053
Cost (baht / fish 1 kg)	31.04± 1.23 ^a	30.66± 2.37 ^a	29.62± 1.30 ^a	0.5095

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน
มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

น้ำหนักตัวที่เพิ่ม ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p=0.06$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 298.2 กรัม ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 257.5 และ 259.5 กรัม ตามลำดับ

น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวันของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p=0.06$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.55 กรัม ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.06 และ 3.08 กรัม ตามลำดับ

อัตราการรอด เมื่อเลี้ยงปลานิลไปจนถึงสิ้นสุดระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายต่ำกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97.50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตราการเจริญจำเพาะ ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการเจริญจำเพาะต่อวันของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.995 กรัมต่อวัน ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.934 และ 0.951 กรัมต่อวัน ตามลำดับ

จากผลการทดลองน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยที่ดีกว่ากลุ่มอื่น แสดงว่าอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น เช่นเดียวกับ Kalinowski *et al.* (2003) กล่าวว่า การเพิ่มระดับเมทไธโอนีนสูงขึ้นทำให้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวันดีขึ้น เพราะเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มสมดุลของกรดอะมิโนในร่างกายทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้สูงสุด ช่วยให้ร่างกายสัตว์เจริญเติบโตตามปกติ ดังนั้น เมื่อเลี้ยงปลานิลไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ต้นทุนของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนต่ำกว่ากลุ่มอื่น มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.62 บาทต่อปลา 1 กิโลกรัม

ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.04 และ 30.66 บาท ต่อปลา 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาจากราคาอาหาร และต้นทุนค่าอาหารเพื่อให้ได้ปลา 1 กิโลกรัม และพิจารณาในแง่ของเศรษฐศาสตร์แล้ว ระดับการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิล ที่ระดับ 0.55 ดังกล่าวมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาดีขึ้น เทียบเท่ากับปลากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน รวมถึงค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าดีกว่า และต้นทุนราคาอาหารยังถูกกว่าการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับอื่น ๆ รวมถึงกลุ่มควบคุมด้วย

ตารางที่ 6 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง
ระยะเวลา 12 สัปดาห์

การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน	Methionine (%)			
	0%	0.25%	0.55%	p-Value
Feed intake (g/fish)	5.14± 0.14 ^a	5.04± 0.19 ^a	5.45± 0.19 ^a	0.3021
Apparent net protein utilization (%)	12.38± 1.16 ^a	16.24± 0.94 ^b	13.90± 0.15 ^a	0.0350
Protein efficiency ratio; PER	1.86± 0.13 ^a	2.01± 0.07 ^a	2.03± 0.08 ^a	0.0791
Feed conversion ration ; FCR	1.68 ± 0.13 ^a	1.66 ± 0.06 ^a	1.53 ± 0.06 ^a	0.1006

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.2 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในอาหาร

อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (Feed intake ; g/fish) ของทุกชุดการทดลอง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวันดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย 5.45 กรัมต่อตัวปลา ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.14 และ 5.04 กรัมต่อตัวปลา ตามลำดับ

คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (Apparent net protein utilization: aNPU) ของปลานิลที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีน 3 ระดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปลานิลที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 16.24 ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.38 และ 13.90 ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio; PER) ซึ่งเป็นการประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่มีผลให้น้ำหนักของปลานิลเพิ่มขึ้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ประสิทธิภาพโปรตีนในอาหารของปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p = 0.07$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.03 ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.86 และ 2.01 ตามลำดับ

อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ของทุกชุดการทดลอง พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราแลกเนื้อดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย 1.53 ขณะที่ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.68 และ 1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืช จำพวกกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารปลานิลชนิดเม็ดลอยน้ำ ขนาด 137.41 ± 10.41 กรัม/ตัว เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าแหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารมีผลต่ออัตราเจริญเติบโตของปลานิล บางพารามิเตอร์เท่านั้นคือน้ำหนักตัวที่เพิ่ม (Weight gain, WG) และน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน (Average daily gain :ADG) มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่แหล่งของโปรตีนและระดับการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายในการเลี้ยงปลานิล คุณประโยชน์สุทธิของโปรตีน (Apparent net protein utilization: aNPU) มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (Feed intake; g/fish) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio; PER) และอัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ไม่แตกต่างทางสถิติ

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 กรัม เลี้ยงในบ่อคอนกรีต ระบบน้ำหมุนเวียน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio) และองค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัว (muscle composition) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

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 และดีแอล-เมทไธโอนีน ให้ครบตามความต้องการของปลานิล นำมาเลี้ยงปลานิล 2 ชนิด คือ *Oreochromis niloticus* และ *Sarotherodon galilaeus* เป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ($p>0.05$) น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (final mean body weight) ปริมาณอาหารที่ให้ (feed intake) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percentage of weight gain) และอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate) มีค่าต่ำสุดในปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี CGM เป็นแหล่งโปรตีน ปลานิลทั้งสองชนิดสามารถใช้ประโยชน์โปรตีนจาก SBM ในอาหารต่อการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio) พบว่าการใช้ FFSB เป็นแหล่งโปรตีนมีประสิทธิภาพดีกว่าพืชโปรตีนชนิดอื่น ส่วนพารามิเตอร์ของคุณประโยชน์สุทธิในอาหาร ได้แก่ protein productive value (PPV) fat retention (ER) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ในปลานิลทั้งสองชนิด โดยปลานิล *O. niloticus* สามารถใช้ประโยชน์จาก SBM และ FFSB ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่มีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโต สำหรับปลานิล *S. galilaeus* พบว่าการใช้ SBM ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหาร จะยับยั้งการเจริญเติบโตและลดคุณประโยชน์สุทธิของอาหารสำหรับปลานิล *S. galilaeus* พบว่าการใช้ SBM ทดแทนปลาป่นทั้งหมดในสูตรอาหารจะยับยั้งการเจริญเติบโตและลดคุณประโยชน์สุทธิของอาหาร

สอดคล้องกับการศึกษาของ Solton *et al.* (2008) ในการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชผสม 5 ชนิด ได้แก่ cottonseed, sunflower, canola, sesame meals และ linseed meals ในอาหารปลานิล พบว่าการทดแทนที่ระดับ 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ เมื่อทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนพืชในระดับที่สูงขึ้น 60, 75, 90, และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร มีผลทำให้ปริมาณอาหารที่กิน อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารลดลง ($p>0.05$) นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนอาหารต่อกิโลกรัม และราคาอาหารต่อกิโลกรัมปลาที่เพิ่มขึ้นได้ 11.40 และ 6.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเมทไธโอนีนระดับต่างๆ

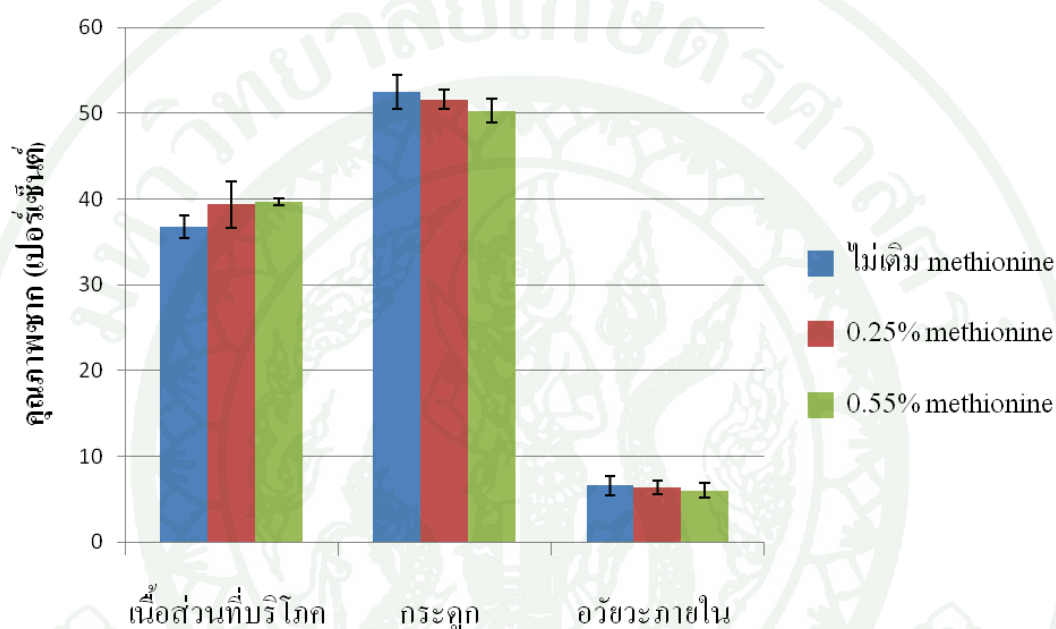
พารามิเตอร์	ระดับเมทไธโอนีน (%)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
เนื้อส่วนที่บริโภคร (เปอร์เซ็นต์)	36.81±1.33 ^a	39.36±1.97 ^b	39.68±1.13 ^b	0.0494
กระดูก (เปอร์เซ็นต์)	52.44±2.72 ^a	51.57±1.12 ^a	50.30±0.79 ^a	0.2743
อวัยวะภายใน (เปอร์เซ็นต์)	6.56±0.36 ^a	6.34±1.40 ^a	6.02±0.87 ^a	0.7403

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เปอร์เซ็นต์ซาก และค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลขนาด 137.4 กรัม ที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงใน (ตารางที่ 4) เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิล โดยแยกออกเป็นเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภครได้ กระดูก และอวัยวะภายใน จากการทดลองนี้ พบว่าเปอร์เซ็นต์กระดูก และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในของทุกกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์กระดูกมีค่าอยู่ในช่วง 50.30 - 52.44 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในมีค่าอยู่ในช่วง 6.02 - 6.56 เปอร์เซ็นต์ แต่เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภครได้ของปลากลุ่มที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมี

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 39.68, 39.36 และ 36.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิลมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้ มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อกินได้ของปลานิลในการทดลองนี้กับการศึกษาของ ส่งศรี และคณะ(2545) พบว่ามีค่าค่อนข้างสูงกว่ามาก ซึ่งค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้จากการศึกษาดังกล่าวมีค่าอยู่ในช่วง 22.53 - 36.69 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เกิดจากน้ำหนักตัวปลา และอาหารที่ปลาได้รับ มีความแตกต่างกัน



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเมทไธโอนีนระดับต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ดังนั้นจากผลที่เสริมเมทไธโอนีนในอาหารปลานิลมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้ มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มสูงขึ้น น่าจะเป็นผลดีต่อการนำไปส่งเสริมการเลี้ยงปลานิลให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น ในด้านอุตสาหกรรมส่งออก เช่น อุตสาหกรรมห้องเย็น ก็จะได้รับประโยชน์จากเนื้อปลานิลที่มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มมากขึ้น

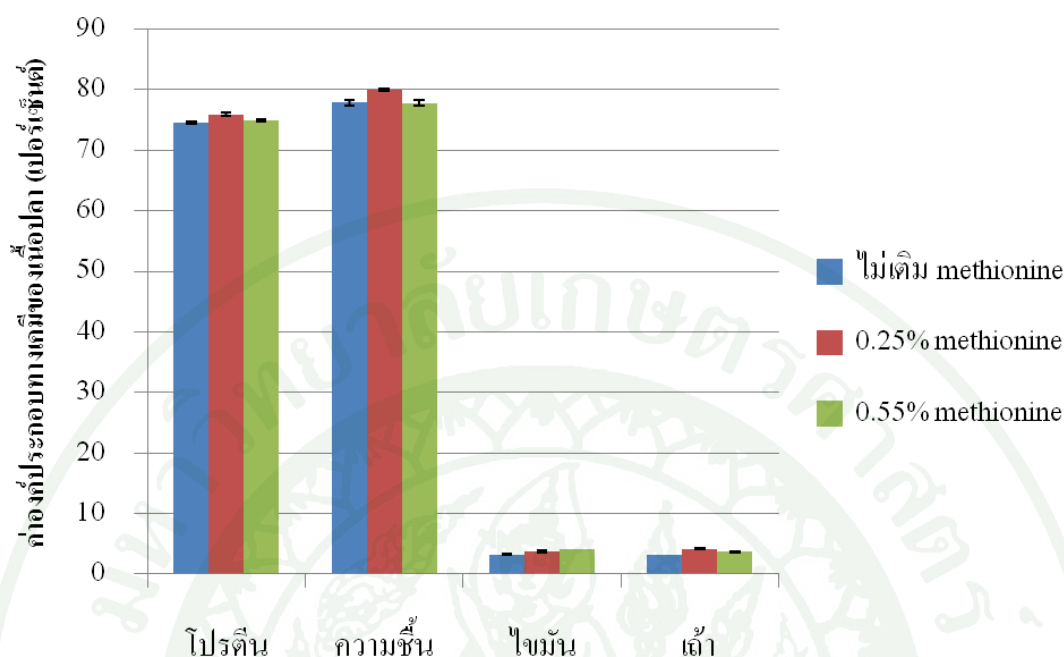
ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีในตัปลา (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน
ที่ระดับต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมี (น้ำหนักแห้ง)	ระดับเมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	74.50± 0.17 ^a	75.69±0.30 ^b	74.90±0.17 ^a	0.0074
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	3.23±0.08 ^a	3.82±0.19 ^b	4.12±0.08 ^b	0.0077
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	3.16± 0.03 ^a	4.20±0.12 ^b	3.70±0.10 ^b	0.0005
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	0.25±0.02 ^a	0.26±0.026 ^a	0.22±0.008 ^a	0.3926
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	77.90± 0.46 ^a	80.00± 0.24 ^b	77.80± 0.43 ^a	0.0049

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน
มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบทางเคมีในตัปลา

การศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีในตัปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับอาหารที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นนำตัปลานิลวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในตัปลาโดยวิธี proximate analysis ซึ่งพบว่าองค์ประกอบทางเคมีในตัปลานิลแบบเปอร์เซ็นต์แห้ง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น มีค่าแตกต่างกันระหว่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับเยื่อใยในตัปลานิลแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และความชื้นสูงที่สุดในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วง 74.50-75.92 เปอร์เซ็นต์ ไขมันมีค่าอยู่ในช่วง 3.16-4.20 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยมีค่าอยู่ในช่วง 0.22-0.26 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นมีค่าอยู่ในช่วง 77.80-80.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปลานิลที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไขมันสูงที่สุดในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยไขมันมีค่าอยู่ในช่วง 3.23-4.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างปลา (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ

จากการศึกษาของ Yue and Zhou (2008) ศึกษาการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากนุ่นในอาหารปลานิล hybrid tilapia (*O. niloticus* X *O. aureus*) ระยะ juvenile ขนาด 6.27 กรัม พบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาโดยมีค่า โปรตีน ไขมัน และเถ้า มีค่าอยู่ในช่วง 19.68 – 20.65, 0.90 – 1.02 และ 1.35 – 1.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองในปลานิลในครั้งนี้ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงปกติของปลา

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาจากผลการทดลองในครั้งนี้มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับค่าที่ได้จากการทดลองของ Ergün *et al.* (2008) ซึ่งศึกษาในปลานิลขนาด 10 กรัม และ 11.73 กรัม ที่พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัวโดยศึกษาความชื้น โปรตีน ไขมัน อยู่ในช่วง 75.6 – 76.9, 14.9 – 15.5 และ 2.4 – 3.8 เปอร์เซ็นต์ และ 75.5, 15, 4.6 และเถ้ามีค่าเท่ากับ 4.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ค่าดัชนีตับต่อตัว และค่าไกลโคเจนที่ตับของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

พารามิเตอร์	ระดับเมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
ค่าดัชนีตับต่อตัว (เปอร์เซ็นต์)	2.50±0.39 ^a	2.51±0.19 ^a	2.51±0.35 ^a	0.9998
ไกลโคเจนในตับ (mg glucose/g liver)	13.10±2.67 ^a	13.44±2.76 ^a	15.31±3.35 ^a	0.5445

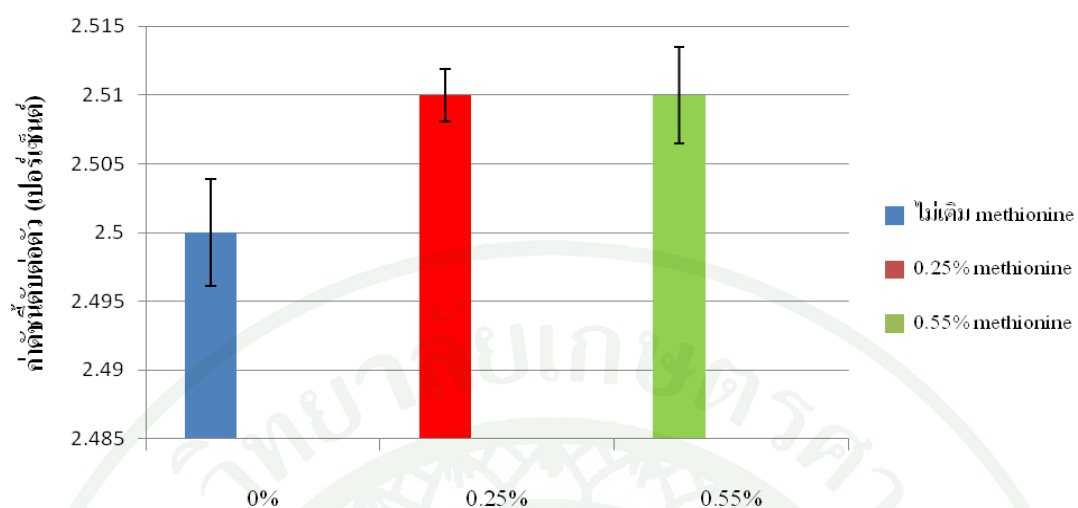
หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index)

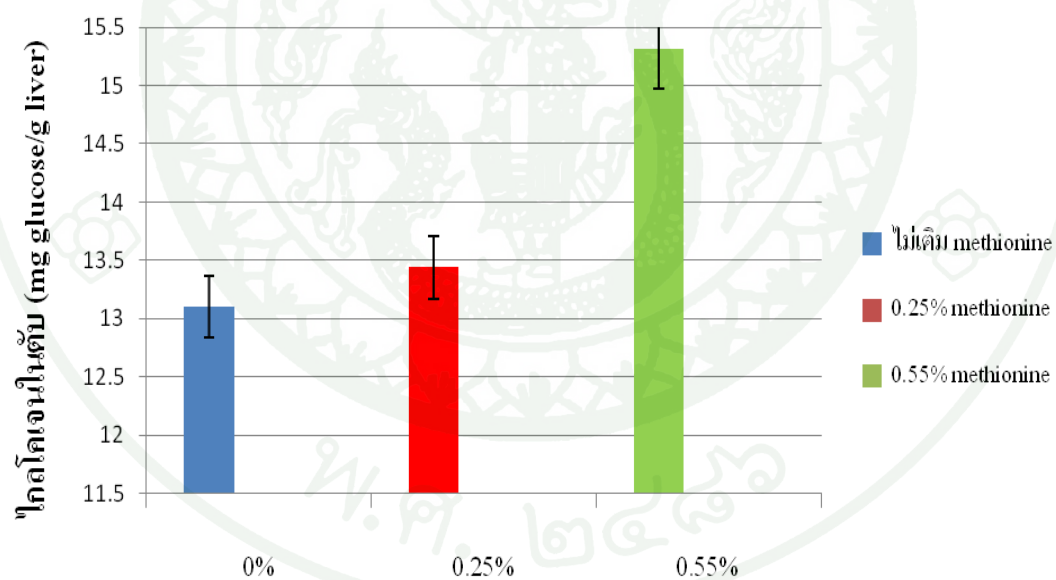
การศึกษาค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลหลังการได้รับอาหารทดลองที่เสริมเมทไธโอนีน ที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบค่าน้ำหนักตับของปลาก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12 สัปดาห์ พบค่าน้ำหนักตับต่อตัวปลานิลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยค่าน้ำหนักตับของปลานิลก่อนการทดลองมีค่า 2.20±0.12 เปอร์เซ็นต์ และค่าน้ำหนักตับของปลานิลที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับแตกต่างกันนั้นจะมีค่า 2.50±0.39, 2.51±0.19 และ 2.51±0.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองสรุปว่าเมื่อมีการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับแตกต่างกันที่ 0, 0.25, และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ค่าดัชนีตับต่อตัวแตกต่างกันไม่มากนัก

ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen)

ปริมาณไกลโคเจนที่สะสมในเซลล์ตับของปลานิลหลังจากได้รับอาหารทดลอง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 15.31±3.35 (mg glucose/g liver) และปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 13.10±2.67 และ 13.44±2.76 (mg glucose/g liver) ตามลำดับ



ภาพที่ 6 ค่าดัชนีเติบโตตัวของปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนระดับต่างๆ



ภาพที่ 7 ปริมาณไกลโคเจนในตับ (liver glycogen) ของปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ

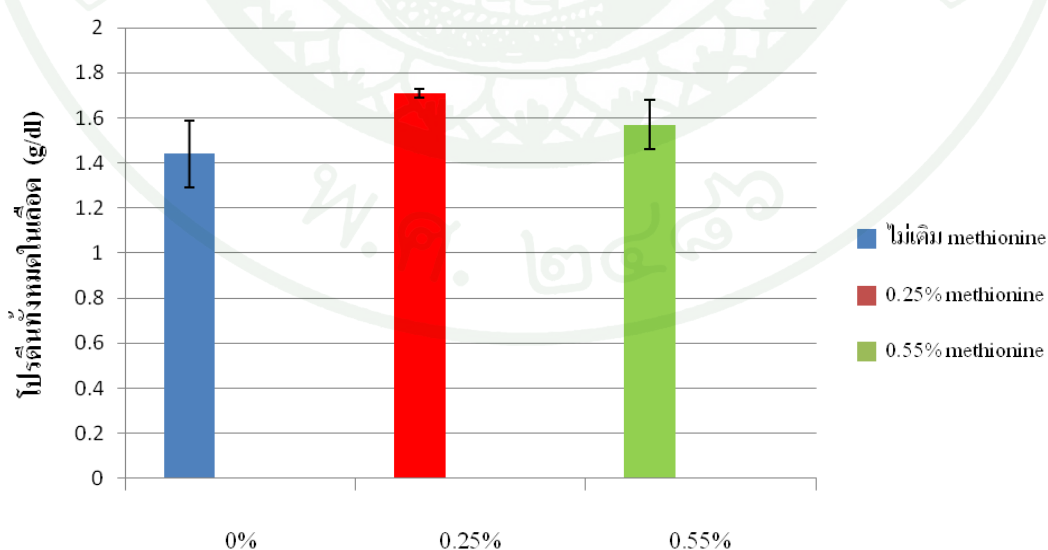
ตารางที่ 10 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

พารามิเตอร์	ระดับเมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
protein (g/dl)	1.44±0.15 ^a	1.71±0.02 ^a	1.57±0.11 ^a	0.2722
immunoglobulin (g/dl)	0.47±0.04 ^a	0.60±0.02 ^a	0.55±0.05 ^a	0.2042
glucose (mg/dl)	56.75±3.7 ^a	65.62±8.34 ^a	76.50±13.52 ^b	0.0465

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ค่าโลหิตวิทยา

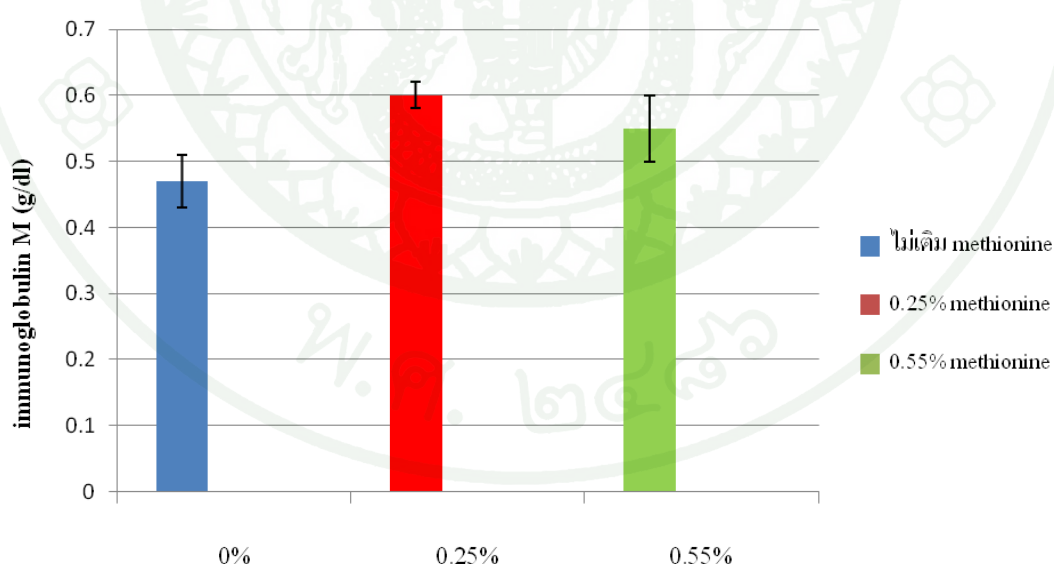
การศึกษาผลการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิล เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ค่าโลหิตวิทยาของปลานิล เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) พบว่าระดับโปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) ในทุกชุด การทดลอง มีค่าใกล้เคียงกัน โดยจะมีค่า 1.44±0.15, 1.71±0.02 และ 1.57±0.11 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 8 โปรตีนทั้งหมดในเลือด (total serum protein) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบระดับโปรตีนในเลือดจากผลที่ได้จากการทดลองนี้กับค่าที่พบในปลานิลในการทดลองอื่นๆ และปลาชนิดอื่น เช่น ปลา jundia (*Rhamdia quelen*) และ *Clarias lazera* ขนาด 100 – 200 กรัม ซึ่งมีค่าโปรตีนในเลือดอยู่ในช่วง 3.3 – 5.1 g/dl (Borges *et al.*, 2004; Mahmoud and Al-Salahy, 2004; Chen *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004) พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าค่อนข้างต่ำ สำหรับค่าโปรตีนในเลือดในปลานิลขนาดอื่น ๆ เช่น ค่าโปรตีนในเลือดปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 52 กรัม ของ Yavuzucan *et al.* (1997) มีค่าเท่ากับ 4.60 g/dl และ 3.40 g/dl สำหรับปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 38.46 กรัม (Hussein *et al.*, 1996) ทั้งนี้ความแตกต่างดังกล่าวอาจเกิดจากลักษณะทางชีววิทยาของปลาแต่ละตัว แต่ละขนาด และในแต่ละชนิด รวมถึงสภาวะแวดล้อมอาหารที่ปลาได้รับ รวมถึงความสามารถในการย่อยได้ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีรวิทยาของปลาในแต่ละตัวด้วย (Guillaume, 2001)

ค่า immunoglobulin M (Ig M) พบว่ามีความไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงสุด 0.60 ± 0.02 กรัม/เดซิลิตร และอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์มีค่า 0.55 ± 0.05 กรัม/เดซิลิตร ส่วนอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์มีค่าน้อยที่สุด 0.47 ± 0.04 กรัม/เดซิลิตร

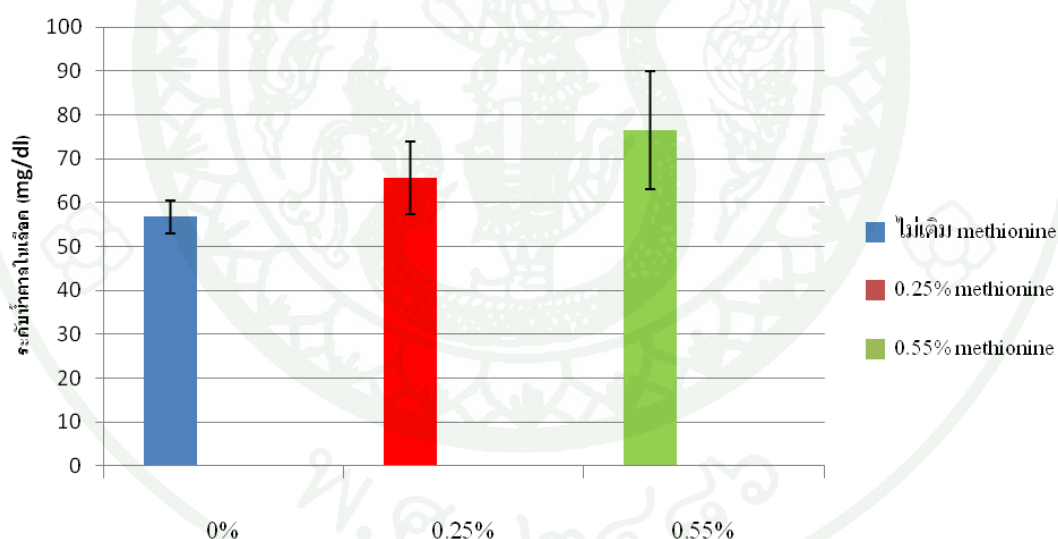


ภาพที่ 9 ค่า immunoglobulin M (Ig M) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบค่า immunoglobulin M (Ig M) ระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยกัน ผลการทดลองให้ค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า immunoglobulin M ไม่ชัดเจนพอ ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกันของปลา

ซึ่งผลการวิเคราะห์เลือดนำ มาใช้ประโยชน์ในแง่การประเมินสุขภาพของปลาได้โดย Klinger และคณะ (1996) รายงานว่าการศึกษาค่าโลหิตวิทยามีความสำคัญมากในการประเมินถึงความเหมาะสมของอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ได้ว่าการนำ อาหารชนิดต่างๆ มาเลี้ยงสัตว์มีผลต่อสุขภาพของสัตว์

ระดับน้ำตาลในเลือดปลาที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 76.50 mg/dl และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 56.75 และ 65.62 mg/dl ตามลำดับ



ภาพที่ 10 ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จากผลการทดลองระดับน้ำตาลในเลือดปลาใน ที่เสริมเมทไธโอนีนมีค่าสูงขึ้น อาจเนื่องจากอาหารที่เสริมเมทไธโอนีนส่งผลให้การใช้ประโยชน์อาหารดีขึ้น การใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตดีขึ้น ทำให้ตรวจพบน้ำตาลในเลือดปลาใน ที่เสริมเมทไธโอนีนในอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลในเลือดปลาใน ที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

คุณภาพน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยในช่วง 5.24 – 5.54 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งตลอดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงของออกซิเจนที่ละลายในน้ำอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงปลาที่กินอาหารทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับมาตรฐาน คือปริมาณออกซิเจนละลายน้ำควรมีค่าตั้งแต่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป ตามที่ Swingle *et. al.*, (1969) ได้กล่าวว่า ระดับออกซิเจนที่ดีสำหรับสัตว์น้ำคือที่ระดับไม่ต่ำกว่า 5 มิลลิกรัม/ลิตร McKee และ Wolf (1963) สรุปว่าปริมาณออกซิเจนสำหรับสัตว์น้ำไม่ควรต่ำกว่า 5 มิลลิกรัม/ลิตร เกิน 8 ชั่วโมงรอบวัน และไม่ควรถดต่ำกว่า 3 มิลลิกรัม/ลิตร

แอมโมเนีย

ปริมาณแอมโมเนียในน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยในช่วง 0.28 – 0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งปริมาณแอมโมเนียที่ได้จากการวิจัย อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ คือไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร (โชคชัย, 2548) แอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลาใน ที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีแอมโมเนียต่ำกว่ากลุ่มอื่น ซึ่งการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารอาจส่งผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียในน้ำลดลงได้

ไนโตรเจน

ปริมาณไนโตรเจนของน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.20 – 0.21 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิจัย อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ คือไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร จากผลการทดลองไนโตรเจนมีค่าค่อนข้างต่ำ เพราะในธรรมชาติไนโตรเจนจะไม่คงที่แต่จะถูกย่อยสลายต่อไปโดยพวกแบคทีเรียได้เป็นไนเตรท (โชคชัย, 2548)

ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH)

ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.54 – 7.61 โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำในถังปลานิลทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ โดยค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วง 6.5-9.0 (โชคชัย, 2548)

อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28.22 – 28.55 องศาเซลเซียส ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ความเค็มของน้ำ

ความเค็มของน้ำในถังเลี้ยงปลาตลอดช่วงการเลี้ยงที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.15 – 0.17 โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 11 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรท์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ อุณหภูมิ และตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 12 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)

คุณภาพน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อาหารทดลองสูตรที่			p-Value
	1	2	3	
ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/l)	5.26 $\pm$ 0.38 ^a	5.54 $\pm$ 0.14 ^a	5.34 $\pm$ 0.09 ^a	0.7157
แอมโมเนีย (mg/l)	0.35 $\pm$ 0.02 ^a	0.31 $\pm$ 0.03 ^a	0.28 $\pm$ 0.04 ^a	0.3671
ไนไตรท์ (mg/l)	0.20 $\pm$ 0.01 ^a	0.20 $\pm$ 0.01 ^a	0.21 $\pm$ 0.09 ^a	0.9069
pH	7.54 $\pm$ 0.03 ^a	7.61 $\pm$ 0.06 ^a	7.58 $\pm$ 0.06 ^a	0.5439
อุณหภูมิของน้ำ (c ^o)	28.22 $\pm$ 0.06 ^a	28.55 $\pm$ 0.29 ^a	28.42 $\pm$ 0.15 ^a	0.5224
ความเค็ม (ppt)	0.15 $\pm$ 0.02 ^a	0.17 $\pm$ 0.02 ^a	0.15 $\pm$ 0.02 ^a	0.7674

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

โดยสรุปคุณภาพของน้ำที่ใช้ระหว่างการทดลอง คือ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรท์ และค่าความเป็นกรดเป็นเบส มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทั้งสิ้น

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนและโปรตีนในเลือดภายหลังการให้อาหาร และกรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร

ผลการศึกษาระดับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนและโปรตีนในเลือดภายหลังการให้อาหาร ปลาชนิด พบว่าเมื่อให้อาหารที่มีเสริมเมทไธโอนีน ที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ปลาที่กินอาหารทั้ง 3 สูตร ให้ผลระดับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนในเลือด 3 ช่วงเวลาน้ำตาลในเลือด และกรดอะมิโนในอาหาร ดังนี้

ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในเลือด หลังจากการให้อาหารเก็บตัวอย่างเลือด
4 ชั่วโมง และกรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)

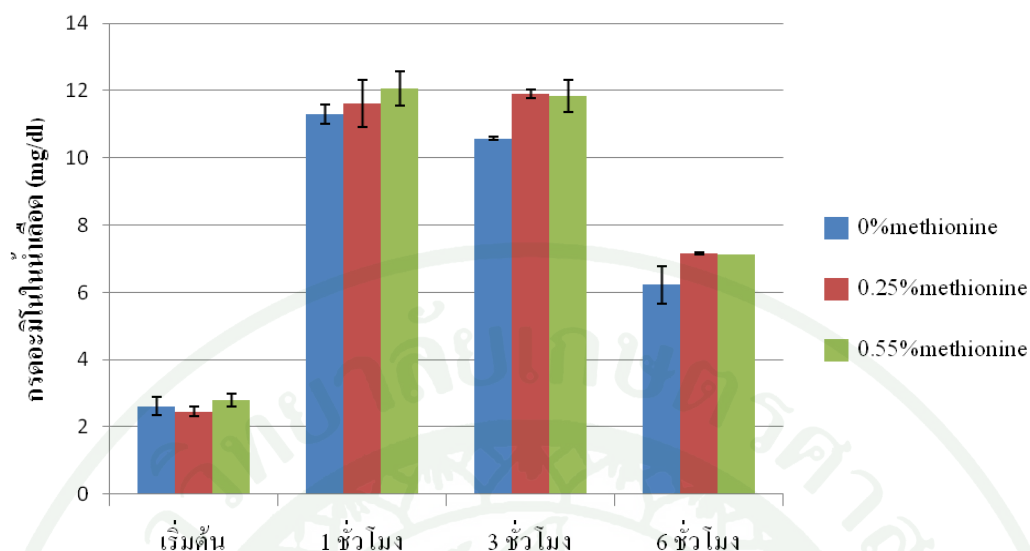
กรดอะมิโนในเลือด	ระดับเมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
เริ่มต้น (mg/dl)	2.62 $\pm$ 0.27 ^a	2.45 $\pm$ 0.14 ^a	2.79 $\pm$ 0.19 ^a	0.5560
หลังให้อาหาร 1 ชม. (mg/dl)	11.31 $\pm$ 0.29 ^a	11.61 $\pm$ 0.70 ^a	12.06 $\pm$ 0.51 ^a	0.6206
หลังให้อาหาร 3 ชม. (mg/dl)	10.57 $\pm$ 0.05 ^a	11.91 $\pm$ 0.13 ^b	11.85 $\pm$ 0.48 ^b	0.0171
หลังให้อาหาร 6 ชม. (mg/dl)	6.22 $\pm$ 0.55 ^a	7.17 $\pm$ 0.03 ^a	7.14 $\pm$ 0 ^a	0.1090
กรดอะมิโนในอาหาร (mg/dl)	12.90 $\pm$ 0.14 ^a	13.81 $\pm$ 0.15 ^a	14.48 $\pm$ 0.03 ^b	0.0001

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน
มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กรดอะมิโนในน้ำเลือด

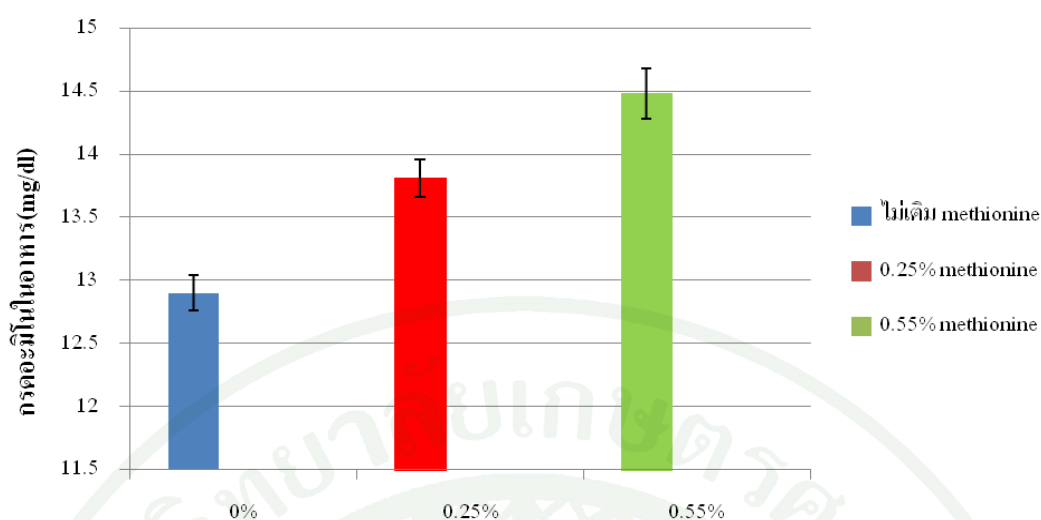
การศึกษาผลการเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลานิล
เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ กรดอะมิโนในน้ำเลือดปลานิล เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า หลัง
ให้อาหารเวลาเริ่มต้น เวลา 1 ชั่วโมง และเวลา 6 ชั่วโมงมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

แต่กรดอะมิโนในเลือดหลังให้อาหารทดลองที่เวลาผ่านไป 3 ชั่วโมงพบว่า มีความแตกต่าง
กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ค่ากรดอะมิโนในน้ำเลือดเริ่มต้น พบว่าไม่แตกต่างกันทาง
สถิติ ($P > 0.05$) โดยอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงสุด 2.79 $\pm$
0.19 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์มีค่า 2.62 $\pm$ 0.27
มิลลิกรัม/เดซิลิตร ส่วนอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์มีค่าน้อยที่สุด
2.45 $\pm$ 0.14 มิลลิกรัม/เดซิลิตร



ภาพที่ 11 กรดอะมิโนในน้ำเลือด ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ณ ช่วงเวลาต่างๆ

หลังจากการให้อาหารผ่านไป 1 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 11.31-12.06 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และหลังจากการให้อาหารผ่านไป 6 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 6.22-7.17 มิลลิกรัม/เดซิลิตร พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนหลังจากการให้อาหารผ่านไป 3 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) โดยอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงสุด 11.91 ± 0.13 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์มีค่า 11.85 ± 0.48 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ส่วนอาหารปลานิลที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์มีค่าน้อยที่สุด 10.57 ± 0.05 มิลลิกรัม/เดซิลิตร



ภาพที่ 12 กรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร

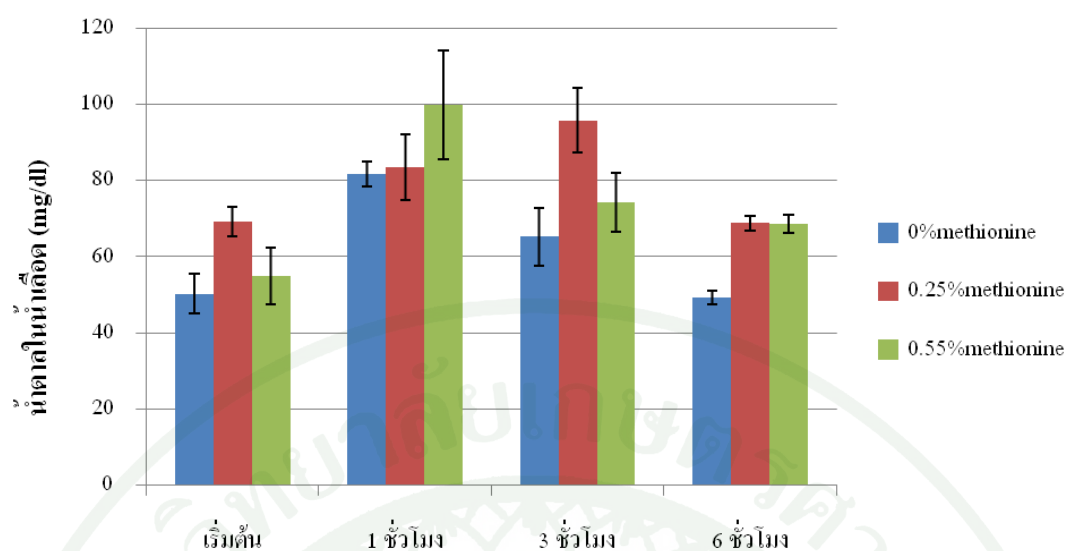
กรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร

กรดอะมิโนในอาหาร 3 สูตร ที่เสริมเมทไธโอนีน 3 ระดับ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยอาหารที่เสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 14.48 ± 0.03 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ขณะที่ปลาไนที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.90 ± 0.14 และ 13.81 ± 0.15 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 13 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในเลือด หลังจากการให้อาหารเก็บตัวอย่างเลือด 4 ช่วงเวลา (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE)

น้ำตาลในเลือด	ระดับเมทไธโอนีน (เปอร์เซ็นต์)			p-Value
	0%	0.25%	0.55%	
เริ่มต้น (mg/dl)	50.25 $\pm$ 5.17 ^a	69.25 $\pm$ 3.94 ^a	55.0 $\pm$ 7.44 ^a	0.1004
หลังให้อาหาร 1 ชม. (mg/dl)	81.75 $\pm$ 3.27 ^a	83.50 $\pm$ 8.58 ^a	99.75 $\pm$ 14.35 ^a	0.3997
หลังให้อาหาร 3 ชม. (mg/dl)	65.25 $\pm$ 7.56 ^a	95.75 $\pm$ 8.44 ^a	74.25 $\pm$ 7.86 ^a	0.0614
หลังให้อาหาร 6 ชม. (mg/dl)	49.25 $\pm$ 1.75 ^a	68.75 $\pm$ 1.88 ^b	68.50 $\pm$ 2.39 ^b	0.0001

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 13 น้ำตาลในเลือด ของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ณ ช่วงเวลาต่างๆ

น้ำตาลในเลือด

ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ที่เวลาเริ่มต้นมีค่าอยู่ในช่วง 50.25-55.0 mg/dl หลังจากการให้อาหารผ่านไป 1 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 81.75-99.75 mg/dl และหลังจากการให้อาหารผ่านไป 3 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง 65.25-95.75 mg/dl พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

หลังจากการให้อาหารผ่านไป 6 ชั่วโมง ปลาที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.75 mg/dl ปลาที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 56.75 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq 0.05$) กับ ปลานิลที่ได้รับเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 49.25 mg/dl

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองสมรรถภาพการผลิตของปลานิล พบว่าเมื่อให้อาหารที่มีเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0, 0.25 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ปลาที่กินอาหารทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG) น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวัน (Average daily gain :ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate :%/fish/day) อัตรารอด (Survival rate : SV%) รวมไปถึงต้นทุนการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มต่อวันของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55 % มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.06$)

คุณสมบัติของโปรตีน ที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (Feed intake ; g/fish) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio; PER) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสุขภาพสัตว์น้ำ พบว่าโปรตีนในเลือด อิมโมโนโกลบูลิน (IgM) และไกลโคเจนไม่แตกต่างกัน แต่น้ำตาลในเลือดของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.55% สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) และเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% (39.36%) และ 0.55% (39.68%) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% (36.81%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ดังนั้นการเสริมเมทไธโอนีน 0.25-0.55% ในอาหารปลานิลที่ประกอบด้วยปลาป่น 3% มีแนวโน้มในการเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิล($p=0.06$) และมีเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนที่บริโภคได้มีค่าสูงขึ้น ($p\leq 0.05$)

ผลการทดลอง 12 สัปดาห์ กรดอะมิโนในน้ำเลือดปลานิล พบว่า ให้อาหารที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน 3 ระดับ ณ เวลาเริ่มต้น เวลา 1 ชั่วโมง และเวลา 6 ชั่วโมงมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กรดอะมิโนในน้ำเลือดหลังให้อาหารทดลองที่เวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง ปลาที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) ส่วนน้ำตาลในเลือดปลานิล หลังการให้อาหารทดลอง ณ เวลาเริ่มต้น เวลา 1 ชั่วโมง และเวลา 3 ชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่น้ำตาลในเลือดหลังให้

อาหารทดลองที่เวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ปลาที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.25% และ 0.55% มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนที่ระดับ 0% อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้อาหารทดลองมีแหล่งโปรตีนร่วมกันระหว่างปลาป่น กากถั่วเหลืองและกรดอะมิโนสังเคราะห์ โดยมีสัดส่วนของโปรตีนร้อยละประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนจากปลาป่นเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ซึ่งส่งผลต่อการยอมรับอาหารของปลาทดลอง นอกจากนี้ปัญหาในเรื่องความสามารถในการใช้กรดอะมิโนสังเคราะห์ของปลา ทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาที่ได้รับอาหารกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นควรมีการปรับปรุงสูตรอาหาร เช่น การเติมสารดึงดูดการกินลงไปในการให้อาหาร เพื่อให้อาหารมีความน่ากินเพิ่มขึ้น

เพื่อให้สามารถนำผลการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ได้ในฟาร์มเลี้ยงปลานิล ควรมีการศึกษาองค์ประกอบกรดอะมิโนในวัตถุดิบโปรตีนที่มีในประเทศ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำเอาวัตถุดิบที่หาได้ง่ายและราคาถูกใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลานิล ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลานิลให้สามารถผลิตอาหารเลี้ยงปลาเอง โดยนำเอาวัตถุดิบโปรตีนที่หาได้ง่ายและราคาถูกในท้องถิ่นมาใช้ อันจะช่วยลดต้นทุนอาหารและเพิ่มกำไรให้เกษตรกรได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

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

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

โชคชัย เหลืองธูปราณี. 2548. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์ โพธิ์เพช. กรุงเทพฯ.

นวลจันทร์ พารักษา. 2544. อาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวบาล. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ประยูร ลีलगามวงศ์. 2529. ทำไมจึงนำใช้ปลาเป็นอาหารสัตว์ ปลาปนสาร. 1 (3):37-45.

ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, มะลิ บุญรัตผลิน และนันทิยา อุ่นประเสริฐ. 2525. อาหารปลา. สถาบัน ประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ. 2553. โภชนศาสตร์สัตว์ปีก. คณะผลิตกรรมการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยี การเกษตรแม่โจ้. เชียงใหม่.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัยลาวัณยุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และวิมล จันทรโรทัย. 2536. การพัฒนาการ เพาะเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23/2536. สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรม ประมง, กรุงเทพฯ.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

สงศรี มหาสวัสดิ์, อรพินท์ จินตสถาพร, ประทักษ์ ตาบทพิชัยวรรณ และ จุฑามาศ นรชาญ. 2545. การใช้เนื้อหอยเชอรี่บดแห้งทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิล, น. 650 - 657. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 (สาขาสัตว์สัตวแพทยศาสตร์ สาขาประมง), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรางค์ อัสวมนัน. 2543. โปรตีน. ภาควิชาสัตววิทยา. คณะสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อากัสตรา ชมิดท์. 2543. ชีวเคมี. ภาควิชาสัตววิทยา. คณะสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อำนวย โชติญาณวงษ์. 2525. อาหารปลา. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Anderson, J. S., S P. Lall, D. M. Anderson, and M. A. McNiven, 1993. Quantitative dietary lysine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fingerlings. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 50 : 316-322.

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 Analytical Chemists, Inc., Arlington, Virginia. 1298 p.

Cho, C. Y., S. Kaushik, and B. Woodward. 1992. Dietary arginine requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Comp. Biochem. Physiol. 102A : 211-216.

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

Cowey, C. B. and M. J. Walton. 1989. **Intermediary metabolism. In Fish Nutrition.**

Academic Press Inc, Washington D. C. 259-329 p.

Dabrowska, H and T. Wojno. 1977. Study on the utilization by rain bow trout (*Salmo gairdneri*) of feed mixture containing soybean meal and the addition of amino acids. **Aquaculture** 77 : 29 – 49.

Dabrowska, H., K.M. Burgdorff and K.D. Gunther. 1989. Interaction between dietary protein and magnesium level in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 76: 277 – 291.

Davis, A. T. and R. R. Stickney. 1978. Growth response of *Tilapia aurea* to dietary protein quality and quantity. **Trans. Am. Fish. Soc.** 107: 479-483.

Dibner, J.J. and C.D. Knight. 1984. Conversation of 2-hydroxy-4-(methionine) butanoic acid and l- methionine in the chick: A stereospecific pathway. **J. Nutr.** 114: 1716-1723.

Finkelstein, J. D. 1990. Methionine Metabolism in Mammals. **J. Nutr. Biochem.** 1:228-237.

Eid, A.E. and S.I. Ghonim, 1994. Dietary zinc requirement of fingerling *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 119: 259 – 264.

Ergün, N.S., M. Soyutürk, B. Güroy, D. Güroy and D. Merrifield. 2008. Influence of Ulva meal on growth, feed utilization, and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. **Aquaculture Int.** DOI: 10.1007/s10499-008-9207-5.

FAO/UNDP. 1980. Fish feed Technology. FAO/UNDP Traning Course at Univ. of Wasington 395 p.

- 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 proteinbased diets. **Aquaculture Research** 38 (8): 827-837.
- Hanley, F. 1991. Effects of feeding supplementary diets containing varying levels of lipid on growth, food conversion, and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture** 93: 323 – 334.
- Hilton, J.W., C.Y. Cho and S.J. Slinger. 1981. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption, and physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture** 25: 185 – 194.
- 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, Chiayi, Taiwan.
- Jauncey, K.J. and B. Ross. 1982. **A Guide to Tilapia Feeds and Feeding**. University of Stirling, Scotland.
- 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.
- Kangsen , M., L. Zhang, A. Qinghui, D. Qingyuan, Z. Chunxiao, L. Huitao, W. junli and L. Zhiguo, 2006. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture** 258 : 535 – 542.

Keembiyehetty, C. N. and D. M. Gatlin III. 1992. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture** 104 : 271 – 277.

Ketola, H. G. 1982. **Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementaltion of diet. Comp. Biochem. Physiol.** 73B : 17-24.

Ketola, H. G. 1983. Requirement for dietry lysine and arginine by fry of rainbow trout. **J. Ani. Sci.** 56 : 101 – 107.

Lall, S. P., Kaushik, S. J., Le Bail, P. Y., Keith R., Anderson, J. S. and Plisetskaya, E. 1944. Quatitative arginine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. **Aquaculture** 124 : 13-25.

Lapierre, H., M. Vázquez-Añón, D. Parker, P. Dubreuil, G.E. Lobley. 2007. Absorption of 2-Hydroxy-4-Methylthiobutanoate in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, 90 : 2937-2940

Lovell, T. 1988. Nutrition and Feeding of fish. **New York** : Van Nostrand Reinhold.

Lovell, R. T. 1980. Feeding Tilapia. **Aquaculture Magazine**. 7: 42-43.

Lowry, OH., N.J. Rosebrough. A.J Farr. and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193: 265-275.

Lin, J.H. and S. - Y. Shiau. 1995. Hepatic enzyme adaptation to different dietary carbohydrates in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Fish Physiol. Biochem.** 14: 165– 170.

Moriarty, D. J. W. 1973. The physiology of digestion of blue green algae in Cichlid fish, *Tilapia nilotica*. **J. Zool. Lond.** 10171: 25-39.

Mckee, J. E. and H. W. Wolf, (eds.). 1963. **Water Quality Criteria**, 2nd ed. State of Calif., State Water Quality Control Board, Publ. No. 3-A, Sacramen. 548 pp.

Michael, F. R., S. Koshi, S-I Teshima, M. Ishikawa, O. Uyan. 2006. Effect of choline and methionine as methyl group donors on juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicas* Bate. **Aquaculture** 258: 521-528

Murray, R. K. Granner., P. A. Mayes. And V. W. Rodwell. 2000. **Harper's Biochemistry**. 25th ed. Appleton and Lange. USA.

National Research Council. 1984. **Nutrition Requirement of Poultry**. 8th ed. Nation Academy of Science. Washington,D.C.

NRC. 1993. **Nutrient Requirements of fish**. National Academy Press, Washington, D. C. 115 p.

Pickering, G. J. 1994. **The role of fish meal in poultry nutrition**. London, Internaltional Fish Meal Manufacturers.

Qi-Cun, Z. W. Zao-He, T. Bei-Ping , Y.C. Shu, Y. Qi-Hui, 2006. Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*) **Aquaculture** 258: 551 – 557.

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.

Sandholm, M.,R.R. Smith, J.C.H.Shih and M.L. Scott. 1976. Determination of antitrypsin Activity on agar plate relationship between antitrysin and biological value of soybean for trout. **J. Nutr.** 106 : 761 – 766.

SAS, Institute. 1996. **SAS/STAT User's Guide**. SAS Instiute Inc., Cary, NC., USA.

- Shiau, S.Y. and J.C. Chuang. 1995. Utilization of disaccharides by juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 133: 249 – 256.
- _____ and F.L. Jan. 1992. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Nippon Suisan Gakkaishi** 58: 671 – 675.
- _____ and H.L. Hsieh. 1997. Vitamin B6 requirements of tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus* fed dietary protein concentrations. **Fish. Sci.** 63: 1002 – 1007.
- _____ and S.F. Lin. 1993. Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 110: 321 – 330.
- _____ and Y.H. Chin. 1999. Estimation of the dietary biotin requirement of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 170: 71 – 78.
- Soliman, A.K. and R.P. Wilson. 1992. Water – soluble vitamin requirements of tilapia. 1. Pantothenic acid requirement of blue tilapia, *Oreochromis aureus*. **Aquaculture** 104: 121 – 126.
- Soliman, A.K., K. Jauncey and R.J. Roberts. 1986a. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). **Aquaculture** 59: 197-208.
- Soliman, A.K., K. Jauncey and R.J. Roberts. 1986b. The effect of varying forms of ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Aquaculture** 52: 1-10
- Sorensen, P.W. and N.E. Stacey. 1990. **Identified hormonal pheromones in the goldfish: the basis for a model of sex pheromones in fish**: status and prospects, pp. 177-181.

Scott, A.P., J.P. Sumpter, D.E. Kime and M.S. Rolfe, eds. **Reproductive Physiology of Fish, Symp. 91**, Sheffield.

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.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and 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.

Steffens, W. 1989. **Principles of Fish Nutrition**, Ellis Horwood Ltd., New York.

Soliman, A.K., K. Jauncey and R.J. Roberts. 1994. Water – soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquacul. Fish. Man.** 25: 269 – 278.

Stickney, R. R. and R. Hardy. 1989. Lipid requirements of some warmwater species. **Aquaculture** 79 : 145-156.

Stickney, R.R., R.B. McGeachin, D.H. Lewis, J. Marks, R.F. Sis, E.H. Robinson and W. Wurts. 1984. Response of *Tilapia aurea* to dietary vitamin C. **J. World Aqua. Soc.** 15: 179-185.

Swingle, H. S. 1969. **Methods of analysis for Water, Organic Matter, and Pond Bottom Soils Used in Fisheries Research**. Auburn Univ., Auburn, Ala. 119 pp.

Tacon, A.G.J.V. Haaster, P.B. Featherstone, K. Kerr and A.J. Jackson. 1983. Study on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. **Nippon Suisan Gakkainshi** 49 : 1437 – 1443.

- Teshima, S., G. Gonzalez, and A. Kanazawa. 1978. **Nutrition requirement of tilapia : utilization of dietary protein by *Tilapia zillii***. Memoirs of the Faculty of Fishery, Kagoshima University. 27: 49 – 57.
- Viola, S., S. Mokady and Y. Arieli. 1982. Partial and complete replacement of fish meal by soybean meal in feed for intensive culture carp. **Aquaculture** 26 : 223 – 236. Washington, D.C. 52 p.
- Viola, S. and Y. Arieli. 1983. Nutrition studies with tilapia (*Sarotherodon* sp.). 1. Replacement of fish meal by soybean meal in feeds for intensive tilapia culture. **Bamidgeh** 35: 9-17.
- Watanabe, T., T. Takeuchi, A. Marakami and C. Ogino. 1980. The availability to *Tilapia nilotica* of phosphorous in white fish meal. **Bull. Jpn. Soc. Fish.** 46: 897 – 899.
- Webster, C.D. and C.E. Lim. 2002. **Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture**. CABI Publishing, UK.
- Wilson, R. P. 1989. **Amino acid and protein**. In *Fish Nutrition* (ed. J. E. Halver), pp. 112-151. Washington D. C. : Academic Press Inc.
- Wilson, R. P. 1994. Amino acid requirement of finfish . In *Amino Acids in Farm Animal Nutrition* (ed. J. P. F. D'Mello). Pp. 63-97. **Singapore** : Colset Pte Ltd.
- Yue, Y.R. and Q.C. Zhou. 2008. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 284: 185 – 189.

Zeitoun, L.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.





การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

วิธีการวิเคราะห์หาความชื้น (AOAC, 2000)

1. เตรียม drying pan โดยอบในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปใส่ใน desiccators ทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที
2. นำ drying pan ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก
3. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน drying pan บันทึกน้ำหนักรวมของ drying pan และตัวอย่าง
4. นำ drying pan และตัวอย่างไปอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
5. นำ drying pan และตัวอย่าง ใส่ใน desiccators ทิ้งไว้ให้เย็นนาน 30 นาที แล้วนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(B-C) \times 100}{B-A}$$

โดยที่ A : น้ำหนัก drying pan

B : น้ำหนัก drying pan และตัวอย่างอาหารก่อนอบ

C : น้ำหนัก drying pan และตัวอย่างอาหารหลังอบ

วิธีการวิเคราะห์หาเถ้า

1. เตรียม crucible โดยอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำไปใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น
2. นำ crucible ไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก
3. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน crucible บันทึกน้ำหนัก crucible และตัวอย่าง
4. นำ crucible พร้อมตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง
5. เมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จากนั้นนำไปใส่ใน desiccators นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก

6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(B-C) \times 100}{B-A}$$

โดยที่ A : น้ำหนัก crucible

B : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารก่อนอบ

C : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ

วิธีการวิเคราะห์หาโปรตีน

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม catalyst mixed ที่มีส่วนผสมของ selenium อยู่ด้วยประมาณ 10 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงในหลอดย่อย 10 มิลลิลิตร
4. นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 30-45 นาที จนสังเกตเห็นเป็นสารละลายใส
5. ทิ้งให้เย็นประมาณ 20 นาที
6. เติมนํ้ากรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ 80 มิลลิลิตรในขวดลูกผสมพู่ หยด mixed indicator (methyl red + bromocresol green) 2-3 หยด นำไปตั้งที่เครื่องกลั่นให้ปลายหลอดกลั่นจุ่มในสารละลาย
7. นำหลอดตัวอย่างใส่ในเครื่องกลั่น เติมนํ้า 30 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์ 70 มิลลิลิตร ใช้เวลากลั่นประมาณ 3-4 นาที สารละลายกรดบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า
8. นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้
9. ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ในขวดลูกผสมพู่ หยด mixed indicator 2-3 หยด นำไปไตเตรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้

10. คำนวณหาค่าไนโตรเจนจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times F \times 1.4}{W}$$

โดยที่ N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ (0.1 N)

F = factor ของกรดซัลฟูริก ได้จากการ standardization กับ Tris-buffer

V_1 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรต blank

V_2 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

11. นำเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้คูณด้วยค่า Empirical factor คือ 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์หาไขมัน

1. อบ extraction beaker ในตู้อบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 1.5-3 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ อบและชั่งซ้ำ 1-2 ครั้งจนได้น้ำหนักที่คงที่
3. ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองอย่างหลวม ๆ
4. ใส่ตัวอย่างใน thimbles
5. เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ ลงใน extraction beaker
6. ตั้งบีกเกอร์ในเครื่องมีอวิเคราะห์ไขมันทิ้งไว้ประมาณ 1-1.5 ชั่วโมง จนนิโตรเลียมอีเทอร์ ในหลอดสกัดไขมันใส เก็บนิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในถังเก็บ สกัดจนนิโตรเลียมอีเทอร์ ในบีกเกอร์เกือบหมดจึงปิดเครื่อง
7. นำบีกเกอร์ที่มีไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมัน

9. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมันจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

โดยที่ W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

A = น้ำหนัก extraction beaker

B = น้ำหนัก extraction beaker และไขมันที่สกัดได้

1. วิธีการวิเคราะห์เยื่อใย

วิธีการวิเคราะห์เยื่อใยแบบ gravimetric (classical fiber) method

หลักการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหารที่ต้องการวิเคราะห์โดยใช้กรดอ่อนและด่างอ่อนด้วยการละลายสารอินทรีย์ส่วนที่สัตว์สามารถย่อยได้ออกจากตัวอย่าง (NFE) ส่วนที่เหลือคือสารอินทรีย์ส่วนที่ย่อยไม่ได้ (เยื่อใย) และสารอนินทรีย์ นำส่วนที่เหลือไปเผาแล้ว จะได้ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีในตัวอย่าง ปริมาณสารอินทรีย์ที่หายไปจากการเผาในแล้ว คือ ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่าง

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ต้มกรดซัลฟูริก 0.128 M ประมาณ 1 ลิตร
ต้มน้ำกลั่นให้ร้อน ประมาณ 1.5 ลิตร
ต้มด่าง KOH 0.223 M ประมาณ 1 ลิตร
2. ชั่งตัวอย่าง (W) น้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ใน crucible stand
3. นำ crucible ใส่ในเครื่องย่อย (hot extraction unit)
4. เติมกรดซัลฟูริก 0.128 M 150 มิลลิลิตร ต้มตัวอย่างจนเดือด แล้วจับเวลา ประมาณ 45-60 นาที
5. กรองสารจนแห้งล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
6. เติม KOH ที่ร้อน 0.223 M 150 มิลลิลิตร ต้มจนเดือดจับเวลา 30 นาที กรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง

7. นำ crucible ออกจากเครื่องย่อย ไปอบที่ 130 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccators ชั่งน้ำหนัก (W_1)
8. เผาตัวอย่างใน crucible ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จนเหลืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำ crucible ใส่ desiccator ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_2)
9. คำนวณปริมาณเชื้อใยจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เชื้อใย} = [(W_1 - W_2)/W] \times 100$$

2. ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ

วิธีการ

วิเคราะห์ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ โดยศึกษาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียอาหารไปในน้ำ และศึกษาลักษณะอาหารภายหลังการทดสอบ

หลักการ

ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำหมายถึง สภาพของอาหารที่จมอยู่ในน้ำ และมีการสูญเสียสารอาหารในน้ำตามระยะเวลาที่กำหนด โดยศึกษาในรูปเปอร์เซ็นต์การสูญเสียสารอาหารและพิจารณาลักษณะทั้งภายนอกและภายใน เมื่อหักเม็ดอาหารพิจารณาความคงทน และการดูดซับน้ำของอาหาร ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียมากหรือน้อยขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ สารเหนียวที่เติมเข้าไปในสูตรอาหาร ขบวนการผลิต เป็นต้น ซึ่งความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ ไม่มีค่ากำหนดเป็นมาตรฐาน ขึ้นกับชนิดสัตว์ที่ใช้อาหารนั้น ระยะเวลาที่ต้องการให้อาหารคงตัวอยู่ในน้ำ โดยทั่วไปสำหรับสัตว์น้ำประเภทกุ้ง ควรมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียอาหารในน้ำไม่เกิน 50 % ในเวลา 2 ชั่วโมง และในอาหารปลาควรมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียอาหารในน้ำไม่เกิน 50 % ในเวลาครึ่งชั่วโมง โดยเมื่อหักเม็ดอาหารแล้วภายในเม็ดอาหารควรมีส่วนแข็งไม่เกิน 30 % ของเม็ดอาหาร

การวิเคราะห์

การหาน้ำหนักที่แท้จริงของอาหาร

ชั่งน้ำหนักอาหารที่จะทดสอบประมาณ 100 กรัม คัดเลือกอาหารที่มีขนาดเล็กเดียวกันใส่จานแก้ว นำไปอบที่ 80-100 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็นในโถสุญญากาศ

การหาความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ

1. ชั่งอาหารที่อบและทิ้งไว้ให้เย็นแล้วมา 5.0 กรัม (W_o) ใส่ในตะกร้าขนาด 5x5x5 ซม. ขนาดช่องตา 0.2x0.2 ซม. จำนวน 4 ตะกร้า แล้วนำไปแขวนในถังกลมความจุ 2 ลูกบาศก์เมตร ให้อากาศตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างครั้งละ 1 ตะกร้า ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ ศึกษาลักษณะภายนอกด้วยสายตาบันทึกความพองตัวของเม็ดอาหารทดลองหักเม็ดอาหารเพื่อดูสภาพภายใน
2. นำอาหารที่เหลือในตะกร้าไปอบที่ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถสุญญากาศ นำมาชั่งน้ำหนัก (W_t) คำนวณหาน้ำหนักที่หายไปหรือเปอร์เซ็นต์สูญเสีย

โดยคำนวณจาก

$$\text{ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ (\%)} = (W_t/W_o) \times 100$$

W_t = น้ำหนักอาหารที่เหลือหลังจากอบแห้งแล้ว (กรัม)

W_o = น้ำหนักอาหารแห้งเริ่มต้น (กรัม)

วิธีนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hasting (1971), Balazs (1973), Lovell (1975)

3. การวิเคราะห์ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินและโปรตีนในเลือดปลานิล

การวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลิน เอ็ม คัดแปลงจากวิธีการของ Siwicki et al. (1994)

อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) เป็นโปรตีนในน้ำเลือดที่มีคุณสมบัติในการทำละลายเชื้อโรค 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 แล้วคือค่า total immunoglobulin

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer
2. Automatic pipette
3. หลอดทดลอง ขนาด 10 ml

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

ซึ่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ มา 0.015 g ละลายในน้ำกลั่น deionized sterilized 3 ml

1% NaKtartrate 1 ส่วน

ซึ่ง NaKtartrate มา 0.03 g ละลายในน้ำกลั่น deionized sterilized 3 ml

1% NaCO_3 ใน 0.5 NaOH 50 ส่วน

ต้มน้ำกลั่น deionized sterilized 100 ml แล้ววางทิ้งไว้ให้เย็นสนิท แล้วใส่ NaOH จำนวน 2 g เมื่อละลายแล้วจึงเติม NaCO_3 ลงไป 1 g ปั่นหรือคนให้ละลายจนหมด ผสมสารทั้งสามตามสัดส่วน

4. 12 % polyethylene glycol (PEG)

ละลาย 12 g PEG ในน้ำกลั่น 100 ml (ปริมาตรที่เตรียมขึ้นกับจำนวนตัวอย่าง)

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การทำ standard curve

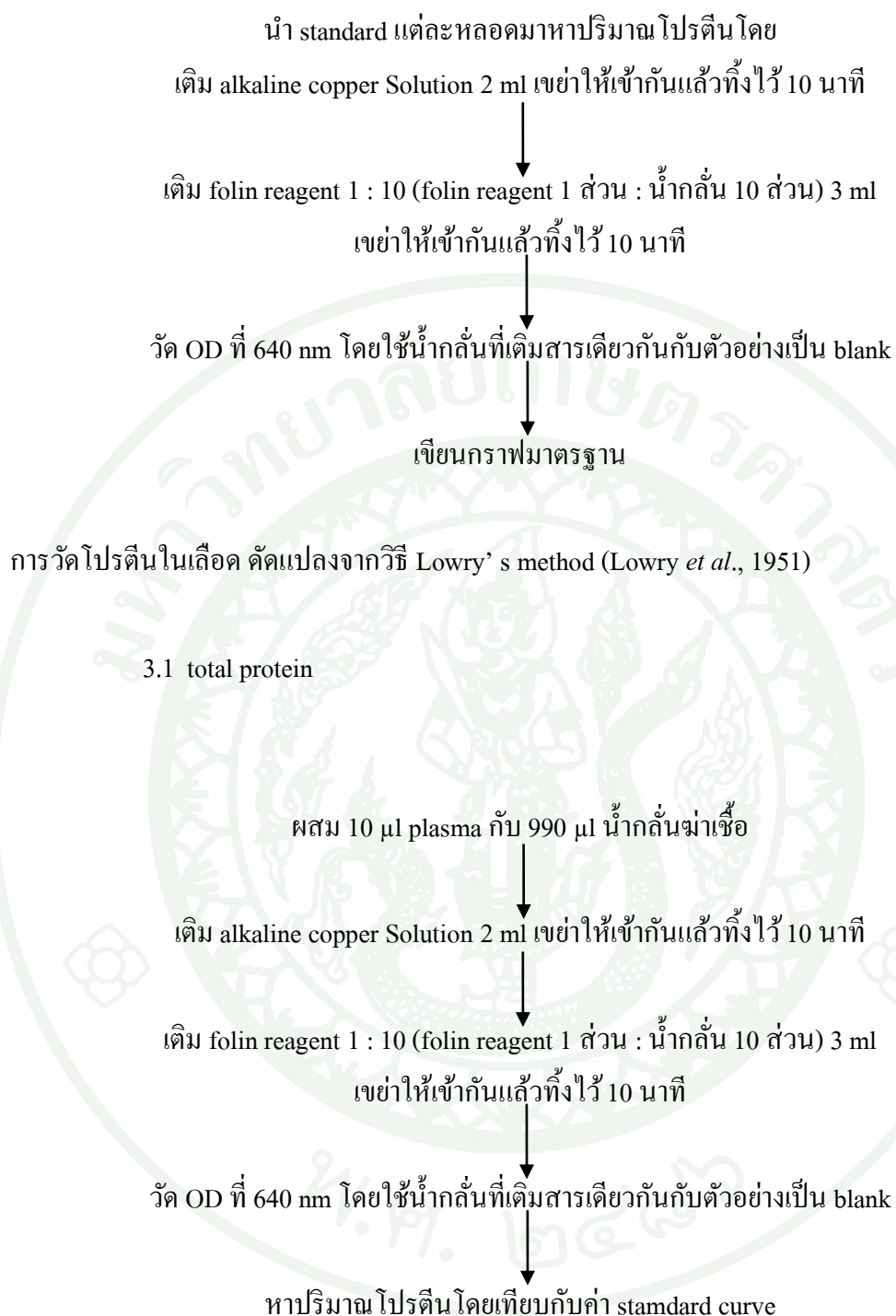
เตรียม stock ของ standard albumin (BSA) ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$

(ผสม 0.01 g albumin ในน้ำกลั่น 10 ml)

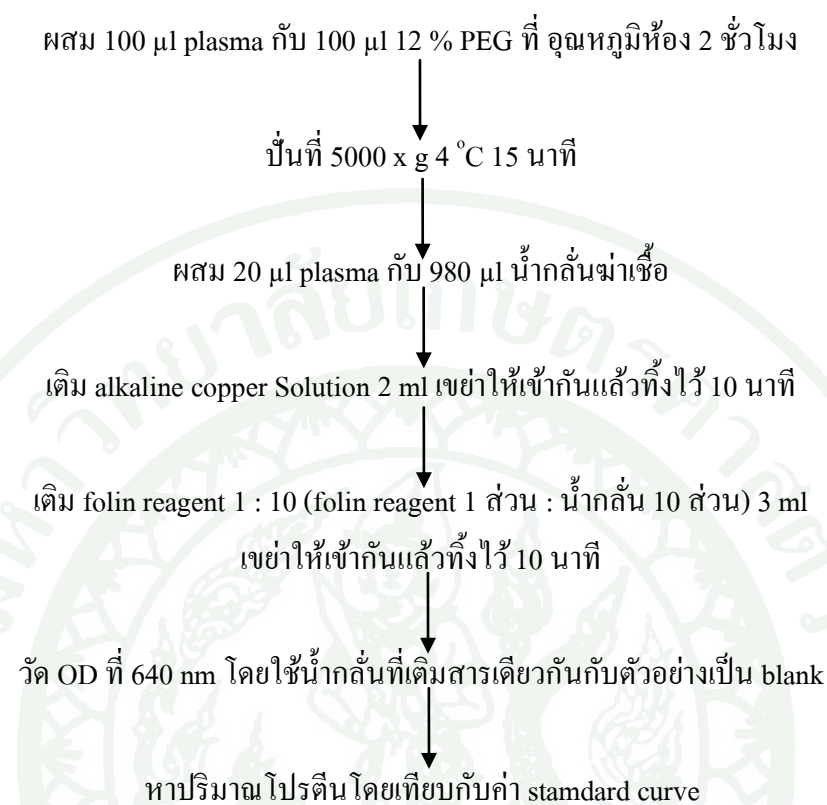


ปรับความเข้มข้น stock ให้ได้ดังตาราง

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



3.2 non-immunoglobulin



3.3 calculation

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

4. การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนในตับ ตามวิธีการของ (Johann and Lentini, 1971)

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

8.1 อุปกรณ์และวิธีการ

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

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

8.1.3 คัดส่วนใสมา 200 – 1000 ไมโครลิตร แล้วเติม TCA 1 มิลลิลิตร และ 95% ethanol 5 มิลลิลิตร

8.1.4 นำไปอบใน oven ที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง

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

8.1.6 นำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายรัช ตันกุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	17 มกราคม 2528
สถานที่เกิด	อำเภอภูพานยาว จังหวัดพะเยา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนผู้ช่วยสอนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2553)