



## ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาคุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.)

The Digestive Enzymatic Activity, Apparent Digestibility Coefficients and Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)

นามผู้วิจัย นางสาวรุ่งกานต์ กล้าหาญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

( รองศาสตราจารย์นันทวิทย์ อารีรักษ์, Ph.D. )

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรืองวิทย์ ยืนพันธ์, D.Tech.Sc. )

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณี อิงคากุล, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริม  
เอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.)

The Digestive Enzymatic Activity, Apparent Digestibility Coefficients and Effect of Enzyme  
Supplement on Feed Utilization in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)

โดย

นางสาวรุ่งกานต์ กล้าหาญ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2552

รุ่งกานต์ กล้าหาญ 2552: กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.) ปริญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์นันทวิทย์ อารีชชน, Ph.D. 148 หน้า

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ได้แก่ เอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลานิลเพศผู้ขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม รวมถึงการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ของวัตถุดิบแหล่งโปรตีน ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง และกากเมล็ดทานตะวัน แหล่งคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้งข้าวเจ้า แป้งมันสำปะหลัง และแป้งข้าวโพด และแหล่งไขมัน ได้แก่ น้ำมันปลา และน้ำมันพืช ของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ ของปลาทั้งสามขนาด และการศึกษาการเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารปลานิลที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vivo* และ การเจริญเติบโต พบว่าปลาขนาดเล็ก (5.7 กรัม) และขนาดกลาง (35.8 กรัม) มีกิจกรรมของเอนไซม์ protease และ lipase สูงกว่าปลาขนาดใหญ่ (92.1 กรัม) และในทางตรงกันข้ามกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลาขนาดใหญ่จะมีค่าสูงกว่า ปลาขนาดกลางมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากปลาป่นสูงสุด และปลานิลขนาดใหญ่สามารถย่อยโปรตีนจากกากเมล็ดทานตะวันได้ดีที่สุด ส่วนปลาขนาดเล็กมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนทุกชนิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งของปลานิลขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ในวัตถุดิบแหล่งแป้งแต่ละชนิด สำหรับปลาขนาด 35.8 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งจากแป้งมันสำปะหลังสูงที่สุด ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันของปลานิลขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงในน้ำมันพืช (น้ำมันปาล์ม) สำหรับปลาขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันสูงสุดในน้ำมันปลา การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารนี้ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่การเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U ในอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับมีผลช่วยให้การเจริญเติบโตของปลาเป็นปกติเมื่อเทียบกับปลาชุดควบคุม และช่วยให้การใช้ประโยชน์จากอาหาร โดยเฉพาะโปรตีนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองครั้งนี้สรุปว่าสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ขนาด 29 กรัมขึ้นไปคือสูตรอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ และเสริมด้วยเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U ซึ่งมีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี และไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่มีส่วนผสมของปลาป่นในระดับปกติ ( $P > 0.05$ ) แต่มีต้นทุนค่าอาหารที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

Rungkan Klahan 2009: The Digestive Enzymatic Activity, Apparent Digestibility Coefficients and Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.).  
Doctor of Philosophy (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture.  
Thesis Advisor: Associate Professor Nontawith Areechon, Ph.D. 148 pages.

Activity of protease, amylase and lipase from stomach, upper intestine, lower intestine and liver of 5.7, 35.8 and 92.1 g male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) were determined. *In vitro* protein, starch and lipid digestibility by digestive enzyme from intestine of three sizes of fish and the effect of replacement of fishmeal by soybean meal at 0, 50, 75 and 100 percents supplemented with protease (from *Bacillus* sp.) on *in vivo* digestibility and growth performance were studied. Small and medium fish appeared to have higher activity of protease and lipase than the large one while large fish had higher activity of amylase than the small and medium one. Protein digestibility in 35.8 and 92.1 g tilapia were highest in fish meal and sunflower meal respectively while there were no significant differences of digestibility among protein source in 5.7 g tilapia. Starch digestibility in 35.8 g fish was highest in tapioca flour but not significantly different ( $P>0.05$ ) in 5.7 and 92.1 g fish. Lipid digestibility of the 35.8 and 92.1 g fish were found to be in fish oil but 5.7 g fish was palm oil. The growth rate at the end of the experiment of fish fed with diet replacing fishmeal by soybean meal without 0.02 U protease were lower than the control group, however, fish fed with diet supplemented with 0.02 U protease had the similar growth rate as control group and similar trend was also observed for feed utilization especially for protein utilization. Fish fed with diet replacing fishmeal by soybean meal at 50 and 75 percents supplemented with 0.02 U protease had the highest protein digestibility. All levels of substitution of fishmeal by soybean meal with and without supplemented protease had no effect on survival rate.

The result indicated that the partial replacement of fishmeal by soybean meal at 75 percents supplemented with 0.02 U protease was appropriate for Nile tilapia feed because it yielded good growth rate which was not significantly different from control ( $P>0.05$ ) but with lower feed cost.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.นนทวิทย์ อารีย์ชน ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้ให้โอกาส ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย และการจัดทำแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรืองวิชญ์ ชื่นพันธ์ และ ผศ.ดร.อรุณี อิงกากุล กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ผศ.สพญ.ดร.ศิริวรรณ พราพงษ์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ การศึกษาทดลอง และการเขียนตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์สงศรี มหาสวัสดิ์ อาจารย์สุนทรภรณ์ ล้มสกุล คุณสุทิน สมบูรณ์ และศูนย์เทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำ และศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านอุปกรณ์วิเคราะห์ และห้องปฏิบัติการ ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา ที่ให้ทุนโครงการพัฒนาอาจารย์ สาขาประมง ประจำปีการศึกษา 2545 สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท – เอก เพื่อเป็นค่าใช้จ่ายในการดำเนินการทดลองครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ ที่ได้เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ รวมถึงน้องชาย คุณบัณฑิต ขวงสร้อย คุณจกฤษ สุบรรณ คุณณรงค์เดช แก้วรุ่งศรี คุณทักษิณ คชสิทธิ์ คุณกึ่งเทียน เรืองตนนอก และ ดร.ปิ่นสุรางค์ ศิวังษ์ รวมถึงเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งอีกหลายท่านที่มีได้กล่าวนามได้ทั้งหมดที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างการทำวิทยานิพนธ์

รุ่งกานต์ กล้าหาญ

เมษายน 2552

## สารบัญ

|                            | หน้า |
|----------------------------|------|
| สารบัญ                     | (1)  |
| สารบัญตาราง                | (2)  |
| สารบัญภาพ                  | (6)  |
| คำนำ                       | 1    |
| วัตถุประสงค์               | 3    |
| การตรวจเอกสาร              | 4    |
| อุปกรณ์และวิธีการ          | 36   |
| ผลและวิจารณ์               | 48   |
| สรุปและข้อเสนอแนะ          | 116  |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง       | 119  |
| ภาคผนวก                    | 138  |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 148  |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า                                                                                                                                                                                          |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1        | ความต้องการโปรตีนของปลานิลที่เลี้ยงในน้ำจืด 28                                                                                                                                                |
| 2        | ความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นในปลานิลขนาดเล็ก 29                                                                                                                                                 |
| 3        | ความต้องการวิตามินในปลานิลชนิดต่าง ๆ 32                                                                                                                                                       |
| 4        | ความต้องการแร่ธาตุบางชนิดของปลานิล 35                                                                                                                                                         |
| 5        | ส่วนประกอบของอาหารปลานิล ( <i>O. niloticus</i> ) ที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. 43                            |
| 6        | ส่วนประกอบของอาหารปลานิล ( <i>O. niloticus</i> ) ที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ แบบผสม เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U 44        |
| 7        | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม 50                                                                                                |
| 8        | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม 56                                                                                                 |
| 9        | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม 60                                                                                                  |
| 10       | ค่าทางเคมีของเลือดปลานิลที่ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม 62                                                                                                                                    |
| 11       | โปรตีนละลายน้ำ โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ และประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีน โดยเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม 69  |
| 12       | โปรตีนละลายน้ำ โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (เปอร์เซ็นต์) ของวัตถุดิบแหล่งโปรตีนโดยเอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้นต่างๆ 70 |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                                                              | หน้า |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 13       | ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต โดยเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม                                                         | 71   |
| 14       | ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (%) ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต โดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus licheniformis</i> ที่ความเข้มข้นต่างๆ                                            | 75   |
| 15       | ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน โดยเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม                                                                | 77   |
| 16       | ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ <i>in vitro</i> (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน โดยเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Thermomyces lanuginosus</i> ที่ความเข้มข้นต่างๆ                                         | 79   |
| 17       | การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 60 วัน                                                                                                                            | 81   |
| 18       | ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของอาหาร และประสิทธิภาพของโปรตีนของอาหารสูตรต่างๆ ที่ปลานิลได้รับที่ระยะเวลา 60 วัน                                                               | 86   |
| 19       | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ <i>in vivo</i> (เปอร์เซ็นต์) ในปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสม และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U | 91   |
| 20       | เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ <i>in vivo</i> (เปอร์เซ็นต์) ในอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสม และ ผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U                 | 92   |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ |                                                                                                                                                                                                                                | หน้า |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 21       | ค่าทางโลหิตวิทยาของปลานิลเมื่อเริ่มการทดลอง (0 วัน) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (60 วัน)                                                                                                                                           | 94   |
| 22       | ค่าทางเคมีของเลือด ของปลานิลเมื่อเริ่มการทดลอง (0 วัน) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (60 วัน)                                                                                                                                        | 96   |
| 23       | เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ                                                                                                                                                                                 | 100  |
| 24       | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักเปียก) ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ เมื่อเริ่มการทดลอง และสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน                                                                  | 101  |
| 25       | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่น ด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ                                                                                                                          | 104  |
| 26       | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7 | 107  |
| 27       | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7  | 110  |
| 28       | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7   | 112  |
| 29       | ราคาอาหาร และต้นทุนราคาอาหารเพื่อผลิตปลา 1 กิโลกรัม                                                                                                                                                                            | 115  |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่ |                                                                          | หน้า |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------|------|
| 1            | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ  | 139  |
| 2            | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ | 140  |
| 3            | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ | 141  |
| 4            | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่าง ๆ  | 142  |
| 5            | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ  | 143  |
| 6            | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ  | 144  |
| 7            | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ    | 145  |
| 8            | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ   | 146  |
| 9            | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และอวัยวะต่าง ๆ   | 147  |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                      | หน้า |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | ลักษณะภายนอกของปลานิล <i>O. niloticus</i> L.                                                                                                                                         | 4    |
| 2      | การตัดพันธะ peptide ของเอนไซม์ protease บริเวณส่วนปลายของโปรตีน โดยเอนไซม์ exopeptidase และการตัดพันธะ peptide ของเอนไซม์ protease บริเวณภายในโปรตีนของ เอนไซม์ endopeptidase        | 9    |
| 3      | การทำงานของเอนไซม์ pepsin และเอนไซม์ chymotrypsin                                                                                                                                    | 9    |
| 4      | การทำงาน และบริเวณที่ถูกตัดโดยเอนไซม์เอนไซม์ Aminopeptidase (A) และ เอนไซม์ Carboxypeptidase (B)                                                                                     | 10   |
| 5      | การย่อย triglyceride โดยเอนไซม์ lipase และผลผลิตที่ได้จากการย่อย                                                                                                                     | 11   |
| 6      | ลักษณะของอวัยวะบางส่วนในระบบย่อยอาหารในปลานิล                                                                                                                                        | 12   |
| 7      | ลักษณะกระเพาะเทียมของปลานิล                                                                                                                                                          | 13   |
| 8      | ลักษณะของลำไส้ปลานิล                                                                                                                                                                 | 14   |
| 9      | ลักษณะตับของปลานิล                                                                                                                                                                   | 14   |
| 10     | รูปแบบการทำงานของการทำงานของเอนไซม์แบบ intracellular digestion และ membrane linked digestion ของเอนไซม์ protease (A) และการทำงานของแบบ extracellular digestion ของเอนไซม์ lipase (B) | 17   |
| 11     | สมการแสดงการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยน้ำของเอนไซม์ protease                                                                                                                       | 18   |
| 12     | สูตรโครงสร้างโมเลกุล และการสังเคราะห์เอนไซม์ lipase                                                                                                                                  | 25   |
| 13     | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลขนาด 5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)                         | 49   |
| 14     | กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่พบสูงสุดในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม                                                                                              | 53   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                     | หน้า |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 15     | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากตับ<br>กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลขนาด<br>5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)    | 54   |
| 16     | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่พบสูงสุดในปลาขนาด 5.7, 35.8<br>และ 92.1 กรัม                                                                                           | 57   |
| 17     | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากตับ<br>กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลขนาด<br>5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)     | 59   |
| 18     | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่พบสูงสุดในปลาขนาด 5.7, 35.8<br>และ 92.1 กรัม                                                                                            | 61   |
| 19     | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบแหล่งโปรตีน<br>ของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่<br>ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม     | 66   |
| 20     | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรตของ<br>เอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่<br>ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม | 72   |
| 21     | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในวัตถุดิบแหล่งไขมันของเอนไซม์<br>ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่ปริมาณโปรตีน<br>ของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม       | 78   |
| 22     | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักเปียก) ที่ได้รับอาหาร<br>ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ                                                           | 102  |
| 23     | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับอาหาร<br>ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ                                                            | 105  |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                                                                                         | หน้า |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 24     | กิจกรรมของเอนไซม์ protease จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์และไม่ผสมเอนไซม์ protease เป็นระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) | 108  |
| 25     | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์และไม่ผสมเอนไซม์ protease เป็นระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)  | 111  |
| 26     | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์และไม่ผสมเอนไซม์ protease เป็นระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)   | 113  |

**กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร  
และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหาร  
ในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.)**

**The Digestive Enzymatic Activity, Apparent Digestibility  
Coefficients and Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in  
Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)**

**คำนำ**

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.) เป็นปลาน้ำจืดที่เจริญเติบโตเร็ว ทนต่อโรค สามารถสืบพันธุ์ได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาพถูกกักขัง และมีความทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีความผันแปรสูง มีการเลี้ยงปลานิลกันอย่างแพร่หลายในบริเวณเขตร้อนชื้น และ บริเวณเขตร้อน ซึ่งมีผลทำให้ปลานิลเป็นปลาที่มีการเลี้ยงกันมากเป็นลำดับที่สามของฟาร์มปลาในโลก ความนิยมในการเลี้ยงปลานิลมีเพิ่มขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากค่าผลผลิตที่เพิ่มขึ้น 11.5% ต่อปี (El – Sayed, 1999) และผลผลิตมวลรวมของปลานิลในโลกพบว่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1984 จนถึงปัจจุบัน รวมถึงประเทศไทยด้วย การเลี้ยงปลานิลเริ่มจากระบบ extensive และถูกแทนที่ด้วยระบบการเลี้ยงแบบ semi – intensive และพัฒนาเป็นระบบการเลี้ยงแบบ intensive เช่นในปัจจุบัน การเลี้ยงในบ่อดินที่ใช้อาหารจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียวเป็นรูปแบบของการเลี้ยงแบบระบบ extensive สำหรับการเลี้ยงระบบ semi – intensive จะมีการให้อาหารเพิ่มจากอาหารธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อ แต่จะเป็นอาหารจำพวกวัตถุดิบชนิดเดียว หรือเป็นเศษเหลือจากวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น รำละเอียด ข้าวโพด และเนื้อมะพร้าวตากแห้ง เป็นต้น แต่สำหรับการเลี้ยงระบบ intensive ซึ่งมีการปล่อยปลาอย่างหนาแน่น การใช้อาหารจากธรรมชาติเพียงอย่างเดียว หรือการใช้วัตถุดิบอาหารชนิดเดียวไม่เพียงพอต่อความต้องการ และการเจริญเติบโตของปลา ดังนั้นจึงมีการใช้อาหารผสมอัดเม็ดซึ่งมีคุณภาพสูงในการเลี้ยงเพื่อการเจริญเติบโตที่ดี และผลผลิตที่เพิ่มขึ้น (Webster and Lim, 2002) การเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่นมีผลให้อาหารที่ใช้ต้องมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิม รวมถึงประสิทธิภาพของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาเองด้วย ซึ่งได้แก่เอนไซม์ protease, lipase และ amylase เนื่องจากเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยอาหารมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารที่ปลาได้รับอย่างเต็มที่ ปลานิลเป็นปลาที่มีกระเพาะเทียม หรือกระเพาะคัดแปลง จะมีเอนไซม์ pepsin และเอนไซม์ที่

ทำงานที่ pH ต่ำ น้อย (Moyle and Cech, 2000) อาจทำให้การย่อยโปรตีนของเอนไซม์ pepsin มีประสิทธิภาพลดลง และอาจส่งผลต่อการย่อยโปรตีนโดยรวมของปลานิลลดลงด้วย สำหรับเอนไซม์ amylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์ carbohydrase ทำหน้าที่ในการย่อยคาร์โบไฮเดรตซึ่งปลาสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้น้อยมาก การศึกษาเกี่ยวกับความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปลามีค่อนข้างน้อย ในปลานิลมีรายงานเพียงการใช้ประโยชน์จากแป้งสูงกว่าการใช้ประโยชน์จากกลูโคส (Shiau and Lin, 1993) จากข้อมูลดังกล่าวเห็นได้ว่า การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารที่ปลาได้รับยังไม่เต็มที่ รวมถึงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ protease และ amylase ยังมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าข้อมูลของกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ซึ่งได้แก่ protease, lipase และ amylase รวมถึงประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาจึงเป็นสิ่งจำเป็น และสำคัญเพื่อการพัฒนาความสามารถในการทำงาน และการย่อยอาหารของเอนไซม์ในปลานิลได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงเป็นการเพิ่มศักยภาพในการผลิตปลานิลที่เลี้ยงแบบ intensive และผลผลิตปลานิลที่เพิ่มขึ้นอย่างมีคุณภาพ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค้นคว้าเบื้องต้นของกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารซึ่งได้แก่ เอนไซม์ protease, lipase และ amylase เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และการย่อยวัตถุดิบต่างๆ เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาสูตรอาหารให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบที่มีราคาถูกกว่า และมีข้อจำกัดในการใช้ได้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตปลานิล และลดต้นทุนในการผลิตปลานิลด้วย

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, lipase และ amylase ในปลานิล ขนาดประมาณ 5, 30 และ 100 กรัม เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ในปลานิลที่อายุต่าง ๆ กัน
2. ศึกษา และเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยได้ของเอนไซม์ protease, lipase และ amylase ที่สกัดได้จากปลานิลขนาดประมาณ 5, 30 และ 100 กรัม ในการย่อยวัตถุดิบอาหาร
3. ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยอาหารของปลานิลโดยการเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เพื่อใช้ประโยชน์จากอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ และลดต้นทุนการผลิตได้มากขึ้น

### การตรวจเอกสาร

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.) เป็นปลาที่อยู่ในวงศ์ Cichlidae เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว กินอาหารที่มีอยู่ในธรรมชาติในบ่อ อยู่ได้ทั้งในน้ำจืด และน้ำกร่อย สามารถสืบพันธุ์วางไข่ได้เองในบ่อเลี้ยง จึงได้รับความนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในภาคพื้นเอเชีย มักพบในบริเวณแหล่งน้ำที่เป็นแหล่งน้ำเปิด เช่น ทะเลสาบ หรือแม่น้ำ แต่ปลานิลมีการปรับตัวให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในระบบแหล่งน้ำปิดเช่น บ่อเลี้ยงได้ (Webster and Lim, 2002)

ปลานิล มีลักษณะลำตัวแบนข้าง ลำตัวสีเขียวปนน้ำตาล มีริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน มีลายพาดขวาง 9-10 แถบ เห็นได้ชัด ครีบหลัง ครีบกัน และครีบหางมีจุดขาว และมีเส้นสีดำตัดขวาง (ภาพที่ 1) (ศักดิ์ชัย, 2536)



ภาพที่ 1 ลักษณะภายนอกของปลานิล *O. niloticus* L.

### ระบบการย่อยอาหารของปลานิล

ระบบการย่อยอาหารของปลาเริ่มต้นที่กระเพาะ แทนที่จะเป็นปาก เอนไซม์บางชนิดถูกหลั่งจากผนังทางเดินอาหาร สารอาหารที่ถูกย่อยจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดโดยกระบวนการ passive diffusion , active transport และ กระบวนการ pinocytosis ไปสู่ตับโดยเส้นเลือด portal vain สำหรับอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ประมาณ 10 – 20 % จะถูกขับถ่ายเป็นอุจจาระ กระบวนการย่อยอาหารในปลาโดยทั่วไปจะมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่ในปลานิลจะมีข้อแตกต่าง

ออกไป คือปลานิลมีกระเพาะแบบกระเพาะดัดแปลง ไม่เป็นกระเพาะแท้จริง และมีลำไส้ที่ยาว (Wedemeyer, 1996)

ระบบการย่อยอาหารของปลานิลในการเลี้ยงแบบ intensive สิ่งสำคัญคือปริมาณออกซิเจน เมื่อมีการย่อยอาหารออกซิเจนจะถูกใช้เพิ่มขึ้น 50% และการไหลเวียนของเลือดบริเวณลำไส้จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า (Wedemeyer, 1996)

### การย่อยอาหาร และการดูดซึม

การย่อยอาหารของปลาเป็นการทำให้อาหารแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยเอนไซม์ และการหลั่งกรดในส่วนของทางเดินอาหาร บริเวณ esophagus ประกอบด้วย mucus cell จำนวนมากซึ่งทำหน้าที่ในการหล่อลื่นของทางเดินบริเวณ buccal – pharyngeal cavity กับบริเวณ ทางเดินอาหารส่วนปลาย อาหารที่เข้าไปกระเพาะจะกระตุ้นให้กระเพาะหลั่งกรด HCl และเอนไซม์ pepsinogen ซึ่งเมื่อเจอกับกรดจะเปลี่ยนสภาพไปเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในสถานะที่ทำงานได้คือ เอนไซม์ pepsin ในปลาโดยทั่วไปแล้วโดยเฉพาะในปลาชนิด carnivorous จะมีกระเพาะแท้ แต่ในปลานิลอาจเทียบได้กับส่วนที่เป็นกระเพาะเทียม หรือกระเพาะดัดแปลง เนื่องจากปลานิลไม่มีกระเพาะที่แท้จริง (Moyle and Cech, 2000) ดังนั้นกระบวนการในขั้นตอนนี้จึงไม่มี หรือไม่สมบูรณ์ แต่ถ้าโปรตีนที่ถูกย่อยสลายบริเวณลำไส้ หรือส่วนที่เป็นกระเพาะเทียมหรือกระเพาะดัดแปลง โปรตีนจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ protease ที่เรียกว่าเอนไซม์ trypsin ซึ่งผลิตจากตับอ่อนที่อยู่รอบ ๆ mesenteric membrane ของลำไส้ และตับ (Moyle and Cech, 2000) ในบริเวณดังกล่าวนี้จะเป็นที่ย่อยโปรตีนให้ได้สาย polypeptide และวิตามิน แต่จะไม่พบการย่อยแป้ง และไขมันในบริเวณนี้ เมื่ออาหารผ่านจากจุดนี้จะเข้าไปสู่ส่วนของ pyloric sphincter หรือ pyloric ceca แล้วเข้าสู่ลำไส้ซึ่งภายในอวัยวะดังกล่าวทั้งหมดนี้มีสถานะเป็นค้าง ซึ่งเมื่ออาหารเข้าสู่บริเวณนี้จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำดี และเอนไซม์ protease ที่ทำงานในสถานะที่เป็นค้าง รวมถึงเอนไซม์ amylase และเอนไซม์ lipase ด้วย ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ผลิตมาจากตับอ่อน และตับ สารอาหารที่ได้จากการย่อยจะถูกดูดซึมเข้าสู่เส้นเลือด แล้วเดินทางเข้าสู่ตับ และอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ซึ่งมีประมาณ 10 – 20 % จะถูกขับออกเป็นมูล ในปลา salmonid สามารถดูดซึมสารอาหารได้ถึง 80 % ในสถานะที่อุณหภูมิ 5 C ในอาหารปลาจำพวก catfish มีระดับโปรตีนในอาหาร 35 – 40 % และ มีระดับคาร์โบไฮเดรต 12 % ความสามารถในการย่อยแป้งในปลามีค่าประมาณ 38 % และความสามารถในการย่อยโปรตีนของปลาจะมีค่าลดลงเมื่อวัตถุดิบมีคุณลักษณะที่ผิดปกติเช่นการย่อยโปรตีนในปลาป่นจะ

ลดลงเมื่อปลาป่นที่ได้ใหม่ (Wedemayer, 1996) การย่อยสลายอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต และไขมัน เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ carbohydrases และเอนไซม์ lipase ซึ่งตับอ่อนจะเป็นที่แรกที่ผลิต เอนไซม์กลุ่ม carbohydrases ซึ่งได้แก่เอนไซม์ amylase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง สำหรับเอนไซม์ lipase ถูกผลิตจาก intestinal mucosa และ pyloric caeca แต่บริเวณแรกที่ผลิตเอนไซม์ lipase ได้แก่ตับอ่อน

การมีอยู่และชนิดของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารมีความสัมพันธ์กับอาหารที่ปลาได้รับ ในปลาที่เป็น herbivorous และ omnivorous เป็นปลาที่ไม่มีกระเพาะ หรือมีกระเพาะเทียมเช่นในปลานิล จะมีเอนไซม์ pepsin และเอนไซม์ที่ทำงานที่ pH ต่ำน้อย เอนไซม์ amylase ในทางเดินอาหาร ของปลาจำพวก omnivorous ถูกพบบ่อยครั้งกว่าในปลาจำพวก carnivorous (Moyle and Cech, 2000) คุณค่าของสารอาหารในอาหารไม่ได้ขึ้นอยู่กับสารอาหารที่มีอยู่ในอาหารเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับปริมาณสูงสุดที่ปลาสามารถย่อย และดูดซึมได้

การประเมินความสามารถในการย่อยอาหาร และสารอาหาร อาจวัดค่าได้ 2 ลักษณะ คือ อัตราการย่อยอาหาร (digestion rate) และประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (digestion coefficient) อัตราการย่อยอาหารคือระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย และเคลื่อนย้ายอาหารในท่อทางเดินอาหาร ตั้งแต่ปากจนถึงท้องถ่าย ค่าการย่อยอาหารมีวิธีการประเมินหลายวิธี แต่เนื่องจากค่านี้บอกให้ทราบว่าอาหารถูกย่อยเร็ว หรือช้าเท่านั้น ซึ่งไม่ค่อยมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้มากนัก ค่าประสิทธิภาพการย่อยอาหารเป็นค่าของการวัดความสามารถในการย่อยอาหาร หรือสารอาหารของสัตว์น้ำว่าสามารถย่อยได้มากน้อยเพียงใด (เวียง, 2543)

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารมี 2 แบบ คือ Apparent digestibility coefficient (ADC) และ True digestibility coefficient (TDC) ประสิทธิภาพการย่อยแบบ ADC ขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีรวิทยาของปลา และอัตราการกินอาหารของปลา รวมถึงสัดส่วนของสารอาหารที่ปลาเก็บไว้ หรือนำไปใช้ประโยชน์ ส่วนประสิทธิภาพการย่อยแบบ TDC ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักปัจจัยเดียว นั่นคือ ชนิดของอาหาร และปริมาณสูงสุดที่ร่างกายสามารถย่อยได้ นอกจากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารแล้ว ยังสามารถศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของสารอาหารได้อีกด้วย ด้วยหลักการเดียวกัน

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยอาหารแบบ TDC} = \left\{ \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน} - \text{ปริมาณมูล}}{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}} \right\} \times 100$$

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหารแบบ TDC} = \left\{ \frac{\text{สารอาหารในอาหารที่กิน} - \text{สารอาหารในมูล}}{\text{สารอาหารในอาหารที่กิน}} \right\} \times 100$$

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยอาหารแบบ ADC} = 100 - 100 \times \left\{ \frac{\% \text{ สารบ่งชี้ในอาหาร}}{\% \text{ สารบ่งชี้ในมูล}} \right\}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหารแบบ ADC} = 100 - 100 \times \left\{ \frac{\% \text{ สารบ่งชี้ในอาหาร} \times \% \text{ สารอาหารในมูล}}{\% \text{ สารบ่งชี้ในมูล} \times \% \text{ สารอาหารในมูล}} \right\}$$

อัตราการกินอาหารที่เข้าจะมีผลกระทบทางลบอย่างมากต่อประสิทธิภาพการย่อยแบบ TDC และสำหรับประสิทธิภาพการย่อยแบบ ADC จะมีค่าผิดพลาดประมาณ 2 – 3% สำหรับการวัดประสิทธิภาพการย่อยของอาหาร และจะมีค่าผิดพลาดประมาณ 4 – 5% สำหรับการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยของวัตถุดิบ

ประสิทธิภาพในการย่อยอาหารไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่กินเข้าไป นอกจากนี้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารเช่น โปรตีน และแป้งของปลามีความสัมพันธ์ในทางกลับกันกับปริมาณโปรตีน และแป้งที่กินเข้าไป ซึ่งพบได้จากการศึกษาในปลาเทราท์ และปลา African catfish สำหรับในปลานิลนั้นแนวโน้มในการย่อยได้ของโปรตีนจะมีค่าสูง ตรงกันข้ามกับการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตที่มีค่าต่ำกว่า (Guillaume *et al.*, 2001)

กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร และปริมาณของน้ำย่อยมีความสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหาร แต่ขนาดของอาหารในแต่ละมื้อไม่มีผลต่อการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยอาหาร แต่อัตราการย่อยอาหารจะลดลงเมื่ออาหารในแต่ละมื้อเพิ่มขึ้น

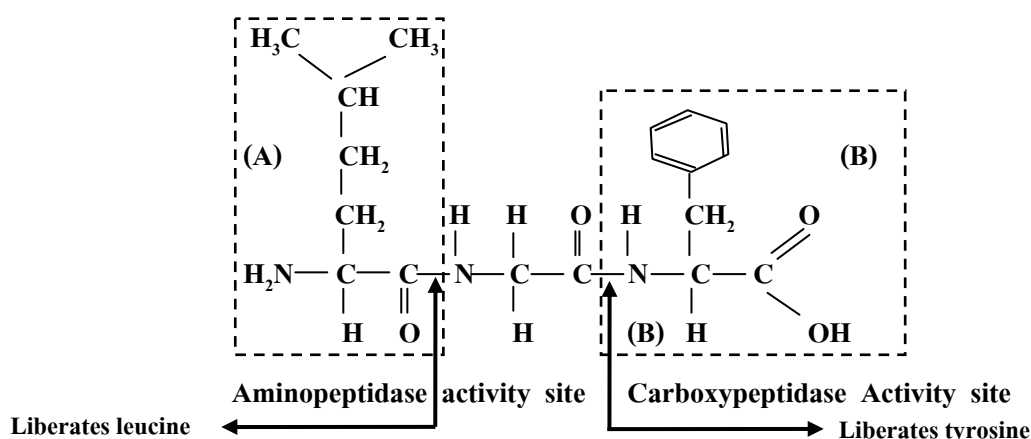
ความสมดุลของสารอาหารในอาหารที่ดีมีคุณภาพจะต้องถูกย่อย และนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประสิทธิภาพการย่อยของอาหารขึ้นอยู่กับลักษณะ และชนิดของวัตถุดิบ ประสิทธิภาพการย่อยของอาหารแสดงออกในลักษณะเป็นเปอร์เซ็นต์ของอาหารที่กินเข้าไปทั้งหมด ปลาป่นมีประสิทธิภาพการย่อยได้ประมาณ 90% ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากพืชชนิดต่างๆ มีค่าแตกต่างกันออกไป (De Silva and Anderson, 1995)

### การย่อยได้ของโปรตีน

การย่อยโปรตีนเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ proteolytic enzyme หรือเอนไซม์ protease ซึ่งได้แก่เอนไซม์ pepsin, trypsin และ chymotrypsin เป็นต้น เอนไซม์นี้จะทำการย่อยโปรตีนโดยการตัดพันธะ peptide ของโปรตีน ซึ่งเอนไซม์ protease ที่ต่างชนิดกัน ก็จะทำหน้าที่ในการตัดพันธะ peptide ที่ตำแหน่งแตกต่างกัน ซึ่งการทำงาน หรือการตัดพันธะ peptide ของเอนไซม์ exopeptidase ทำการตัดพันธะ peptide บริเวณส่วนปลายของโปรตีน สำหรับเอนไซม์ endopeptidase ทำการตัดพันธะ peptide บริเวณภายในโปรตีน แสดงดังภาพที่ 2 เอนไซม์ endopeptidase มีความจำเพาะในการทำงานเป็นอย่างมาก และจะทำงานภายในโมเลกุลของโปรตีนเพียงอย่างเดียว ซึ่งพันธะ peptide ที่ถูกย่อย หรือถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ endopeptidase แล้วจะมีความทนทานต่อการถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ชนิดอื่นอีก การทำงานของเอนไซม์ pepsin จะตัดพันธะ peptide บริเวณด้านที่เป็นกรดอะมิโน ส่วนเอนไซม์ chymotrypsin จะตัดพันธะ peptide ด้านที่เป็นหมู่คาร์บอกซิล และเอนไซม์ trypsin จะตัดพันธะระหว่างกรดอะมิโน arginine และ lysine ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้เป็นเอนไซม์ protease ที่มีความสำคัญในการย่อยโปรตีนในปลา (De Silva and Anderson, 1995)



ปลาที่ไม่มีกระเพาะ หรือมีกระเพาะเทียม การทำงานของเอนไซม์ protease ซึ่งได้แก่เอนไซม์ pepsin จะถูกแทนที่โดยการทำงานของเอนไซม์ trypsin ซึ่งสามารถทำงานได้ดีในสถานะที่เป็นด่าง การทำงานของเอนไซม์ protease ขึ้นอยู่กับอาหารที่ปลาได้รับด้วย



ภาพที่ 4 การทำงาน และบริเวณที่ถูกตัดโดยเอนไซม์ Aminopeptidase (A) และเอนไซม์ Carboxypeptidase (B)

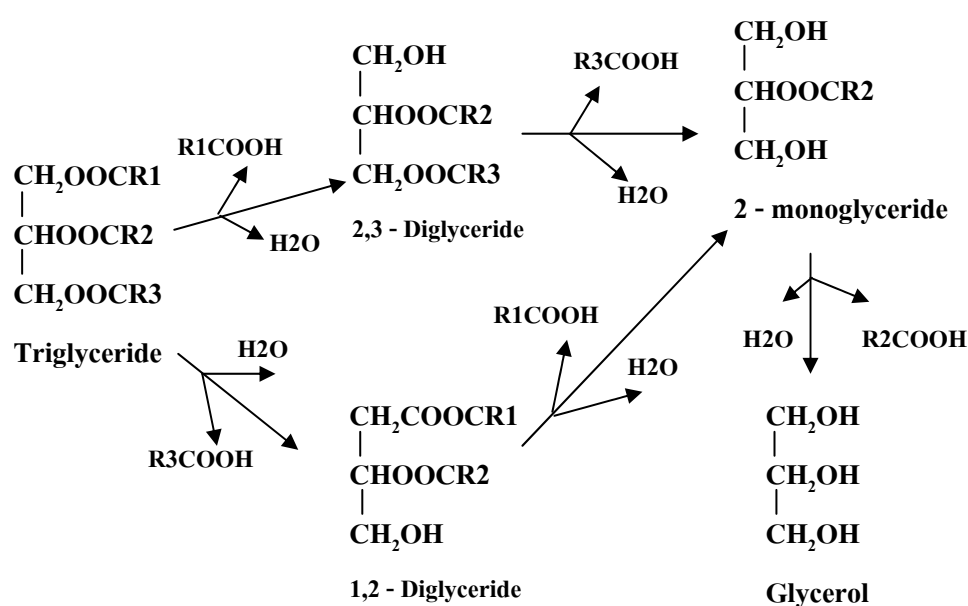
#### การย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรต

การย่อยคาร์โบไฮเดรตเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ carbohydrase ซึ่งทำงานในกระเพาะ และในลำไส้โดยร่วมกับการทำงานของน้ำดี แต่แหล่งผลิตของเอนไซม์ carbohydrase ที่สำคัญคือ ตับอ่อน การทำงานของเอนไซม์ carbohydrase ทำงานโดยการ hydrolyse หรือย่อยแบ่ง ซึ่งเป็น starch หรือ glycogen ให้ได้เป็น oligosaccharide หรือ maltose โดยเอนไซม์ amylase หรือเป็นการย่อย disaccharide และ oligosaccharide ให้ได้เป็น monosaccharide ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ amylase หรือ carbohydrase นี้ ขึ้นอยู่กับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ปลาได้รับ เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ protease จะพบว่าการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของอาหารที่ปลาได้รับ

#### การย่อยได้ของไขมัน

การย่อยไขมันนั้นนับเป็นอวัยวะที่สำคัญที่สุด ทั้งนี้เนื่องจาก การย่อยไขมันต้องมือน้ำดีเป็นตัวช่วยในการย่อย ซึ่งอวัยวะที่ผลิตน้ำดีคือ ตับ ตับเป็นแหล่งผลิตน้ำดี และส่งไปเก็บไว้ที่ถุงน้ำดี น้ำดี

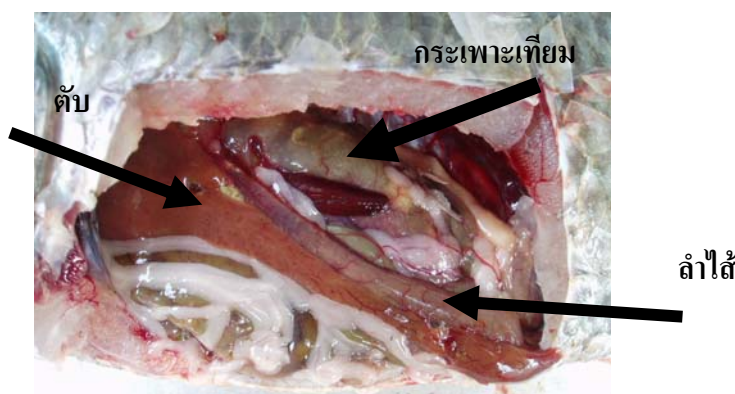
จะถูกหลั่งออกมาในขบวนการย่อยไขมันต่อเมื่อมีอาหารมาถึงส่วนของลำไส้ สำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยไขมันได้แก่เอนไซม์ในกลุ่ม lipolytic enzyme หรือเอนไซม์ lipase เอนไซม์ lipase จะพบในตับอ่อน pyloric ceca และ ลำไส้ส่วนต้น เอนไซม์ lipase จะทำงานในส่วนของลำไส้เท่านั้น การย่อยของไขมันแตกต่างจากโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากความจำเพาะของเอนไซม์ lipase และ substrate มีค่าค่อนข้างน้อย และเอนไซม์ lipase สามารถย่อยไขมัน หรือ organic ester ได้หลาย ๆ ชนิด ในการย่อยไขมันผลผลิตสุดท้ายของการย่อย triglyceride จะได้ กรดไขมันสามโมเลกุล และกลีเซอรอลหนึ่งโมเลกุลดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การย่อย triglyceride โดยเอนไซม์ lipase และผลผลิตที่ได้จากการย่อย

### อวัยวะในระบบย่อยอาหาร

อวัยวะในระบบย่อยอาหารได้แก่ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และส่วนปลาย และ pyloric ceca นอกจากนี้การย่อยอาหารแล้วยังมีอวัยวะทำหน้าที่ช่วยในการทำงานของการย่อยอาหารด้วย ได้แก่ ตับอ่อน ถุงน้ำดี และ ตับ (Halver and Hardy, 2002) ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ลักษณะของอวัยวะบางส่วนในระบบย่อยอาหารในปลานิล

#### กระเพาะ (Stomach)

ลักษณะของกระเพาะปลานิลเป็นรูปแบบ Y – shape ดังแสดงในภาพที่ 7 ภายในกระเพาะแบ่งเนื้อเยื่อเป็น 4 ชั้นได้แก่ ชั้น mucosa, submucosa, muscularis และ serosa กระเพาะจะมีต่อมที่เรียกว่า gastric gland เกิดจากบริเวณที่เป็นหลุมบริเวณภายในกระเพาะ ซึ่ง gastric gland นี้จะอยู่ลึกเข้าไปถึงชั้น mucosa และเป็นบริเวณที่มีการหลั่งกรด และเอนไซม์ออกมาจาก oxyntic cell หรือ oxynticopeptic cell ในสัตว์เลือดอุ่น gastric gland จะมีเซลล์สองรูปแบบได้แก่ oxyntic cell ซึ่งทำหน้าที่ผลิตกรด และ chief cell ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์ในกระเพาะ แต่ในปลาส่วนใหญ่แล้วจะพบเซลล์ชนิดเดียวได้แก่ oxynticopeptic cell ซึ่งทำหน้าที่ในการผลิตทั้งกรด และเอนไซม์ (Halver and Hardy, 2002)



ภาพที่ 7 ลักษณะกระเพาะเทียมของปลานิล

กระเพาะมีหน้าที่ในกระบวนการย่อยอาหารที่ปลาได้รับให้เป็นชิ้นเล็ก จากนั้น gastric gland จะหลั่ง gastric juice มาย่อยโครงสร้างของของสารอาหาร gastric juice ประกอบด้วย acidic digestive enzyme และ ฮอร์โมน ซึ่งการทำงานของ gastric juice จะมีประสิทธิภาพที่ความเป็นกรด ค่า 2.5

### ลำไส้ (Intestine)

ลำไส้ของปลานิลแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ลำไส้ส่วนบน หรือ ลำไส้ส่วนต้น (upper intestine) ซึ่งมักเรียกว่า ascending intestine , ileum หรือ ทางเดินอาหารส่วนกลาง ลำไส้ส่วนอื่นคือลำไส้ส่วนล่าง หรือลำไส้ส่วนปลาย (lower intestine) ซึ่งมักเรียกว่า descending intestine , rectum หรือ ทางเดินอาหารส่วนปลาย ดังแสดงในภาพที่ 8 ลำไส้ส่วนบน จะมีรูปร่างเพรียวยาวกว่าลำไส้ส่วนล่าง ความแตกต่างของลำไส้ส่วนบน และ ลำไส้ส่วนล่าง คือ Goblet cell ซึ่งจะพบเซลล์นี้ในลำไส้ส่วนล่าง มากกว่าในลำไส้ส่วนบน และกล้ามเนื้อบริเวณลำไส้ส่วนล่าง หนากว่าลำไส้ส่วนบน (Halver and Hardy, 2002) ลำไส้เป็นอวัยวะในกระบวนการย่อยอาหารที่ต่อเนื่องมาจากกระเพาะ ลำไส้บริเวณ mucosa ประกอบด้วย mucus cell และ endocrine cell โดย mucus cell จะทำหน้าที่ในการหลั่ง mucus และ เอนไซม์ในกระบวนการย่อยอาหาร ส่วน endocrine cell จะทำหน้าที่ในการหลั่งฮอร์โมนที่เกี่ยวกับการควบคุมการย่อยอาหาร



ภาพที่ 8 ลักษณะของลำไส้ปลานิล

#### ตับอ่อน (Pancreas)

ตำแหน่งของ ตับอ่อน ในปลาแต่ละชนิดอยู่ที่บริเวณต่างกัน และส่วนที่เป็นตับอ่อน nodules จะกระจายอยู่ในบริเวณ เยื่อหุ้มรอบ ๆ ท่อน้ำดี และ ตับ ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งเป็นลักษณะของตับปลานิล, ฤๅษี, pyloric ceca และ ลำไส้ ตับอ่อน มี 2 ชนิด คือ ชนิดที่เป็น exocrine และ endocrine ซึ่ง ตับอ่อน ที่เป็น exocrine จะทำหน้าที่ในการหลั่ง เอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร และไบคาร์บอเนต และท่อของตับอ่อน จะต่อเข้ากับ ลำไส้ หรือ cecal lumen สำหรับตับอ่อนที่เป็น endocrine สารที่หลั่งออกมาจะไม่เดินทางไปตามท่อ แต่จะมีการเตรียมเพื่อรวมเป็นกลุ่มของ glandular cell ที่เรียกว่า Brockman bodies หรือ Islets of Langerhans



ภาพที่ 9 ลักษณะตับของปลานิล

### ถุงน้ำดี (Gall bladder)

ในปลาส่วนใหญ่ แต่ไม่ใช่ปลาทั้งหมดที่มีถุงน้ำดี ลักษณะของถุงน้ำดี จะเป็นหลุม แอ่ง หรือเป็นโพรง ที่มีรูปทรงของอวัยวะเป็นทรงกลม ตั้งอยู่ติดกับตับ และใกล้กับลำไส้ส่วนหน้า ติดต่อกับลำไส้โดยท่อน้ำดี หน้าที่ของถุงน้ำดี คือสะสมน้ำดี จากนั้นจะหลั่งไปยังลำไส้ เมื่ออาหารเดินทางจากกระเพาะมาถึงลำไส้ การทำงานของถุงน้ำดีคืออยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมน และระบบประสาท (Aldman and Holmgren, 1995) น้ำดีถูกสร้าง และถูกนำมาใช้ใหม่โดยตับ ถุงน้ำดีทำหน้าที่เป็นจุดปลายทางที่รับสารที่เดินทางมาจากตับโดย hepatic duct และผ่านไปสู่ cystic duct ซึ่งบริเวณนี้จะเป็นทางผ่านของสารไปสู่ถุงน้ำดี

ถุงน้ำดี ทำหน้าที่ในการสะสม bile salt ซึ่งผลิตมาจากตับ โดยผ่าน ท่อน้ำดีมาสู่ ถุงน้ำดี ซึ่ง bile salt ประกอบด้วยสารจำพวก taurocholate , taurochenodeoxycholate, cholic acid และ allcholic acid (Halver and Hardy, 2002) จะทำหน้าที่ในการสลายไขมันจำพวก cholesterol และ steroid ในระบบทางเดินอาหารจะช่วยในกระบวนการย่อยสลายไขมันให้เป็นหยดเล็ก หรือทำให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นร่างกายจึงดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ โดยทั่วไป 60 – 95% ของ bile salt จะถูกดูดซึมกลับในบริเวณลำไส้ และถูกนำกลับมาใช้ใหม่ที่ตับ (Teshima *et al.*, 1978)

### กระบวนการการย่อยอาหาร

กระบวนการในการย่อยอาหารประกอบไปด้วยกระบวนการทางด้าน กายภาพ เคมี และ กิจกรรมของเอนไซม์ โดยเริ่มตั้งแต่ปลาได้รับอาหารผ่านเข้าไปทางปาก จนกระทั่งขับถ่ายออกมาเป็นอุจจาระ การย่อยอาหารโดยใช้กระบวนการทางกายภาพได้แก่การทำให้แตกตัว การทำให้มีขนาดเล็กลง จนกระทั่งถึงการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน กระบวนการทางเคมีได้แก่การหลั่งกรดจากกระเพาะมาช่วยในกระบวนการ hydrolyze และทำให้เกิดการแตกตัวของสารประกอบ ในขั้นต่อมาจะเป็นขั้นตอนการทำงานของกระบวนการทางเอนไซม์ ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงในการทำให้สารอาหารแต่ละชนิดแตกตัวออกมา ซึ่งได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต กระบวนการทางเอนไซม์ จะเป็นตัวกลางในการนำสารอาหารที่ได้จาก lumen ไปยัง brush border แล้วนำไปสู่ enterocyte โดยวิธีการ active และ passive สารอาหารทั้งหมดเหล่านี้ได้แก่ โปรตีน สายของกรดอะมิโน กรดอะมิโน ไขมัน ทุกชนิด คาร์โบไฮเดรต วิตามิน สารสี และแร่ธาตุต่าง ๆ (Halver and Hardy, 2002)

### กระบวนการย่อยอาหารทางกายภาพ (Physical Process)

กระบวนการย่อยอาหารทางด้านกายภาพเริ่มตั้งแต่ในปากซึ่งอาหารจะถูกบดให้เป็นชิ้นขนาดเล็กโดยฟัน buccal pad และ gill rakers จากนั้นอาหารเหล่านี้จะถูกนำไปสู่กระเพาะ และ ลำไส้ กล้ามเนื้อในอวัยวะนี้จะทำการบีบรัดให้อาหารผสมกับกรด และ น้ำย่อย ได้ดีขึ้น กล้ามเนื้อที่แข็งแรงของ gizzard จะช่วยในการทำให้อาหารแตก ย่อยเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยเฉพาะในส่วนที่เป็น โคลิน ฟนังเซลล์ หรือส่วนที่ย่อยได้ยาก

### กระบวนการย่อยอาหารทางเคมี (Chemical Process)

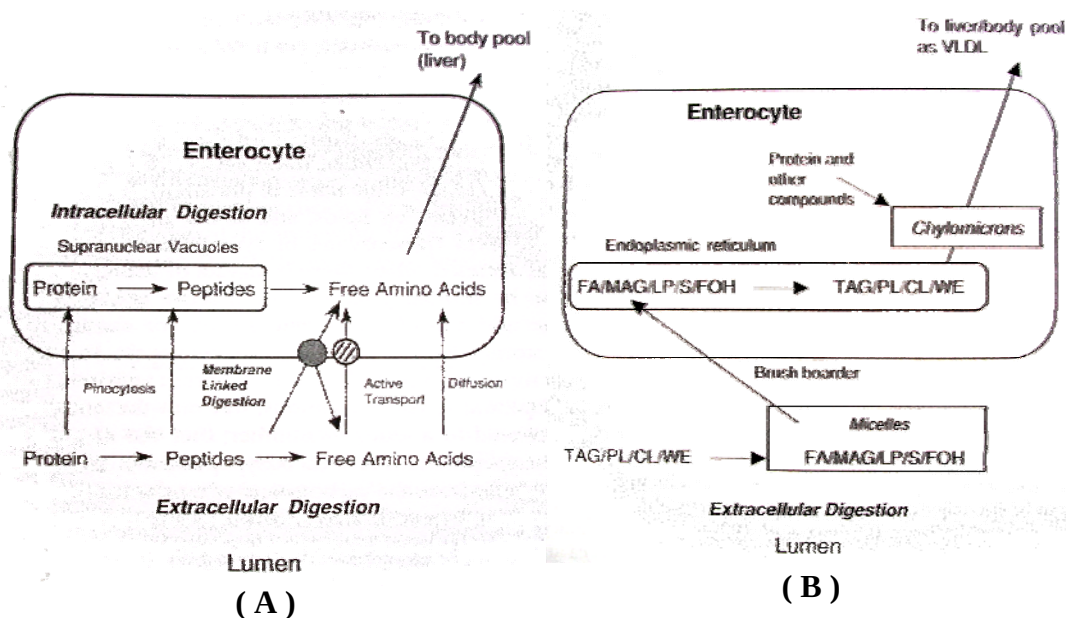
ปลาที่มีกระเพาะอย่างแท้จริง กรดไฮโดรคลอริกจะหลั่งมาจาก oxynticopeptic cell ซึ่งเซลล์นี้ทำหน้าที่ในการผลิตทั้งกรด และ สาร pepsinogen กรดที่หลั่งออกมาเดินทางผ่านท่อไปยัง lumen เมื่ออาหารมาถึง ซึ่งการหลั่งกรดนี้อยู่ภายใต้การควบคุมของระบบฮอร์โมน และ ระบบประสาท กรดที่หลั่งออกมาถูกใช้ในการย่อยสลายโปรตีน และ คาร์โบไฮเดรต ทำให้โครงสร้างถูกย่อยสลาย นอกจากนี้ยังเป็นตัว emulsifies ไขมัน และมีส่วนช่วยในการทำงานของเอนไซม์ให้สามารถย่อยสลายอาหารให้ได้สารอาหารออกมา สำหรับเอนไซม์ที่มีกิจกรรมในสถานะที่เป็นกรด ได้แก่ pepsin และ gastric lipase เป็นต้น

เมื่อการย่อยจากกระเพาะเสร็จสิ้น กระบวนการย่อยอาหารจะเริ่มมีการหลั่งสารไบคาร์บอเนต ซึ่งผลิตจาก Acinar cell ในบริเวณ exocrine pancreatic tissue การหลั่งนี้จะเดินทางผ่านท่อไปยังถุงน้ำดี และ ลำไส้โดยตรง หรือเดินทางไปยัง cecal lumen สารไบคาร์บอเนตเป็นสารที่เพิ่ม pH ในกระบวนการย่อยอาหารในส่วนของลำไส้ มีผลช่วยในการทำงานของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารบริเวณลำไส้ให้ทำงานได้ดีขึ้น นอกจากนี้สารนี้ยังมีส่วนในการช่วยปกป้อง brush border จากการทำลายของกรดไฮโดรคลอริกที่อยู่ในกระเพาะด้วย (Halver and Hardy, 2002)

### กระบวนการย่อยอาหารโดยเอนไซม์ (Enzymatic process)

เอนไซม์มีหน้าที่ในการย่อยสลายสารอาหารจากอาหารให้แตกตัวเป็นสารประกอบที่สามารถดูดซึมผ่าน brush border ของ enterocyte ได้ การย่อยอาหารในปลา เกิดได้เพียงรูปแบบ

เดี่ยว หรือเกิดขึ้นหลายรูปแบบได้ เช่น extracellular หรือ luminal digestion , membrane – linked digestion และ intracellular digestion แต่ส่วนใหญ่การย่อยอาหารจะเป็นแบบ extracellular digestion ในส่วนของ lumen การย่อยแบบ intracellular digestion มีน้อยมาก เอนไซม์จะถูกผลิตและเก็บสะสมไว้ในเซลล์ในรูปที่ยังไม่สามารถทำงานได้ (proenzyme หรือ zymogens) เอนไซม์จะเริ่มทำงานได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม เช่นเมื่อมีการหลั่งกรดหรือน้ำย่อย หรือเมื่อมีการหลั่งเอนไซม์อื่นออกมาซึ่งต้องมีการทำงานร่วมกัน สำหรับการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิดเช่น ความเหมาะสมกับ substrate, pH และ บริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 รูปแบบการทำงานของกรย่อยอาหารของเอนไซม์แบบ intracellular digestion และ membrane linked digestion ของเอนไซม์ protease (A) และการทำงานแบบ extracellular digestion ของเอนไซม์ lipase (B) TAG = Triacylglycerol; PL = Phospholipid; CL = Cholesterol; WE = Wax esters; FA = Fatty acid; MAG = Monoacylglycerol; LP = Lysophospholipid; S = Sterol; FOH = Fatty alcohol; VLDL = Very low density lipoprotein

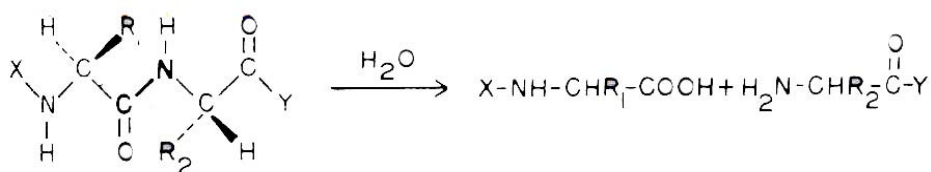
ที่มา: Halver and Hardy (2002)

### ของเหลว และเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร

ของเหลว และเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารหลังจากกระเพาะ ดับอ่อน และลำไส้ ซึ่งสารเหล่านี้ประกอบด้วยน้ำดี กรดไฮโดรคลอริก ไบคาร์บอเนต เอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น pepsin, amylase, chitinase, protease และ lipase เป็นต้น

#### เอนไซม์ Protease

เอนไซม์ protease มีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ peptidase, protease, proteinase, peptide hydrolase และ proteolytic enzyme เอนไซม์ protease เป็นเอนไซม์ประเภทไฮโดรเลส เร่งปฏิกิริยาการย่อย substrate ด้วยน้ำ เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนที่พันธะ peptide ดังสมการต่อไปนี้



ภาพที่ 11 สมการแสดงการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยน้ำของเอนไซม์ protease

ที่มา: ปรานี (2547)

เอนไซม์ protease แบ่งเป็น 4 ประเภท คือ

1. Serine proteases
2. Sulfhydryl proteases
3. Metal – containing proteases
4. Acid proteases

เอนไซม์ protease ที่มีความสำคัญในการย่อยอาหารได้แก่ เอนไซม์ pepsin เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากกระเพาะอาหาร เพื่อย่อยอาหารโปรตีน trypsin และ chymotrypsin เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อน แล้วส่งมาที่ลำไส้เล็กเพื่อย่อยอาหารโปรตีน (สุนีย์, 2543)

เมื่อโปรตีนถูกย่อยสลายเป็นสายกรดอะมิโนโดยเอนไซม์ proteases เอนไซม์ peptidase จะเข้ามาทำหน้าที่ในการย่อยสายกรดอะมิโน ได้เป็น กรดอะมิโนอิสระ การย่อยนี้เกิดจากการทำงานแบบ extracellular และ membrane – linked จากนั้นกรดอะมิโนอิสระเหล่านี้จะถูกดูดซึม เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนมีหลายชั้น ดังนั้นจึงต้องมีเอนไซม์ proteases และ peptidase ที่มีความจำเพาะกับโครงสร้างของโปรตีนจำนวนมากเพื่อการย่อยโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ เอนไซม์ protease ชนิด endoprotease เป็นเอนไซม์ที่ตัดตรงกลางของสายโซ่ peptide สำหรับเอนไซม์ exopeptidase เป็นเอนไซม์ที่ทำงานบริเวณปลายสายโซ่ peptide เช่น เอนไซม์ aminopeptidase เป็น exopeptidase ที่ตัดกรดอะมิโนจากปลายสายโซ่ peptide เอนไซม์ protease สามารถแบ่งกลุ่มได้จากค่า pH ที่ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด ซึ่งได้แก่ สภาวะกรด และ สภาวะเป็นกลาง ถ้าแบ่งจากเนื้อเยื่อที่ผลิตเอนไซม์สามารถแบ่งได้เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากกระเพาะ ดับอ่อน และ mucosal นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งได้จากรูปแบบการทำงานของเอนไซม์ได้เช่น intracellular , membrane linked และ extracellular การทำงานของเอนไซม์แบบ extracellular และ membrane – linked จะช่วยย่อยโปรตีนให้แตกตัวได้เป็นกรดอะมิโน และสาย peptide ซึ่งสามารถดูดซึมผ่านไปยัง brush border ในส่วนของ enterocytes การทำงานของเอนไซม์แบบ membrane – linked ทำงานทั้งการตัดสาย peptide และการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ ผ่านไปยัง brush border เอนไซม์ protease มีส่วนสำคัญในการกระตุ้น zymogen ของเอนไซม์ย่อยอาหารจำนวนมากให้อยู่ในรูปที่พร้อมทำงาน เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่เอนไซม์จำพวก pancreatic enzyme เช่นเอนไซม์ trypsin ซึ่งเป็นเอนไซม์กระตุ้นให้เอนไซม์ชนิดอื่น ๆ อยู่ในรูปที่ทำงานได้ เช่น chymotrypsin, elastase, collagenase และ lipase

การศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกลุ่มปลาน้ำจืดที่มีรายงานไว้ ศึกษาเกี่ยวกับลักษณะเฉพาะของเอนไซม์ การผลิตและการหลั่งเอนไซม์ การแยกบริสุทธิ์ รวมถึงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ protease ดังการศึกษาต่อไปนี้

จากการศึกษาลักษณะเฉพาะและการแยกบริสุทธิ์ของเอนไซม์ acid protease จากอวัยวะภายในของปลา Bolti fish (*Tilapia nilotica*) ของ El – Beltagy *et al.* (2004) โดยปลาที่ใช้ในการทดลองเป็นปลาน้ำจืด จากการศึกษาพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ acid protease มีค่าสูงสุดเมื่อมีการทำให้บริสุทธิ์ และน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์นี้มีค่าเท่ากับ 31.0 kDa. สำหรับอุณหภูมิ และ pH ที่ดีที่สุดที่ทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมสูงที่สุดอยู่ที่ 35 C และ pH เท่ากับ 2 acid protease มีความคงทน หรือมีความเสถียรที่ pH 2 – 6 ค่า Michaelis – Menten constant และ ค่าความเร็ว

ปฏิกิริยาสูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.77 mM และ 2.22 mM/min ตามลำดับในขณะที่ค่า catalysis efficiency ( $V_{max}/K_m$ ) มีค่าเท่ากับ 2.88

การศึกษาการพัฒนาของ gastric pepsin และ pancreatic serine protease ในปลา *Oreochromis mossambica* วัยอ่อน ศึกษาโดยใช้วิธีการ RT – PCR – Southern blot วัดปริมาณที่แน่นอนของโปรตีน และคาดคะเนกิจกรรมของเอนไซม์ การศึกษานี้ทดลองในปลาหลังจากฟักออกจากไข่ได้ 3 และ 5 วัน จากการศึกษาด้วยวิธีดังกล่าวพบว่า mRNA ที่ควบคุมการสังเคราะห์ pepsinogen จะปรากฏในปลาหลังจากฟักออกจากไข่ได้ 2 วัน ในขณะที่ mRNAs ที่ควบคุมการสังเคราะห์ trypsinogen และ chymotrypsinogen จะถูกพบพร้อมกันหลังจากฟักออกจากไข่ได้ 1 วัน (Lo and Weng, 2006)

พัฒนาการของเอนไซม์ในลำไส้ของปลานิลวัยอ่อนที่ได้จากการเลี้ยง ทำการศึกษาโดยวิธี histochemistry จากการศึกษพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ส่วนใหญ่ซึ่งได้แก่ maltase, leucine, aminopeptidase, dipeptidyl aminopeptidase IV และ alkaline phosphatase จะพบในโครงสร้างที่เรียกว่า brush border บริเวณผนังลำไส้ แต่สำหรับเอนไซม์ non – specific esterase จะพบในส่วน of cytoplasm ของ epithelial cells ของลำไส้ เอนไซม์ดังกล่าวทั้งหมดจะทำงานบริเวณ brush border หลังจากฟักออกจากไข่ทันที สำหรับเอนไซม์ lipase เป็นเอนไซม์ชนิดเดียวที่เริ่มทำงานเมื่อฟักออกจากไข่ได้ 3 วัน (Tengjaroenkul *et al.*, 2002)

จากการศึกษาการกระจายตัวของกิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ปลานิลขนาดใหญ่ที่ได้จากการเลี้ยง โดยวิธีการเดียวกับการศึกษาในขั้นต้น คือ วิธี histochemistry ตัวอย่างลำไส้ที่ใช้ในการศึกษาแบ่งลำไส้ออกเป็น 5 ส่วน สำหรับเอนไซม์ที่ทำการศึกษาได้แก่ maltase, leucine, aminopeptidase, dipeptidyl aminopeptidase IV, alkaline phosphatase และ non – specific esterase จากการศึกษพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ maltase มีค่าสูงในลำไส้ส่วนที่ 3 ในขณะที่เอนไซม์ aminopeptidase และ เอนไซม์ alkaline phosphatase ถูกพบในสามส่วนแรกของลำไส้ กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ถูกพบมากบริเวณสองส่วนแรกของลำไส้ ในขณะที่เอนไซม์ non – specific esterase ถูกพบในส่วนแรกของลำไส้ กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดนี้จะแสดงออกบริเวณ brush border และจากการศึกษานี้พบว่าในบริเวณสี่ส่วนแรกของลำไส้เป็นบริเวณสำคัญในระบบการย่อย และดูดซึมอาหาร (Tengjaroenkul *et al.*, 2000)

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในบริเวณ brush border ในลำไส้พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นในบริเวณนี้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาในส่วนของความสัมพันธ์ของกิจกรรมของเอนไซม์ในบริเวณ brush border ในลำไส้ กับการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ระดับโปรตีน 30 และ 40% ซึ่งการทดลองครั้งนี้ศึกษาในปลานิลระยะเล็ก พันธุ์ผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่าง *O. mossambicus* X *O. aureus* ซึ่งเป็นรุ่น F1 และพันธุ์ผสมระหว่าง F1 x F1 เป็นรุ่น F2 ซึ่งปลานิลในรุ่น F1 มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าในรุ่น F2 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าผลรวมของพันธุกรรม และชนิดของอาหารไม่มีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ของปลา แต่พบว่าชนิดของอาหารที่ระดับโปรตีนสูงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ของปลาในทุกพันธุกรรมมีค่าสูงขึ้น เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ทั้งส่วนหน้า และส่วนหลังพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ maltase ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนสูง มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงทั้งในลำไส้ส่วนหน้า และส่วนหลัง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับโปรตีนต่ำ กิจกรรมของเอนไซม์  $\gamma$  - glutamyl transpeptidase ( $\gamma$  - GT) พบในส่วนหน้าของลำไส้ และกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวในปลาที่ได้รับอาหารโปรตีนต่ำมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารโปรตีนสูง สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase มีค่าสูงในลำไส้ส่วนหน้า เมื่อศึกษาปัจจัยทางด้านพันธุกรรมพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ maltase,  $\gamma$  - glutamyl transpeptidase ( $\gamma$  - GT) และเอนไซม์ alkaline phosphatase มีค่าสูงในปลารุ่น F2 ที่ได้รับอาหารโปรตีนสูง แต่สำหรับเอนไซม์ leucine amino peptidase เป็นเอนไซม์ชนิดเดียวที่ผลกระทบจากพันธุกรรมและอาหารไม่มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์แตกต่างกัน รวมทั้งความแตกต่างของตำแหน่งของลำไส้ด้วย (Yaniv *et al.*, 2006)

### เอนไซม์ carbohydrases

การย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยกระบวนการ hydrolysis เกิดขึ้นในกระเพาะ ลำไส้ และ ceca ลักษณะการย่อยในลำไส้ส่วนหน้า และใน ceca เป็นแบบ membrane – linked hydrolysis โดยการทำงานของเอนไซม์ carbohydrases ผลผลิตที่ได้จากการย่อยนี้คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งเป็นสารที่ง่ายสำหรับในสัตว์เลือดอุ่นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเดินทางผ่าน lumen ของลำไส้โดยกระบวนการ active transport ไปยัง brush border แต่ลักษณะการทำงานดังกล่าวยังไม่พบแน่ชัดในปลา

แป้ง น้ำตาลโมเลกุลคู่ และ cellulose เป็นคาร์โบไฮเดรตพื้นฐานที่พบในพืช ในขณะที่ไคตินเป็นคาร์โบไฮเดรตพื้นฐานของสัตว์จำพวก invertebrates ในสัตว์จะเก็บสะสมน้ำตาลในรูปของไกลโคเจน ความสามารถในการย่อย และการใช้ประโยชน์ได้ของคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด ซึ่งความแตกต่างของการย่อยนี้คล้ายกับความแตกต่างของจำนวน และชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่พบในสัตว์แต่ละชนิด ในกรณีปลาพบว่าแป้งที่ได้รับการทำให้สุกแล้ว และสารจำพวกน้ำตาลโมเลกุลคู่เช่น dextrin เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ปลาสามารถย่อยได้ดี (Halver and Hardy, 2002) เอนไซม์ amylase เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม carbohydrases ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในการย่อยสารอาหารจำพวกแป้งในสัตว์น้ำ เอนไซม์ amylase มี 3 ชนิด คือ  $\alpha$  - amylase ,  $\beta$  - amylase และ  $\gamma$ - amylase (Glucoamylase)

เอนไซม์  $\alpha$  - amylase มีชื่อสามัญว่า diastase พบในตับอ่อน เป็นเอนไซม์ประเภท hydrolase เร่งปฏิกิริยาการย่อย substrate ด้วยน้ำเช่นเดียวกับเอนไซม์ protease แต่เอนไซม์  $\alpha$  - amylase เป็นเอนไซม์ที่เร่งการย่อยสลายพันธะ glycosidic ของคาร์โบไฮเดรตที่  $\alpha$  - 1,4 ในลักษณะตัดภายในสายโพลีเมอร์อย่างอิสระ (ปราณี, 2547) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยแป้ง และไกลโคเจนให้เป็น maltose (สุนิย์, 2543) เอนไซม์ชนิดนี้มีมวลโมเลกุลประมาณ 50,000 มี  $\text{Ca}^{++}$  1 ไอออน ต่อเอนไซม์ 1 โมเลกุล จะถูกกระตุ้นด้วยฮาโลเจนอิดรอน เช่น  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{F}^-$ , มีค่า pK ของหมู่ที่แตกอิดรอนได้ในบริเวณแรงอยู่ที่ 6.5 – 8.0 ซึ่งหมู่ที่ว่านี้ คือ หมู่ imidazole (ปราณี, 2547)

การศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ amylase มีการศึกษาทั้งในปลาและในกุ้ง มีการศึกษาหลายด้าน เช่น การศึกษาเกี่ยวกับการย่อยได้ของแป้ง การแยกชนิดของเอนไซม์ การศึกษาโครงสร้างของเอนไซม์

การศึกษาเอนไซม์  $\alpha$  - amylase ในปลา *Oreochromis niloticus* และ *Sarotherodon melanotheron* ขนาด 50 กรัม เกี่ยวกับโครงสร้าง รวมถึงสารอื่นที่เป็นตัว inhibitor ของเอนไซม์นี้พบว่าเอนไซม์  $\alpha$  - amylase ในปลาทั้ง 2 ชนิด มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 56,600 และ 55,500 ตามลำดับ และเอนไซม์  $\alpha$  - amylase ในปลาทั้งสองชนิดนี้มีรูปแบบของเอนไซม์สองรูปแบบ คือ A กับ B เช่นเดียวกัน โดยค่า pI ที่พบมีค่าเท่ากับ 7.2 ในรูปแบบ A และ 7.8 ในรูปแบบ B สำหรับปลา *Sarotherodon melanotheron* มีค่า pI เท่ากับ 8.3 ในรูปแบบ A และ 8.8 ในรูปแบบ B และเอนไซม์ในรูปแบบ B สามารถเปลี่ยนไปเป็นเอนไซม์ในรูปแบบ A ได้ สำหรับสารที่เป็น inhibitor พบว่าเป็นสารชนิด  $\beta$  - และ  $\gamma$  - cyclodextrin ซึ่งมีความสามารถในการเป็น inhibitor ที่รุนแรง แต่สาร

$\alpha$  - cyclodextrin เป็นสารที่มีความสามารถในการเป็น inhibitor ที่ไม่รุนแรง และจากการทดลองพบว่า  $\alpha$  - amylase ในปลาทั้งสองชนิดนี้สามารถย่อยแป้งในอาหารได้ (Moreau *et al.*, 2001)

สำหรับการศึกษเกี่ยวกับเอนไซม์ amylase ในกุ้งเป็นการศึกษาในเรื่องการย่อยได้ของแป้ง ซึ่งเป็นการศึกษาการย่อยได้แบบ *in vivo* และ *in vitro* ใช้แหล่งของแป้งจาก 8 แหล่ง ได้แก่ แป้งข้าวโพดแบบธรรมชาติ และแบบที่ gelatinization แล้ว แป้งข้าวโพดชนิดที่เรียกว่า waxy corn แบบธรรมชาติ และแบบที่ gelatinization แล้ว แป้งข้าวโพดชนิดมี cellulose สูง แป้งมันฝรั่ง แบบธรรมชาติ และแบบ gelatinization แล้ว และแป้งข้าวสาลีแบบธรรมชาติ ทดลองในกุ้ง *Penaeus vannamei* ขนาด 18 – 25 กรัม การทดลองแบบ *in vivo* ใช้สาร chromix oxide เป็นสารบ่งชี้การย่อยได้ สำหรับการทดลองการย่อยได้แบบ *in vitro* ใช้เอนไซม์ที่สกัดได้จาก digestive gland ของกุ้งเป็นตัวย่อย การวัดการย่อยได้แบบ *in vitro* จะประเมินจากค่า initial rate of hydrolysis (IRH) ของแป้งที่ใช้เป็น substrate เป็น น้ำตาล ซึ่งจากการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vivo* มีความสัมพันธ์กับการศึกษาการย่อยได้แบบ *in vitro* จากการทดลองพบว่าค่า IRH มีค่าอยู่ที่  $17 - 89.10^{-4} \mu\text{g}/\text{min}/\mu\text{g}$  โดยแป้งที่ถูกย่อยได้น้อยที่สุดคือ แป้งข้าวโพดชนิดมี cellulose สูง และแป้งที่ถูกย่อยได้มากที่สุดคือ ได้แก่ แป้งข้าวโพดแบบที่ gelatinization แล้ว (Cousin *et al.*, 1996)

### เอนไซม์ Lipase

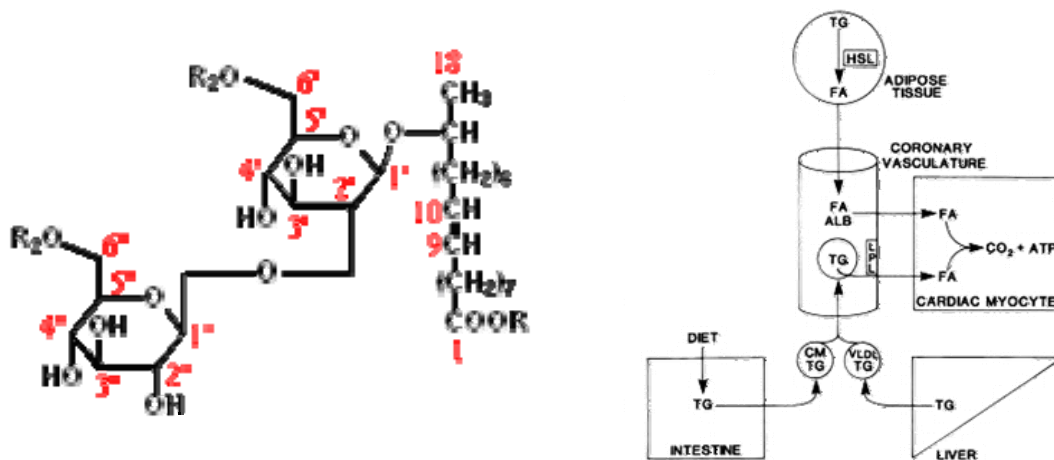
สำหรับรูปแบบการย่อยของไขมัน เป็นแบบ extracellular hydrolysis ซึ่งเกิดขึ้นในกระเพาะ ลำไส้ และ cecal lumen โดยเอนไซม์ lipase และ colipase แต่การย่อยไขมันจะไม่พบในรูปแบบ membrane – linked ในปลาบางชนิดจะมีการย่อยไขมันโดยกระบวนการ hydrolysis ในกระเพาะโดยเอนไซม์ gastric lipase (Gisbert *et al.*, 1999) แต่ในปลาส่วนใหญ่บริเวณแรกที่เกิดกระบวนการ hydrolysis ของไขมัน จะเกิดใน pyloric ceca และ ลำไส้ส่วนหน้า เมื่อไขมันถูกย่อยแล้วจะได้สายของกรดไขมันสายสั้น (2 – 10 carbons) และ glycerol ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกดูดซึมโดยตรงไปสู่ brush border ของ enterocyte สำหรับกรดไขมันสายยาว (12 carbons และ มากกว่า 12 carbons) จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ lipase และถูก emulsify โดยน้ำดี

เอนไซม์ lipase ก็เป็นเช่นเดียวกับเอนไซม์ protease ซึ่งเอนไซม์แต่ละชื่อ จะมีความเฉพาะกับ substrate เช่น เอนไซม์ triglycerol lipase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย triglycerides และได้กรดไขมัน เอนไซม์ phospholipase ย่อย phospholipids และได้ผลผลิตเป็นกรดไขมัน ไขมันสำคัญที่พบใน

อาหารปลาได้แก่ triacylglycerol , wax , ester , cholesterol / cholesterol ester และ phospholipids ซึ่งไขมันเหล่านี้จะถูกย่อยด้วยกระบวนการ hydrolysis ได้ผลเป็นกรดไขมันอิสระ ไขมันจำพวก triacylglycerol และ phospholipids เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ lipase แล้วจะได้ผลผลิตเป็น glycerol และ 2 – monoacylglycerol ส่วนไขมันจำพวก wax ester sterol เมื่อถูกย่อยแล้วจะได้ผลผลิตเป็น fatty alcohols ไขมันจำพวก cholesterol เมื่อถูกย่อยแล้วจะได้ผลผลิตเป็น sterol และไขมันจำพวก phospholipids เมื่อถูกย่อยแล้วจะได้ผลผลิตเป็น lysophospholipid สารประกอบเหล่านี้จะถูกดูดซึมไปยัง brush border , ลำไส้ส่วนหน้า และส่วนกลาง รวมถึงบริเวณ cecum (Halver and Hardy, 2002)

เอนไซม์ lipase เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มเอนไซม์ esterase เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย พันธะเอสเทอร์ เอนไซม์ lipase เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อน ทำหน้าที่ย่อยไขมันให้เป็นกรดไขมัน และกลีเซอรอล เอนไซม์นี้พบบ้างในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (สุนีย์, 2543)

สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ lipase มีการศึกษาไว้ในปลาหลายชนิดอย่างเช่น การศึกษาในปลา cod (*Gadus morhua*) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดเอนไซม์จาก pyloric caeca ซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์นำมาทำให้บริสุทธิ์ และศึกษาเกี่ยวกับการย่อยได้ของเอนไซม์ lipase กับ triglyceride จากการศึกษาพบว่าเมื่อเอนไซม์ lipase ทำปฏิกิริยากับ olive oil ซึ่งเป็น substrate จะใช้น้ำดีเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการ hydrolysis แต่เมื่อใช้ tributyrine เป็น substrate พบว่าการใช้น้ำดีในกระบวนการ hydrolysis มีค่าลดลง ตำแหน่งที่เอนไซม์ lipase ทำงานได้แก่ตำแหน่งที่ 1, 3 – specific ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เอนไซม์เกิดกระบวนการ hydrolysis และได้ผลผลิตออกมาเป็น free fatty acid และ 2 – monoglyceride (Dag *et al.*, 1989)



ภาพที่ 12 สูตรโครงสร้างโมเลกุล และการสังเคราะห์เอนไซม์ lipase

ที่มา: Semeniuk *et al.* (2003)

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลุ่ม lipogenic enzyme ที่มีความสัมพันธ์เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโภชนาการในปลานิลโดยการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ lipogenic enzyme ในตับปลา โดยทดลองให้ปลาได้รับอาหารที่ระดับไขมัน 1.75 , 5 , 10.8 และ 20% สำหรับไนโตรเจน และพลังงานมีค่าใกล้เคียงกันในแต่ละสูตรอาหารทดลอง ในการทดลองครั้งนี้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ATP citrate lyase และ malic enzyme ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม lipogenic enzyme โดยเปรียบเทียบกับค่า  $\delta^{13}\text{C}$  จากไขมันในตับปลา พบว่า ค่า  $\delta^{13}\text{C}$  ในไขมันในตับปลาและกิจกรรมของเอนไซม์ในตับสองชนิดนี้มีค่าสัมพันธ์กัน โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่ม lipogenic enzyme ดังกล่าว มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อโภชนาในอาหารที่ปลาได้รับซึ่งได้แก่ไขมันมีค่าเพิ่มขึ้นโดยเทียบจากค่า  $\delta^{13}\text{C}$  ที่ได้จากไขมันในตับปลา (Gaye *et al.*, 2005)

นอกจากการศึกษาเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐาน และคุณสมบัติต่างๆของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารดังกล่าวแล้ว ยังมีการศึกษาถึงการเสริมเอนไซม์ในอาหาร หรือการใช้เอนไซม์ทำการย่อยวัตถุดิบล่วงหน้า ก่อนทำการผสมในอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย การเจริญเติบโต รวมถึงลดปริมาณมูล หรือความเร็วในการจมของมูลปลาเพื่อลดมลภาวะในการเลี้ยงในบ่อ ดังเช่นการทดลองของ Ogunkoya *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตอาหารโดยมีส่วนประกอบของกากถั่วเหลืองที่แตกต่างกัน ที่ระดับ 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ และมีการผสมเอนไซม์ที่มีชื่อเรียกว่า superenzyme CS ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ xylanase, amylase, cellulose, protease และ  $\beta$  - glucanase ที่ความ

เข้มข้น 1 และ 2.5 g/kg ซึ่งเป็นการผสมในอาหารแบบ top – coat สำหรับปลา rainbow trout ขนาด 5 – 110 กรัม เพื่อลดของเสียในส่วนของอาหารที่ปลาไม่สามารถย่อยได้ เป็นการลดของเสียในบ่อเลี้ยงปลา ซึ่งทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า การเสริมเอนไซม์ superenzyme CS ในอาหารปลา rainbow trout ขนาดดังกล่าว ที่ผสมกากถั่วเหลืองที่ระดับแตกต่างกัน ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา และมีผลเพียงเล็กน้อยต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารที่เพิ่มขึ้น แต่จากการเสริมเอนไซม์ในอาหารนี้มีผลต่อลักษณะทางกายภาพของมูลปลา ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของความเร็วในการจมน้ำของมูลปลา และปริมาณของเสีย หรือมูลปลา มีปริมาณลดลง มีผลให้คุณภาพน้ำดีขึ้น

Tibaldi *et al.* (2006) ทำการศึกษาทดแทนปลาป่นบางส่วนด้วยกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ในทางเดินอาหารซึ่งศึกษาจากลำไส้ ของปลา European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) ขนาดประมาณ 187 กรัม การทดลองนี้ใช้อาหารทดลอง 5 ชนิด คือ อาหารที่ใช้ปลาป่นล้วน อาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่ระดับการทดแทน 25 % อาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันจากเครื่องสกัด ที่ระดับทดแทน 50 % อาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่ทำการย่อยล่วงหน้าด้วยเอนไซม์ H – 310 ที่ระดับการทดแทน 50 % และอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองที่ทำการย่อยล่วงหน้าด้วยเอนไซม์ ผสมกับกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่ระดับการทดแทน 60 % ในสูตรอาหาร ซึ่งจากการทดลองพบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารชุดใช้ปลาป่นล้วน และอาหารมีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่ระดับการทดแทน 25 % และอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ทำการย่อยล่วงหน้าด้วยเอนไซม์ ที่ระดับการทดแทน 50 % มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และสารอาหารทุกชนิดได้สูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น นอกจากนี้ปลาในกลุ่มดังกล่าวยังมีการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์จากอาหารสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ด้วย ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในทางเดินอาหารซึ่งศึกษาจากลำไส้ปลา พบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมปลาป่นล้วน และปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่ระดับการทดแทน 25 % มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase และเอนไซม์ maltase สูงที่สุด สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ leucine amino peptidase พบมีค่าสูงในปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมปลาป่นล้วน อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่ระดับการทดแทน 25% และได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ทำการย่อยล่วงหน้าด้วยเอนไซม์ที่ระดับการทดแทน 50% จากผล

การทดลองดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าการเสริมเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยกากถั่วเหลืองมีผลให้สามารถใช้สัดส่วนของกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารได้สูงขึ้น

### ความต้องการโภชนาของปลานิล

#### ความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโน

โปรตีนเป็นสารอาหารที่สำคัญ สำหรับโครงสร้าง และการทำงานของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด รวมถึงปลานิลด้วย โปรตีนถูกใช้ในการบำรุงรักษาร่างกาย การเจริญเติบโต ความต้องการโปรตีนที่แท้จริงของปลาไม่สามารถระบุได้ แต่สามารถระบุจุดสมดุลของกรดอะมิโนที่จำเป็น และไม่สามารถได้ การไม่ได้รับโปรตีน หรือได้รับอย่างไม่เพียงพอจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต การหยุดการเจริญเติบโตแบบชั่วคราว หรือหยุดการเจริญเติบโตอย่างถาวร ในทางตรงกันข้ามถ้าปลาได้รับโปรตีนที่มากเกินไปความต้องการโปรตีนส่วนหนึ่งจะถูกใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อ และส่วนที่เหลือจะถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงาน (NRC, 1983)

ระดับโปรตีนในอาหารของปลานิลขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของปลา ซึ่งระดับโปรตีนในอาหารมีค่าตั้งแต่ 28 - 50 % ดังตารางที่ 1 ในลูกปลาระยะเล็กน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม ระดับโปรตีนในอาหารอยู่ที่ 36 - 50 % ซึ่งโปรตีนที่ระดับนี้จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตสูงที่สุด สำหรับปลาน้ำหนักประมาณ 0.5 - 5 กรัม ระดับโปรตีนในอาหารอยู่ที่ 29 - 40% และในปลาน้ำหนัก 40 กรัม ขึ้นไประดับโปรตีนในอาหารควรอยู่ที่ 27.5 - 35 % (Webster and Lim, 2002)

**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                   |
|                                                          | 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                   |
| <i>Oreochromis niloticus</i> X <i>Oreochromis aureus</i> | 0.6 – 1.1      | 32                   |
|                                                          | 21             | 28                   |

ที่มา: Webster and Lim (2002)

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

**ตารางที่ 2** ความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นในปลานิลขนาดเล็ก

| 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)

### ความต้องการไขมัน และกรดไขมัน

สารอาหารจำพวกไขมันเป็นสารอาหารแหล่งเดียว ที่เป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็น ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของร่างกาย ไขมันเป็นตัวพาที่สำคัญของวิตามิน และยังมีส่วนช่วยในการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมันด้วย ฟอสโฟลิปิดเป็นไขมันชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อโครงสร้างของเซลล์ และการบำรุงรักษาความยืดหยุ่น และ ความสามารถในการซึมผ่านของสารของเยื่อหุ้มต่าง ๆ ให้อยู่ในสภาวะปกติ นอกจากนี้ไขมันยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ steroid hormone และ prostaglandins ด้วย ไขมันในอาหารมีส่วนช่วยในการเพิ่มกลิ่นของอาหาร และ เพิ่มกรดไขมันในปลาด้วย (Webster and Lim, 2002)

จากการศึกษาในปลา *Tilapia Zillii* ของ Teshima *et al.* (1978) และ El - Sayed and Garling (1998) พบว่าการเพิ่มระดับไขมันในอาหารสูงถึง 15% มีผลต่อการเพิ่ม protein efficiency ratio (PER) และ protein production value (PPV) นอกจากนี้ยังพบว่าปลานิลสามารถเก็บสะสมไขมันไว้ในตัวหรือส่วนที่เรียกว่า carcass และ อวัยวะภายในได้ด้วย แต่ไม่สามารถนำมาใช้เป็น

แหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตได้ (Hanley, 1991) ระดับไขมันในอาหารมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ซึ่งพบว่าการใช้ไขมันในสูตรอาหารเพิ่มจาก 5.7% เป็น 9.4% และระดับคาร์โบไฮเดรตจาก 31.9% เป็น 36.9% สามารถลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารจาก 33.2% เป็น 25.7% ได้ (Webster and Lim, 2002)

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

### ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งของพลังงานราคาถูก แต่การใช้ประโยชน์ได้ในปลามีความผันแปร และใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้น้อยมาก การพิสูจน์ และการศึกษาความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปลามีค่อนข้างน้อย มีรายงานเพียงการใช้ประโยชน์จากแป้งสูงกว่าการใช้ประโยชน์จากกลูโคสในปลานิล (Shiau and Lin, 1993) และมีรายงานว่า การใช้ประโยชน์ของ disaccharides มีค่าสูงกว่าในกลูโคส แต่ก็ยังมีค่าต่ำกว่าการใช้ประโยชน์ได้จากแป้ง (Shiau and Chuang, 1995)

จากรายงานของ Lin and Shiau (1995) พบว่าปลานิลที่ได้รับแป้งเป็นอาหารมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ malic enzyme, glucose – 6 – phosphate dehydrogenase (G – 6 – PD) และ phosphogluconate dehydrogenase (PGD) สูงกว่าปลานิลที่ได้รับกลูโคสเป็นอาหาร และเมื่อเปลี่ยนให้ปลาได้รับกลูโคสเป็นอาหารแทนแป้งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวมีค่าลดลง ในขณะที่เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารจากกลูโคสเป็นแป้งอีกครั้ง มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ดังกล่าวในระดับของปลา

### ความต้องการวิตามิน และแร่ธาตุ

การเสริมวิตามินในอาหารสำหรับการเลี้ยงปลาแบบ intensive เป็นสิ่งจำเป็นเนื่องจากการเลี้ยงปลาแบบนี้ อาหารในธรรมชาติมีไม่เพียงพอ ดังนั้นการได้รับวิตามินจากอาหารธรรมชาติจึง

ไม่เพียงพอไปด้วย สำหรับความต้องการวิตามินที่ละลายในน้ำ และละลายในไขมันของปลานิล ชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 3

จากการศึกษาปลานิลแดง (*O. mossambicus* X *O. niloticus*) ระยะกลาง เลี้ยงในน้ำเค็มที่ ความเค็ม 32 ppt ได้รับวิตามิน Thiamine ไม่เพียงพอ พบว่า การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการ ย่อยอาหาร และระดับ haematocrit ลดลง ระดับที่เหมาะสมของวิตามิน Thiamine ที่ทำให้ปลานิล แดงมีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ ที่ระดับ 2.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Lim and Master , 1991) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการขาดวิตามิน riboflavin ในปลานิล พบว่าปลาจะมีความผิดปกติ ทางร่างกาย เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายเพิ่มขึ้น สีซีดผิดปกติ ซึ่งระดับวิตามิน riboflavin ที่เหมาะสมสำหรับปลานิล *O. aureus* ระยะเล็ก ที่เลี้ยงในน้ำจืด ได้แก่ 6 มิลลิกรัมต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม และในปลานิลแดง (*O. mossambicus* X *O. niloticus*) ที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 32 ppt พบว่าระดับวิตามิน riboflavin ที่เหมาะสมได้แก่ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Lim *et al.*, 1993)

สำหรับปลานิลที่ได้รับวิตามิน pyridoxine ไม่เพียงพอ หรือไม่ได้รับวิตามินจะทำให้ระบบ ประสาททำงานผิดปกติ เกิดความผิดปกติทางร่างกาย เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตลดลง เกิดการ กระตุกอย่างแรงของร่างกาย ครีบก้อน เกิดการผิดปกติของเนื้อเยื่อบริเวณปาก อัตราการตาย เพิ่มขึ้น ซึ่งระดับวิตามิน pyridoxine ที่ทำให้ปลานิล (*O. niloticus* X *O. aureus*) ระยะเล็ก ที่เลี้ยง ในน้ำจืด มีการเจริญเติบโตดีที่สุดได้แก่ที่ระดับ 1.7 – 9.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Shiau and Hsieh, 1997)

วิตามิน B12 เป็นวิตามินที่ผลิตจากการสังเคราะห์ของแบคทีเรียในลำไส้ ดังนั้นการเสริม วิตามินดังกล่าวในอาหารจึงไม่จำเป็น (Shiau and Lung, 1993)

**ตารางที่ 3** ความต้องการวิตามินในปลานิลชนิดต่างๆ

| วิตามิน          | ความต้องการวิตามิน ( มิลลิกรัม/ อาหาร1 กิโลกรัม)         |                                      |                                                |                                                |                    |
|------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
|                  | <i>O. niloticus</i><br><i>X O.aureus</i>                 | <i>O. aureus</i>                     | <i>O. niloticus</i>                            | <i>O. mossambicus X</i><br><i>O. niloticus</i> | <i>O. spilurus</i> |
| Thiamine         | -                                                        | -                                    | -                                              | 2.5                                            | -                  |
| Riboflavin       | -                                                        | 6                                    | -                                              | 5                                              | -                  |
| Pyridoxine       | 1.7 – 9.5<br>(28% protein)<br>15 – 16.5<br>(36% protein) | -                                    | -                                              | 3                                              | -                  |
| Vitamin B12      | Dispensable                                              | -                                    | Dispensable                                    | -                                              | -                  |
| Niacin           | 121                                                      | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |
| Biotin           | 0.06                                                     | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |
| Folic acid       | -                                                        | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |
| Inositol         | -                                                        | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |
| Choline          | 1000                                                     | Dispensable                          | -                                              | -                                              | -                  |
| Pantothenic acid | -                                                        | 6 – 10                               | -                                              | -                                              | -                  |
| Ascorbic acid    | 79<br>41 – 48<br>37 – 42<br>63.4                         | 50                                   | 420                                            | -                                              | 100 - 200          |
| A                | -                                                        | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |
| D                | 0.00937<br>(374.8 IU/kg)                                 | Dispensable                          | -                                              | -                                              | -                  |
| E                | 42 – 44<br>(5% lipid)<br>60 – 66<br>(12% lipid)          | 10<br>(3% lipid)<br>25<br>(6% lipid) | 50 – 100<br>(5% lipid)<br>500<br>(10~15%lipid) | -                                              | -                  |
| K                | --                                                       | -                                    | -                                              | -                                              | -                  |

หมายเหตุ Dispensable มีความต้องการน้อยมาก หรือไม่มีความต้องการ

ที่มา: Webster and Lim (2002)

Niacin เป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* ซึ่งระดับความต้องการวิตามินชนิดนี้ของปลาขึ้นอยู่กับแหล่งของสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ระดับที่เหมาะสมของวิตามิน niacin ที่ทำให้ปลาเกิดการเจริญเติบโตดีที่สุดเท่ากับ 26 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เมื่อปลาได้รับกลูโคสเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต และ 121 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับปลาที่ได้รับเดกซ์ตรินเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต ปลาที่ขาดวิตามิน niacin จะเกิดอาการตกเลือด จมูกผิดปกติ เหงือกบวม น้ำ ผิวหนัง ครีบ และปากเกิดการผิดปกติ (Shiau and Suen, 1992)

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 ซึ่งระดับเหมาะสมที่ปลาควรจะได้รับคือ 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 แต่ในปลา *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)

วิตามินที่ละลายในไขมันที่มีการศึกษาได้แก่ วิตามิน D3 (cholecalciferol) และวิตามิน E ระดับวิตามิน D3 (cholecalciferol) ที่มีผลให้การเจริญเติบโตของปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* มีค่าสูงสุดเท่ากับ 374 IU ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม (Shiau and Hwang, 1993) แต่สำหรับปลานิล *O. aureus* พบว่าวิตามิน D3 เป็นสารอาหารที่ไม่จำเป็น (O' Connell and Galtin, 1994) แต่ถ้าขาดวิตามิน E จะมีผลให้ปลาเบื่ออาหาร น้ำหนักเพิ่ม และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง ผิวหนังเกิดการตกเลือด เกิดความเสื่อมโทรมของกล้ามเนื้อ ระดับของวิตามิน E ในอาหารจะเพิ่มขึ้นตามระดับที่เพิ่มขึ้นของไขมันในอาหาร ความต้องการวิตามิน E ของปลานิล *O. aureus* เท่ากับ 10 และ 25 มิลลิกรัม D,L -  $\alpha$  - tocopheryl acetate ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งระดับไขมันในอาหาร

เท่ากับ 3 และ 6 % ตามลำดับ หรือเทียบเท่ากับความต้องการวิตามิน E มีค่าเท่ากับ 3 – 4 มิลลิกรัม  $\alpha$  - tocopheryl acetate ต่อ 1% ไขมันในอาหาร (Roem *et al.*, 1990)

ความต้องการวิตามิน E ของปลานิล *O. niloticus* มีค่าเท่ากับ 50 – 100 มิลลิกรัมต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งมีไขมันในอาหารที่ระดับ 5% ระดับวิตามิน E เพิ่มขึ้นได้ถึง 500 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เมื่อระดับของไขมันในอาหารมีค่าเท่ากับ 10 – 15% (Satoh *et al.*, 1987) แต่ระดับวิตามิน E โดยทั่วไปมีค่าเท่ากับ 42 – 44 มิลลิกรัมต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารที่มีระดับไขมันเท่ากับ 5% และ 60 – 66 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารที่มีระดับไขมันเท่ากับ 12% (Shiau and Shiau, 2001) การศึกษาระดับความต้องการสำหรับวิตามิน A และ K ยังไม่มีการศึกษา

ความต้องการแร่ธาตุของปลานิลมีการศึกษาน้อย ศึกษาในแร่ธาตุ 5 ชนิด คือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม สังกะสี และ โพแทสเซียม ดังแสดงในตารางที่ 4 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 และการสะสมแร่ธาตุในกระดูกมีค่าต่ำที่สุด (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)

ในปลานิล *O. niloticus* X *O. aureus* ระดับความต้องการ โพแทสเซียม มีค่าเท่ากับ 0.2 – 0.3% (Shiau and Hsieh, 2001)

ตารางที่ 4 ความต้องการแร่ธาตุบางชนิดของปลานิล

| แร่ธาตุ    | ความต้องการแร่ธาตุ (% ในสูตรอาหาร)     |                  |                     |
|------------|----------------------------------------|------------------|---------------------|
|            | <i>O. niloticus</i> X <i>O. aureus</i> | <i>O. aureus</i> | <i>O. niloticus</i> |
| แคลเซียม   | -                                      | 0.7              | -                   |
| ฟอสฟอรัส   | -                                      | 0.5              | <0.9                |
| แมกนีเซียม | -                                      | 0.05             | 0.059 – 0.077       |
| สังกะสี    | -                                      | 0.002            | 0.033               |
| โพแทสเซียม | 0.21 – 0.33                            | -                | -                   |

ที่มา: Webster and Lim (2002)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ และศึกษาประสิทธิภาพการย่อย
  - 1.1 homogenizer
  - 1.2 refrigerated centrifuge
  - 1.3 spectrophotometer
  - 1.4 pH meter
  - 1.5 incubator
2. อุปกรณ์ในการชั่งวัด เก็บตัวอย่างเลือดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเลือด
  - 2.1 เครื่องชั่งทศนิยม 1 ตำแหน่ง
  - 2.2 กระบอกนิตยาขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดยาเบอร์ 24
  - 2.3 เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ
3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและเนื้อปลา

### วิธีการศึกษา

**การทดลองที่ 1 ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, lipase และ amylase และค่าทางเคมีของเลือดในปลานิลขนาดเฉลี่ย 5.7 , 35.8 และ 92.1 กรัม**

การศึกษาระดับเอนไซม์ protease, lipase และ amylase ของปลานิล ทำการศึกษาในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7 , 35.8 และ 92.1 กรัม เป็นการศึกษาข้อมูลเบื้องต้น ในสภาวะปกติของปลานิล เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และการเสริมเอนไซม์ในการทดลองต่อไป

## สัตว์ทดลอง

ใช้ปลานิลเพศผู้ขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม นำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในตู้กระจก ขนาด 0.45 x 0.35 x 0.61 ลูกบาศก์เมตร สำหรับปลาขนาด 5.7 กรัม และ บ่อซีเมนต์ขนาด 1.5 ลูกบาศก์เมตร สำหรับปลาขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม ประมาณ 1 สัปดาห์ ใช้อาหารอัดเม็ด 40% โปรตีน พลังงาน 3,500 Kcal/kg สำหรับปลานิลขนาด 5.7 กรัม อาหารอัดเม็ด 30% โปรตีน พลังงาน 3,000 Kcal/kg สำหรับปลานิลขนาด 35.8 กรัม และอาหารอัดเม็ด 25 % โปรตีน พลังงาน 2800 Kcal/kg สำหรับปลานิลขนาด 92.1 กรัม

## สภาวะการทดลอง

เลี้ยงปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7 กรัม ในตู้กระจกขนาด 0.45 x 0.35 x 0.61 ลูกบาศก์เมตร และ เลี้ยงปลานิลขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม ในบ่อซีเมนต์ขนาด 1.5 ลูกบาศก์เมตร ให้อาหาร ทดลองวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เลี้ยงปรับสภาพปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์

## การเก็บข้อมูล

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร จาก กระเพาะ ลำไส้ และ ตับของปลานิล ที่ขนาดต่าง ๆ ขนาดละ 100 ตัว

วิธีสกัดเอนไซม์ protease, lipase และ amylase จากกระเพาะ ลำไส้ และตับของปลานิล

ชั่งน้ำหนักกระเพาะ ลำไส้ และตับ ของปลา จากนั้นแบ่งลำไส้เพื่อทำการศึกษาเป็น 2 ส่วน นำตัวอย่างทั้งหมด มาบดให้ละเอียดโดยใช้ homogenizer โดยบดตัวอย่างใน Tris – HCl buffer ความเข้มข้น 50 mM pH 7.5 จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g อุณหภูมิ 4°C นาน 5 นาที เก็บส่วนที่เป็นของเหลวด้านบน (supernatant) ไว้ที่ – 20 °C (Gimenez *et al.*, 1999) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ ซึ่งแบ่งกลุ่มได้ดังนี้คือ

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease ตามวิธีของ Bezerra *et al.* (2005) โดยนำเอนไซม์ ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ที่มี pH ตั้งแต่ 2 ถึง 13 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และ azocasein 1% ในบัฟเฟอร์ ที่ pH 2 ถึง 13 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้า เครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 60 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วย trichloroacetic acid (TCA) 20 % ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนใสด้านบนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม 1 M NaOH ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 440 nm

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ตามวิธีของ Markweg *et al.* (1995) โดยนำตัวอย่าง เอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสับสเตรท p – nitrophenylpalmitate (pNPP) ที่ ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และบัฟเฟอร์ที่มี pH ตั้งแต่ 2 ถึง 13 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 60 นาที หลังจาก นั้นนำตัวอย่างเดิม 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำตัวอย่างที่ได้เข้า เครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 4 °C นาน 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ตามวิธีของ Hashini *et al.* (2003) โดยนำเอนไซม์ ที่สกัดได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ที่มี pH ตั้งแต่ 2 ถึง 13 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และ starch solution 1% ซึ่งเป็น substrate ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 °C องศาเซลเซียส นาน 60 นาที จากนั้นเติม dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 1.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาดำเนินการ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm

#### การศึกษาทางเคมีของเลือด

วัดระดับกลูโคส และ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลา โดยวิธี GOD – PAP method และ GPO – PAP method ตามลำดับ

วัดระดับโปรตีนในเลือดของปลาตามวิธีของ Lowry (Roe, 2001) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

**การทดลองที่ 2** ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ ไขมัน ของวัตถุดิบของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย และที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

การสกัดเอนไซม์ protease, amylase และ lipase จากลำไส้ของปลานิล

การศึกษานี้ใช้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม เก็บลำไส้ เพื่อใช้ในการสกัด และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase โดยวิธีการเดียวกับการทดลองที่ 1 และนำไปใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของเอนไซม์ต่อไป

การเตรียมเอนไซม์เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อย

นำเอนไซม์รวมที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิล และเอนไซม์ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

**การทดลองที่ 2.1** การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก *Bacillus* sp. และที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

**วัตถุดิบ**

วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในการศึกษานี้ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง และกากเมล็ดทานตะวัน

### สภาวะการทดลอง

นำตัวอย่างวัตถุดิบซึ่งบดละเอียด ผ่านการกรองโดยตะแกรงตาถี่ 200 ไมโครเมตร ไปสกัดน้ำมันในวัตถุดิบออกโดยใช้วิธี Ether extraction แบบ Soxhlet (A.O.A.C., 2000) และ ชั่งน้ำหนักวัตถุดิบให้ได้ปริมาณ 1 กรัม จากนั้นนำตัวอย่าง ไปย่อยโดยเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้ และ เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (P 5860; Sigma – Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 U ในสภาวะการทดลองคือ อุณหภูมิ 30 °C และ pH 7 ตามวิธีของ Fageer and El - Tinay (2004)

**การทดลองที่ 2.2 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตในวัตถุดิบของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก *Bacillus licheniformis* และที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิล ขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม**

### การเตรียมวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตในการศึกษานี้ได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง

### สภาวะการทดลอง

นำตัวอย่างวัตถุดิบซึ่งบดละเอียด และผ่านการกรองโดยตะแกรงตาถี่ 200 ไมโครเมตร ไปชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาณ 1 กรัม และย่อยโดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากลำไส้ และเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากแบคทีเรีย จาก *Bacillus licheniformis* (A 3403; Sigma – Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.3, 0.6, 0.9 และ 1.2 U ในสภาวะการทดลองคือ อุณหภูมิ และ pH 30 °C และ pH 7 ตามวิธีของ Hagenimana *et al.* (2006)

**การทดลองที่ 2.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในวัตถุดิบของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก *Thermomyces lanuginosus* และที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิล ขนาดเฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม**

### **วัตถุดิบ**

วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งของไขมันในการศึกษานี้ได้แก่ น้ำมันปลา และน้ำมันพืช (น้ำมันปาล์ม)

### **สภาวะการทดลอง**

นำตัวอย่างวัตถุดิบซึ่งน้ำหนักให้ได้ปริมาตร 1 กรัม ย่อยโดยเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จาก ลำไส้ และเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *Thermomyces lanuginosus* (L 0777; Sigma – Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 15, 30, 45, 60 และ 75 U ในสภาวะ การทดลองคือ อุณหภูมิ 30 °C และ pH 7 คัดแปลงตามวิธีของ Alcaide *et al.* (2003)

**การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และ สุขภาพของปลานิล**

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดลอง 7 กลุ่ม ทดลอง กลุ่มทดลองละ 3 ซ้ำ ทดลองในปลาขนาด 29 กรัม เป็นระยะเวลา 60 วัน

### **สัตว์ทดลอง**

เลี้ยงปลานิลเพศผู้ล้วนขนาด 29 กรัม ในกระชังขนาด 3X3X1.5 ลูกบาศก์เมตร ความลึกของ กระชังในน้ำประมาณ 1 เมตร กระชังละ 100 ตัว ทำการเลี้ยงทั้งหมด 21 กระชัง ซึ่งกระชังถูกกางใน บ่อดินขนาด 1,600 ตารางเมตร มีการถ่ายเทน้ำทุก 2 – 3 วัน นำปลามาเลี้ยงปรับสภาพ ประมาณ 1 สัปดาห์ ด้วยอาหารกลุ่มควบคุม หลังจากนั้นเลี้ยงปลาเพื่อทำการทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน โดยให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว

## อาหารทดลอง

ใช้อาหารอัดเม็ดลอยน้ำ 30% โปรตีน พลังงาน 3,000 Kcal/kg สำหรับปลานิลขนาด 29 กรัม โดยใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร และเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U ในอาหาร (ตารางที่ 5 และ 6) โดยแบ่งกลุ่มทดลองได้ดังนี้ คือ

1. กลุ่มควบคุมไม่ผสมเอนไซม์
2. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50%
3. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75%
4. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 100%
5. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50% ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U
6. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75% ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U
7. กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 100% ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U

ความเข้มข้นของเอนไซม์ protease ที่เสริมในอาหาร เป็นค่าที่ได้จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จากการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นค่าที่ประสิทธิภาพการย่อยได้มีค่าสูง ที่ระดับการใช้ในปริมาณต่ำสุด โดยความเข้มข้นของเอนไซม์เทียบจากปริมาณโปรตีนของกากถั่วเหลืองในอาหารแต่ละสูตร โดยปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการทดแทนสูงขึ้น เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับเดียวกันคือ 0.02 U

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของอาหารปลานิล (*O. niloticus*) ที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทน  
ปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

| วัตถุดิบ                                             | ปริมาณที่ใช้ในแต่ละระดับการทดแทน (เปอร์เซ็นต์โปรตีน) |                |                |                |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                                                      | 0                                                    | 50             | 75             | 100            |
| ปลาป่น (58-60%)                                      | 25                                                   | 12.5           | 6              | 0              |
| กากถั่วเหลือง (44%)                                  | 35                                                   | 50.5           | 58             | 66             |
| แป้งมันสำปะหลัง                                      | 25                                                   | 22             | 18             | 17             |
| รำละเอียด                                            | 4                                                    | 4              | 6              | 5              |
| ข้าวโพด                                              | 1                                                    | 1              | 2              | 2              |
| น้ำมันปลา                                            | 3                                                    | 3              | 3              | 3              |
| น้ำมันพืช                                            | 3                                                    | 3              | 3              | 3              |
| สารเหนียว                                            | 2                                                    | 2              | 2              | 2              |
| premix                                               | 1                                                    | 1              | 1              | 1              |
| dicalciumphosphate                                   | 1                                                    | 1              | 1              | 1              |
| โภชนะในอาหารจากการวิเคราะห์ (เปอร์เซ็นต์)            |                                                      |                |                |                |
| ความชื้น                                             | 6.27 ± 0.75                                          | 6.35 ± 0.90    | 6.52 ± 0.60    | 6.39 ± 0.55    |
| โปรตีน                                               | 31.29 ± 0.04                                         | 31.65 ± 0.30   | 31.43 ± 0.46   | 31.26 ± 0.01   |
| ไขมัน                                                | 11.15 ± 0.07                                         | 10.30 ± 0.69   | 10.33 ± 1.69   | 10.34 ± 0.77   |
| เถ้า                                                 | 15.15 ± 0.29                                         | 14.92 ± 0.31   | 14.54 ± 0.32   | 14.76 ± 0.54   |
| เยื่อใย                                              | 4.08 ± 0.78                                          | 4.51 ± 0.35    | 4.85 ± 0.17    | 5.13 ± 0.25    |
| พลังงานย่อยได้ <sup>1</sup><br>(กิโลแคลอรี/100 กรัม) | 278.86 ± 8.37                                        | 273.85 ± 12.69 | 273.47 ± 19.53 | 272.43 ± 13.39 |
| พลังงานรวม <sup>2</sup><br>(กิโลแคลอรี/100 กรัม)     | 413.49 ± 13.50                                       | 408.36 ± 18.27 | 407.65 ± 25.78 | 405.92 ± 19.16 |
| ราคาอาหาร<br>(1 กิโลกรัม)                            | 30.84                                                | 29.745         | 29.125         | 28.670         |

หมายเหตุ ปริมาณ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย vitamin A 6,700,000 IU, vitamin D 1,350,000 IU, vitamin E 67 กรัม, vitamin K 33.4 กรัม, vitamin B1 6.7 กรัม, vitamin B2 10 กรัม, vitamin B6 8 กรัม, vitamin B12 13.5 มิลลิกรัม, niacin 53 กรัม, pantothenic acid 26.5 กรัม, folic acid 3.3 กรัม, biotin 335 มิลลิกรัม, inositol 135 กรัม, vitamin C activity from Stay C-35 105 กรัม

1/ คำนวณโดยใช้สูตร  $DE = (\% \text{โปรตีน} \times 3.5) + (\% \text{ไขมัน} \times 8.0) + (\% \text{NFE} \times 2.5)$

2/ คำนวณโดยใช้สูตร  $GE = (\% \text{โปรตีน} \times 5.64) + (\% \text{ไขมัน} \times 9.44) + (\% \text{คาร์โบไฮเดรต} \times 4.11)$

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของอาหารปลานิล (*O. niloticus*) ที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทน  
ปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.  
ที่ความเข้มข้น 0.02U

| วัตถุดิบ                                             | ปริมาณที่ใช้ในแต่ละระดับการทดแทน (เปอร์เซ็นต์โปรตีน) |                |                 |                |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------|
|                                                      | 0                                                    | 50             | 75              | 100            |
| ปลาป่น (58-60%)                                      | 25                                                   | 12.5           | 6               | 0              |
| กากถั่วเหลือง (44%)                                  | 35                                                   | 50.5           | 58              | 66             |
| แป้งมันสำปะหลัง                                      | 25                                                   | 22             | 18              | 17             |
| รำละเอียด                                            | 4                                                    | 4              | 6               | 5              |
| ข้าวโพด                                              | 1                                                    | 1              | 2               | 2              |
| น้ำมันปลา                                            | 3                                                    | 3              | 3               | 3              |
| น้ำมันพืช                                            | 3                                                    | 3              | 3               | 3              |
| สารเหนียว                                            | 2                                                    | 2              | 2               | 2              |
| premix                                               | 1                                                    | 1              | 1               | 1              |
| dicalciumphosphate                                   | 1                                                    | 1              | 1               | 1              |
| โภชนะในอาหารจากการวิเคราะห์ (เปอร์เซ็นต์)            |                                                      |                |                 |                |
| ความชื้น                                             | 6.27 ± 0.75                                          | 6.63 ± 0.66    | 6.63 ± 0.21     | 6.63 ± 0.66    |
| โปรตีน                                               | 31.29 ± 0.04                                         | 31.26 ± 0.01   | 31.20 ± 0.08    | 31.26 ± 0.01   |
| ไขมัน                                                | 11.15 ± 0.07                                         | 11.15 ± 0.07   | 10.77 ± 1.70    | 10.30 ± 0.69   |
| เถ้า                                                 | 15.15 ± 0.29                                         | 14.54 ± 0.32   | 14.94 ± 0.39    | 14.69 ± 0.54   |
| เยื่อใย                                              | 4.08 ± 0.78                                          | 4.54 ± 0.30    | 4.69 ± 0.14     | 4.91 ± 0.28    |
| พลังงานย่อยได้ <sup>1</sup><br>(กิโลแคลอรี/100 กรัม) | 278.86 ± 8.37                                        | 278.31 ± 9.69  | 274.785 ± 20.08 | 272.33 ± 12.60 |
| พลังงานรวม <sup>2</sup><br>(กิโลแคลอรี/100 กรัม)     | 413.49 ± 13.50                                       | 412.58 ± 15.67 | 408.21 ± 26.69  | 405.92 ± 18.16 |
| ราคาอาหาร<br>(1 กิโลกรัม)                            | 30.84                                                | 29.807         | 29.217          | 28.792         |

หมายเหตุ ปริมาณ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย vitamin A 6,700,000 IU, vitamin D 1,350,000 IU, vitamin E 67 กรัม, vitamin K 33.4 กรัม, vitamin B1 6.7 กรัม, vitamin B2 10 กรัม, vitamin B6 8 กรัม, vitamin B12 13.5 มิลลิกรัม, niacin 53 กรัม, pantothenic acid 26.5 กรัม, folic acid 3.3 กรัม, biotin 335 มิลลิกรัม, inositol 135 กรัม, vitamin C activity from Stay C-35 105 กรัม

1/ คำนวณโดยใช้สูตร  $DE = (\% \text{โปรตีน} \times 3.5) + (\% \text{ไขมัน} \times 8.0) + (\% \text{NFE} \times 2.5)$

2/ คำนวณโดยใช้สูตร  $GE = (\% \text{โปรตีน} \times 5.64) + (\% \text{ไขมัน} \times 9.44) + (\% \text{คาร์โบไฮเดรต} \times 4.11)$

## การเก็บข้อมูล

### การศึกษากาการเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตทำการศึกษาทุก 10 วัน เป็นระยะเวลา 60 วัน ศึกษาข้อมูลดังนี้

1. น้ำหนักเฉลี่ย = น้ำหนักที่ชั่ง/จำนวนปลา
2. น้ำหนักเพิ่ม = น้ำหนักสุดท้าย – น้ำหนักเริ่มต้น
3. น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (ADG) = น้ำหนักเพิ่ม/จำนวนตัวปลา/จำนวนวัน
4. การเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) = 
$$\left\{ \frac{\ln \text{ น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวัน}} \right\} \times 100$$
5. ปริมาณอาหารที่กิน (FI) = 
$$\frac{(\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด/จำนวนปลาทั้งหมด})}{\text{จำนวนวัน}}$$
6. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = ปริมาณอาหารที่กิน/น้ำหนักเพิ่ม
7. ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (FCE) = (น้ำหนักเพิ่ม/ปริมาณอาหารที่กิน)  $\times 100$
8. ประสิทธิภาพของโปรตีน (PER) = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น/โปรตีนในอาหาร
9. การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนสุทธิ (NPU) = 
$$\left\{ \frac{\text{โปรตีนที่เพิ่มขึ้นในปลา}}{\text{โปรตีนที่ได้รับ}} \right\} \times 100$$

ศึกษาค่าทางเคมีของเลือด และระดับเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร จาก กระเพาะ ลำไส้ และ ตับของปลานิล ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่อเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลอง

### การศึกษาทางเคมีของเลือด

วัดระดับกลูโคส และ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลา โดยวิธี GOD – PAP method และ GPO – PAP method ตามลำดับ

วัดระดับโปรตีนในเลือดของปลาวิธี Lowry method (Roe, 2001) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

วัดจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีโมโกลบิน และศึกษาค่าฮีมาโตคริตโดยเครื่องวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ (Auto blood count machine)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารของปลานิล

เลี้ยงปลานิลขนาด 29 กรัม ในตู้กระจกขนาด 0.45 x 0.35 x 0.61 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 21 ตัว 5 ตัว ด้วยอาหารทดลองผสมโครมิกซ์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 7 สูตร เลี้ยงปรับสภาพปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเริ่มทำการเก็บมูลของปลาทุกวันก่อนการให้อาหารแต่ละครั้ง ก่อนการเก็บมูลปลาควรเก็บอาหารเหลือออกให้หมดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเหลือ ซึ่งอาจทำให้การคำนวณผิดพลาดได้ ใช้เวลาในการเก็บมูลประมาณ 2 สัปดาห์ นำมูลที่ได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 C เป็นระยะเวลา 14 ชั่วโมง จากนั้นนำมูล และอาหารไปวิเคราะห์โดยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000) และคำนวณหาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนตามสมการด้านล่าง

$$\text{Protein digestibility} = 100 - 100 \times \left\{ \frac{\% \text{ marker in diet}}{\% \text{ marker in faeces}} \times \frac{\% \text{ protein in faeces}}{\% \text{ protein in diet}} \right\}$$

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารและเนื้อปลา

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหาร อาหารและเนื้อปลาแบบ proximate analysis โดยวิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ และเถ้า (A.O.A.C., 2000)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลกิจกรรมของเอนไซม์ ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของเอนไซม์แต่ละชนิด การเจริญเติบโต และค่าทางเคมีของเลือด มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี

วิเคราะห์ความแปรปรวน ( Analysis of Variance ) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design ) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่าง ๆ ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

#### **สถานที่ทำการทดลอง**

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

#### **ระยะเวลาในการทดลอง**

พฤษภาคม 2550 – กันยายน 2551

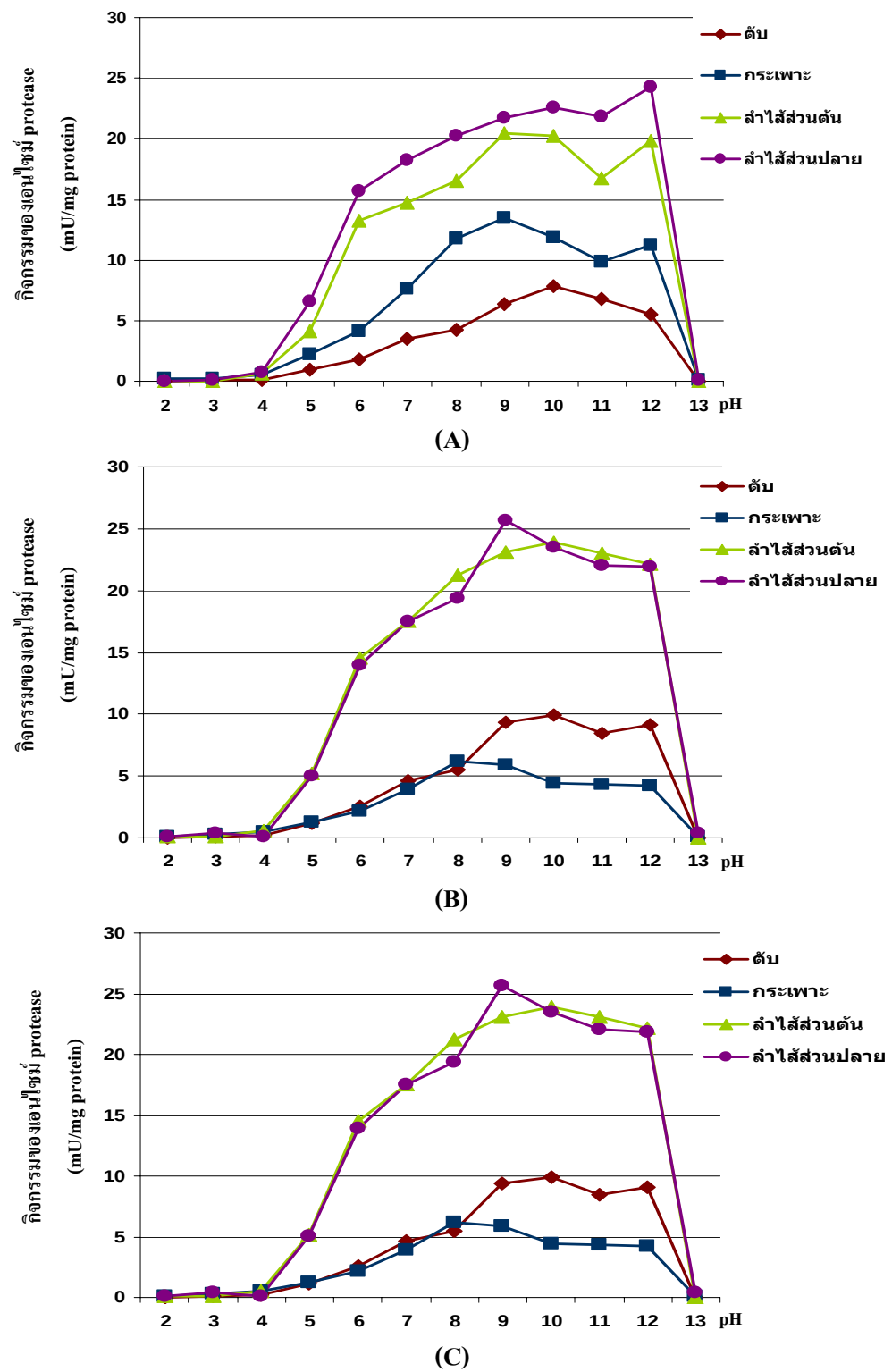
## ผลและวิจารณ์

### การทดลองที่ 1 ระดับเอนไซม์ protease, lipase และ amylase และค่าทางเคมีของเลือด ในปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

#### ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

##### กิจกรรมของเอนไซม์ Protease

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ในตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ pH 2 - 13 ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ของปลานิลขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุด ( $P < 0.05$ ) ที่ pH 10, 9, 9 และ 12 (ภาพที่ 13) (ตารางผนวกที่ 1) สำหรับปลานิลขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงสุด ( $P < 0.05$ ) ที่ pH 9, 9, 10 และ 9 (ภาพที่ 13) (ตารางผนวกที่ 2) และ 9, 7 และ 10, 10 และ 9 (ภาพที่ 13) (ตารางผนวกที่ 3) ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าแตกต่างกันเมื่อค่า pH แตกต่างกัน เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีน การเปลี่ยนแปลง pH ของสารละลายโปรตีนจะมีผลต่อประจุที่เกิดขึ้นบนโมเลกุลของโปรตีน จึงส่งผลกระทบต่อโครงสร้าง และการทำงานของเอนไซม์ด้วย โดยเฉพาะที่บริเวณ active site ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ substrate เข้ารวมตัวกับเอนไซม์ ดังนั้นเอนไซม์แต่ละชนิดจึงมีค่า pH ที่เหมาะสม สำหรับเร่งปฏิกิริยาให้ได้ความเร็วสูงสุดเสมอ (นิธิยา, 2551) ซึ่งจากการทดลองนี้กล่าวได้ว่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ protease ของปลาทั้ง 3 ขนาด และในทุกอวัยวะ อยู่ในช่วงที่เป็นค่า เป็นเอนไซม์ protease จำพวก serine protease และอวัยวะที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงสุดได้แก่ลำไส้



ภาพที่ 13 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากดับ กระเพรา ลำไยส่วนต้น และลำไยส่วนปลายของปลานิลขนาด 5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)

เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในแต่ละอวัยวะพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายมีค่าสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่พบในตับ และกระเพาะ เมื่อเปรียบเทียบที่ pH เดียวกัน และ pH ที่ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงสุด (ดังตารางที่ 7)

**ตารางที่ 7** กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| อวัยวะในระบบ<br>ย่อยอาหาร | กิจกรรมของเอนไซม์ protease (specific activity)* ในปลาขนาดต่าง ๆ |                    |                    |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                           | ปลาขนาด 5.7 กรัม                                                | ปลาขนาด 35.8 กรัม  | ปลาขนาด 92.1 กรัม  |
| ตับ                       | $7.89 \pm 0.30^d$                                               | $9.92 \pm 1.30^c$  | $2.50 \pm 0.10^b$  |
| กระเพาะ                   | $13.51 \pm 0.13^c$                                              | $6.22 \pm 0.64^d$  | $2.85 \pm 0.27^b$  |
| ลำไส้ส่วนต้น              | $20.41 \pm 0.07^b$                                              | $22.91 \pm 0.74^b$ | $21.75 \pm 1.90^a$ |
| ลำไส้ส่วนปลาย             | $24.26 \pm 0.18^a$                                              | $25.69 \pm 0.97^a$ | $23.92 \pm 1.40^a$ |
| P - value                 | 0.0001                                                          | 0.0001             | 0.0001             |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* specific activity = mU/mg protein; U = Abs/min

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากอวัยวะในระบบย่อยอาหารได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่าเอนไซม์ protease ที่พบเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease (หรือ alkaline protease) หรือ pancreatic enzyme มีทั้งหมด 4 ชนิดคือ trypsin, chymotrypsin, collagenase และ elastase ซึ่งเป็นเอนไซม์ serine protease ในกลุ่ม endopeptidase ทำงานได้ดีในสภาพ pH 6.7 – 9 และ 7 – 11 (ปราณี, 2547; Guillaume *et al.*, 2001) เอนไซม์ protease ที่เป็น endoprotease เช่น เอนไซม์ trypsin และ chymotrypsin จะไฮโดรไลซ์พันธะ peptide ที่อยู่ด้านในของสาย polypeptide ซึ่งมีความจำเพาะสูงและค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ trypsin คือที่ pH 8 (นิธิยา, 2551) เอนไซม์เหล่านี้ เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนแล้วส่งมาที่ลำไส้เล็กเพื่อย่อยอาหารจำพวกโปรตีน (สุนิย์, 2543) โดยเอนไซม์ trypsin ผลิตมาจากส่วนที่เรียกว่า exocrine pancreas ทำงานบริเวณ lumen ของ ลำไส้ และ pyloric ceca โดยระดับ pH ที่เหมาะสม ในการทำงานมีค่าเป็นกลาง (neutral pH) และผลผลิตที่ได้จากการย่อยคือ สาย peptide นอกจากนี้เอนไซม์ protease ชนิดอื่น ๆ ที่ผลิตจากตับ

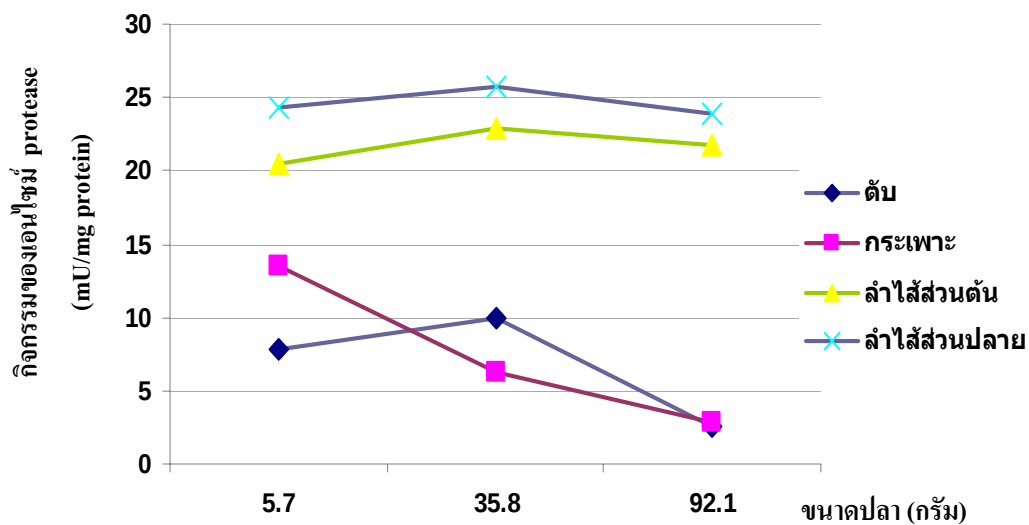
อ่อน ก็จะทำงานที่บริเวณเดียวกันกับ trypsin คือ ลำไส้ และ pyloric ceca สำหรับ pH ที่เหมาะสม และ ผลผลิตที่ได้ก็เหมือนกันคือ เอนไซม์ทำงานที่ pH เป็นกลาง และผลผลิตที่ได้จากการย่อยคือ สาย peptide (Halver and Hardy, 2002) ซึ่งอาจจะต่างจากผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ เล็กน้อยที่พบว่าเอนไซม์ protease จะทำงานได้ดีในสภาวะค่อนข้างเป็นด่าง แต่ถ้าเป็นเอนไซม์ protease ที่ผลิตจากกระเพาะจะทำงานที่ pH เป็นกรด กระเพาะประกอบด้วยชั้นของเนื้อเยื่อ 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscularis และ serosa ในกระเพาะจะมีต่อมที่เรียกว่า gastric (gastric gland) ซึ่งอยู่ในชั้น mucosa ทำหน้าที่หลั่งกรด และเอนไซม์จาก oxyntic cells หรือที่เรียกว่า oxynticopeptic cells (Halver and Hardy, 2002) กระเพาะเป็นแหล่งเดียวของระบบย่อยอาหารที่มีสภาวะเป็นกรด ซึ่งใช้ในการย่อยโปรตีน โดย pH ของกระเพาะอยู่ที่ 2 – 3 หรือประมาณ 2.5 และอาจมีค่าสูงได้ถึง 5 (Halver and Hardy, 2002) กระเพาะเป็นอวัยวะเดียวของระบบย่อยอาหารที่ทำหน้าที่ในการทำให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพไป เอนไซม์ที่อยู่ในรูป zymogen หรืออยู่ในรูปที่ยังทำงานไม่ได้ จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ทำงานได้ในส่วนของกระเพาะ และลำไส้ (Guillaume *et al.*, 2001) มีการทดลองของ Glass and Stark (1994) เกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ใน European lobster (*Homarus gammarus*) ขนาด 500 – 1,750 กรัม ที่สกัดได้จากกระเพาะ และ hepatopancreas พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ gastric protease มีค่าสูงที่ pH 2.3 และ 5.6 สำหรับเอนไซม์ trypsin มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานที่ pH 8.1 – 8.3 ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease มีค่าค่อนข้างสูง หรือทำงานได้ดีที่ pH ประมาณ 9

การทดลองครั้งนี้พบว่าเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดได้จากอวัยวะอื่น เนื่องจากเอนไซม์ที่พบเป็น alkaline protease ที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง และในลำไส้ก็มีสภาวะที่เหมาะสม คือ pH มีค่าเป็นด่าง ไม่มีเซลล์ที่เรียกว่า gastric type secretory cell และไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ pepsin การทำงานของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในลำไส้เกิดขึ้นในส่วนของ membrane – bound enzyme ซึ่งเป็นบริเวณที่ใกล้เคียงกับบริเวณที่มีการดูดซึมสารอาหารที่ได้จากการย่อยแล้ว (Guillaume *et al.*, 2001) จากผลที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease มีค่าสูงในลำไส้ สอดคล้องกับการทดลองของ Dai *et al.* (2008) ที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ trypsin ในปลานิลขนาด 32 กรัม มีค่าสูงในลำไส้ และมีค่าน้อยในตับ นอกจากนี้ยังมีการทดลองโดย จีรภา และคณะ (2549) ที่ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ trypsin และ chymotrypsin ในอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ กระเพาะ และลำไส้ของปลานิล ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดซึ่งเป็นเอนไซม์ protease มีค่าสูงในลำไส้ และจะมีค่าน้อย

ในกระเพาะเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลานิลในครั้งนี้ เอนไซม์ protease มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการ catabolism ของเซลล์ และกระบวนการ protein turnover ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ถูกใช้ในกระบวนการย่อย และขบวนการในระบบภูมิคุ้มกัน การทำงานของเอนไซม์ protease จำเป็นต้องมี  $K^+$  และ ค่า  $K_{cat} - pH$  ของเอนไซม์ protease จำพวก serine protease เมื่อแสดงเป็นกราฟจะมีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานเป็นลักษณะของรูปประฆัง ซึ่งค่า pH ที่ให้กิจกรรมสูงสุดของการทำงานของเอนไซม์มีค่าใกล้เคียงกับ pH 8 (Wong, 1995) ภายในลำไส้จะมีสภาวะเป็นด่าง ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่งน้ำดี และ เอนไซม์เช่น amylase และ lipase (Wedemeyer, 1996) นอกจากนี้ เอนไซม์ protease ยังผลิตมาจากลำไส้และอวัยวะนี้เป็นบริเวณที่เปลี่ยน trypsinogen ไปเป็น trypsin ซึ่งเอนไซม์นี้จะเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนเอนไซม์ชนิดอื่นที่อยู่ในรูปที่ไม่ active ให้อยู่ในรูปที่ active อีกด้วย (De Silva and Anderson, 1995) จากการทดลองของ Bezerra *et al.* (2005) เกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ alkaline protease มีค่าอยู่ที่ pH 8 และกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวที่อยู่ในรูปของ crude extract ก่อนการทำบริสุทธิ์มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 3.39 U/mg protein และจากการทดลองของ Alarcón *et al.* (1998) เกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลาสองชนิด คือ gilthead (*Sparus aurata*) และ common dentex (*Dentex dentex*) ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ที่ศึกษานี้มีค่า pH ในการเกิดกิจกรรมอยู่ในช่วง 5 – 11 แต่ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นี้คือ pH 10 ผลการศึกษาทั้งสองนี้ มีความใกล้เคียงกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease มีค่าสูงที่ pH 8 – 10

ตับ ซึ่งมีตับอ่อนเป็นอวัยวะที่ผลิตเอนไซม์ protease แทรกอยู่ด้านในมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ค่อนข้างต่ำเนื่องจาก อวัยวะดังกล่าวเป็นเพียงแหล่งผลิตเอนไซม์ ไม่มีการทำงานของเอนไซม์ และเอนไซม์ที่ผลิตได้ไม่อยู่ในรูปที่ทำงานได้ ส่วนที่เป็น exocrine pancreas จะหลั่งเอนไซม์ และไบคาร์บอเนตซึ่งจะมีท่อต่อเข้าไปในลำไส้ (Halver and Hardy, 2002) จึงพบกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวน้อย

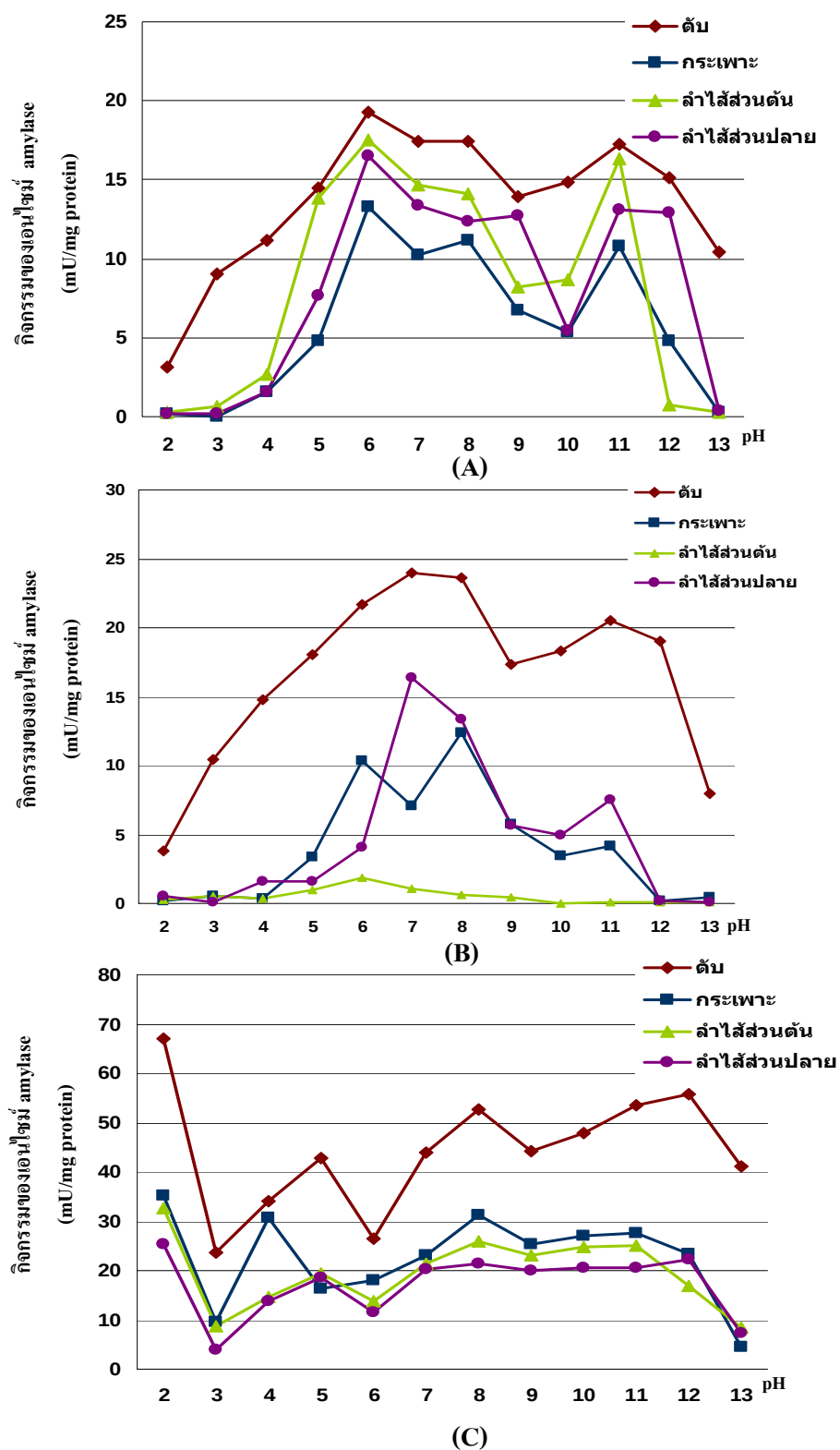
เมื่อแยกศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากอวัยวะในระบบย่อยอาหาร ได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลานิลเพศผู้แต่ละขนาด คือ 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่าปลาขนาด 35.8 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์ protease โดยรวมสูงที่สุด (ภาพที่ 14) โดยทั่วไปแล้ว กิจกรรมรวมของเอนไซม์ protease ในปลาที่มีค่าค่อนข้างสูง แม้แต่เอนไซม์ protease ที่พบในปลาจำพวก herbivorous (Guillaume *et al.*, 2001)



ภาพที่ 14 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่พบสูงสุดในอวัยวะต่าง ๆ ของปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

#### กิจกรรมของเอนไซม์ Amylase

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ pH 2 - 13 ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ของปลาขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 6 (ภาพที่ 15) (ตารางผนวกที่ 4) สำหรับปลาขนาด 35.8 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงสุด ( $P < 0.05$ ) ที่ pH 7, 8, 6 และ 7 (ภาพที่ 15) (ตารางผนวกที่ 5) และปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงสุดที่ pH 2 ในทุกอวัยวะ (ภาพที่ 15) (ตารางผนวกที่ 6)



ภาพที่ 15 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากดับ กระเพาะ ลำไ้ส่วนต้น และลำไ้ส่วนปลายของปลานิลขนาด 5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)

สำหรับ pH ที่มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ amylase มีค่าสูงได้แก่ pH ในช่วงที่เป็นกลาง และค่อนข้างเป็นกรดอ่อน และด่างอ่อน เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลาแต่ละขนาด และในแต่ละอวัยวะพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในตับมีค่าสูงกว่าอวัยวะอื่น เมื่อเปรียบเทียบที่ pH ที่ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงสุดในปลาแต่ละขนาด (ตารางที่ 8)

เอนไซม์ amylase ที่พบในการศึกษานี้จัดอยู่ในกลุ่ม แอลฟา – amylase ( $\alpha$  - amylase) เป็นเอนไซม์ประเภท hydrolase พบได้ทั้งในพืชและในสัตว์ ซึ่งสามารถทำงานได้ดีที่ pH 6 – 7 สำหรับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Wong, 1995) และ มีความเสถียรที่ pH 5.5 – 9 (วรรณ, 2551) เนื่องจากเอนไซม์มีความเสถียรที่ pH ค่อนข้างเป็นกรดถึงด่างเล็กน้อย ทำงานได้ดีที่ pH 6 – 8 (De Silva and Anderson, 1995) จึงทำให้พบกิจกรรมของเอนไซม์ค่อนข้างสูงที่ pH ดังกล่าวนอกจากนี้ที่สภาวะดังกล่าวยังเหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิกของแป้งด้วย (วรรณ, 2551) กิจกรรมของเอนไซม์ amylase พบในปลาทุกจำพวก ทั้งปลาจำพวก herbivorous และ omnivorous และพบตลอดชีวิต จะพบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase มีค่าสูงในปลาจำพวก herbivorous ซึ่งปลาเหล่านี้มีการปรับตัวให้เข้ากับอาหารที่ได้รับ สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่ได้รับได้อย่างเต็มที่ นอกจากนี้ในสัตว์ที่ร่างกายมีไกลโคเจนสูงจะพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase มีค่าสูงด้วย (Guillaume *et al.*, 2001)

มีการศึกษาของ Zeng and Cohen (2000) เกี่ยวกับลักษณะเฉพาะของเอนไซม์  $\alpha$  - amylase ในต่อม salivary ของแมลงที่ชื่อว่า *Lugis hesperus* และ *L. lineolaris* พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\alpha$  - amylase มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ pH 6.5 นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ amylase โดยเป็นการศึกษาของ Moreau *et al.* (2001) เกี่ยวกับการย่อยได้ของแป้งในปลา *O. niloticus* และ ปลา *Saratherodon melanotheron* ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของเอนไซม์ การจำแนก และปฏิกิริยาการยับยั้งทางด้าน kinetic ของเอนไซม์ amylase ซึ่งมีผลต่อการย่อยแป้งของปลาทั้งสองชนิดดังกล่าว ซึ่งปลาที่ใช้ในการทดลองมีขนาด 50 กรัม จากการทดลองพบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ตับ mesentery tissue และ ลำไส้ แต่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในกระเพาะ กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่พบมีความเหมาะสมในการทำงานที่ pH 7 และกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างต่อเนื่องถ้ามีการเพิ่มระดับ pH ขึ้นอย่างต่อเนื่อง กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิล *O. niloticus* มีค่าประมาณ  $20 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  ซึ่งค่า pH มีค่าใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการศึกษานี้ เนื่องจากค่า pH ที่พบจาก

การศึกษาครั้งนี้มีค่าอยู่ที่ ประมาณ pH 6 – 8 ยกเว้นในปลาขนาด 92.1 กรัม ที่ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ amylase มีค่าเท่ากับ 2

**ตารางที่ 8** กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากอวัยวะต่าง ๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| อวัยวะในระบบ  | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase (specific activity)* ในปลาขนาดต่าง ๆ |                             |                             |
|---------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ย่อยอาหาร     | ปลาขนาด 5.7 กรัม                                               | ปลาขนาด 35.8 กรัม           | ปลาขนาด 92.1 กรัม           |
| ตับ           | 19.252 ± 0.109 <sup>a</sup>                                    | 23.971 ± 1.058 <sup>a</sup> | 57.153 ± 3.786 <sup>a</sup> |
| กระเพาะ       | 13.284 ± 0.675 <sup>c</sup>                                    | 12.433 ± 0.583 <sup>c</sup> | 35.149 ± 5.106 <sup>b</sup> |
| ลำไส้ส่วนต้น  | 8.209 ± 1.095 <sup>d</sup>                                     | 1.878 ± 0.012 <sup>d</sup>  | 27.655 ± 0.668 <sup>b</sup> |
| ลำไส้ส่วนปลาย | 16.545 ± 0.023 <sup>b</sup>                                    | 16.363 ± 0.138 <sup>b</sup> | 25.497 ± 4.242 <sup>b</sup> |
| P - value     | 0.0003                                                         | 0.0001                      | 0.0037                      |

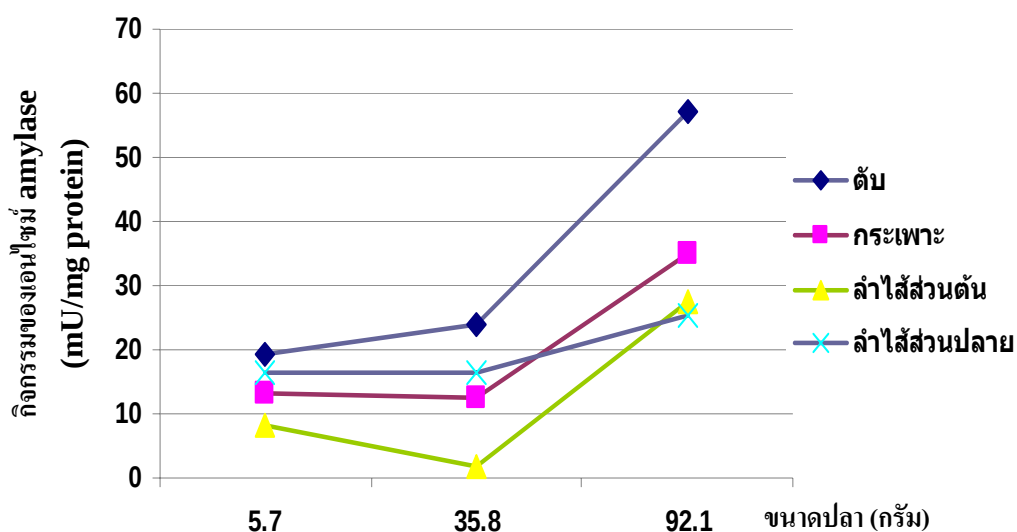
**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมรรถที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* specific activity = mU/mg protein; µg glucose/mL/min

นอกจากการศึกษาในปลาแล้ว มีการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ และ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในสัตว์น้ำชนิดอื่นเช่นกัน ซึ่งผลที่ได้ก็เป็นไปในทางเดียวกันกับที่พบในปลา และในการทดลองครั้งนี้โดยเป็นการศึกษาของ Omondi and Stark (1995) เกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ carbohydrase ที่สกัดได้จาก midgut gland ของกิ้ง *Penaeus vannamei* และกิ้ง *Penaeus indicus* พบกิจกรรมของเอนไซม์มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานที่ pH 5 – 8 เมื่อแยกเอนไซม์เป็นแต่ละชนิด ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานก็จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วยเช่น ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ amylase รวมกับเอนไซม์ maltase คือ pH 6.1 แต่ถ้าเป็นกิจกรรมของเอนไซม์ maltase ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อยู่ที่ pH 5 – 7 และค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์  $\alpha$  - amylase คือ pH 7 – 8

เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่อวัยวะต่าง ๆ คือ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลานิล 3 ขนาด (ตารางที่ 8) พบว่าปลาทั้ง 3 ขนาด มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงที่สุดในตับ ซึ่งต่างกับผลการทดลองของ Sheng *et al.* (2006) ที่พบว่ากิจกรรมของ

เอนไซม์ amylase มีค่าสูงในลำไส้ มากกว่าในตับ สำหรับการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลของ Dai *et al.* (2008) พบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในลำไส้ และตับ มีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก เอนไซม์ amylase ผลิตที่ตับอ่อนแล้วยังสามารถผลิตได้จาก enterocyte และผลิตจาก gut microflora ซึ่งเอนไซม์นี้ทำงานบริเวณ membrane liked ใน brush border หรือทำงานร่วมกับ gut flora โดย pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นี้อยู่ที่ pH เป็นกลาง และผลิตผลที่ได้จากเอนไซม์นี้คือ polysaccharides และ monosaccharides (Halver and Hardy, 2002) เอนไซม์ amylase นอกจากผลิตที่ตับอ่อนแล้ว ยังสามารถผลิตได้จากตับอีกด้วย (De Silva and Anderson, 1995) เอนไซม์ carbohydrase ทำงานในน้ำย่อยในกระเพาะ และในลำไส้ โดยตับอ่อนเป็นอวัยวะหลักในการผลิตเอนไซม์ carbohydrase กิจกรรมของเอนไซม์ carbohydrase จะมีค่าเพิ่มขึ้น หรือลดลง ขึ้นอยู่กับระดับคาร์โบไฮเดรตในสูตรอาหารที่ปลาได้รับ เช่นในปลา rainbow trout และปลานิล (*O. mossambicus*) ที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีแป้งเพิ่มมากขึ้น (De Silva and Anderson, 1995)



ภาพที่ 16 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่พบสูงสุดในปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

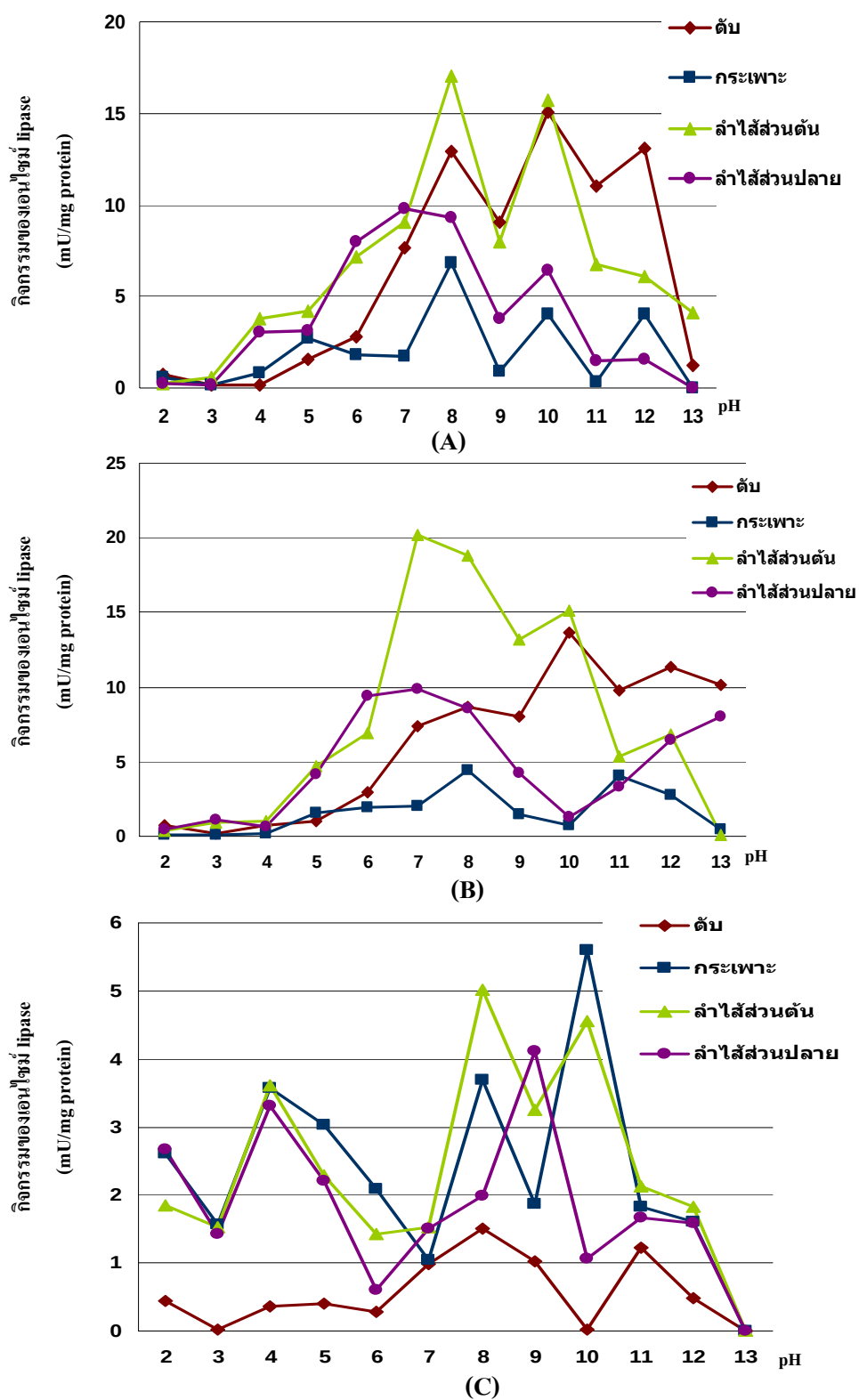
เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลาทั้ง 3 ขนาด พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากปลานิลขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดในทุกอวัยวะ (ภาพที่ 16) กิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่ม lipogenic enzyme ที่ผลิตจากตับปลานิลนั้นสามารถปรับตัวให้เข้ากับอาหารคาร์โบไฮเดรตที่รับเข้าไปได้ (Webster and Lim, 2002) กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่เพิ่มขึ้นมี

ความสัมพันธ์หรือสอดคล้องกับ ปริมาณแป้งที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารเช่นกัน (De Silva and Anderson, 1995) จากการทดลองของ Gaxiola *et al.* (2005) เกี่ยวกับผลกระทบของความเค็มคาร์โบไฮเดรตในอาหาร กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร และรอบในการลอกคราบของกุ้ง *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) ขนาด 4.85 กรัม พบกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับแป้งในสูตรอาหารมีค่ามากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มแป้งในสูตรอาหารกุ้งโตได้มากขึ้นอีกด้วยโดยไม่มีผลกระทบต่อการใช้ของกุ้ง

#### กิจกรรมของเอนไซม์ Lipase

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ที่ pH 2 - 13 ของปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม (ภาพที่ 17) พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ของปลาขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุด ( $P < 0.05$ ) ที่ pH 10, 8, 8 และ 8 (ภาพที่ 17) (ตารางผนวกที่ 7) สำหรับปลาขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม กิจกรรมของเอนไซม์ lipase มีค่าสูงสุด ( $P < 0.05$ ) ที่ pH 10, 8, 7 และ 7 (ภาพที่ 17) (ตารางผนวกที่ 8) และ ที่ pH 8, 10, 8 และ 9 (ภาพที่ 17) (ตารางผนวกที่ 9) ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ส่วนต้นมีค่าสูงกว่าอวัยวะอื่น เมื่อเปรียบเทียบที่ pH ที่ให้ค่ากิจกรรมสูงสุด จากผลการทดลองนี้กล่าวได้ว่า pH ที่ให้ผลกิจกรรมของเอนไซม์ lipase มีค่าสูงสุดได้แก่ pH ในช่วงที่เป็นกลางถึงเป็นด่าง

กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายจากปลาขนาด 35.8 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด (ภาพที่ 18) เอนไซม์ lipase เป็นเอนไซม์กลุ่มเอสเทอร์เรส (esterase) ช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ ester ดับอ่อนเป็นอวัยวะที่ผลิตเอนไซม์ lipase แต่ก็พบบ้างในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric lipase) (สุนิย์, 2543 และ Gisbert *et al.*, 1999) เอนไซม์ lipase ทำหน้าที่ได้ดีที่ pH 7 – 8.8 (จันทกานต์ และคณะ, 2550) เอนไซม์ lipase ที่ได้จากส่วนของ mucosa ของลำไส้มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ pH 7 – 7.5 ในขณะที่เอนไซม์ esterase ที่ผลิตจากลำไส้มีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ pH 8 – 9 (De Silva and Anderson, 1995)



ภาพที่ 17 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ pH 2 – 13 ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลขนาด 5.7 กรัม (A), 35.8 กรัม (B), และ 92.1 กรัม (C)

การทดลองของ Areekijserree (2003) เกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ lipase และ cellulose ที่ pH และอุณหภูมิต่าง ๆ ที่สกัดได้จาก ลำไส้ และ กระเพาะของหอยกาบ พบว่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase ในกระเพาะ และลำไส้อยู่ที่ pH 8 ในปลาทั่วไปการย่อยไขมันเกิดบริเวณ pyloric ceca และลำไส้ส่วนต้น เมื่อไขมันถูกย่อยแล้วจะได้เป็นกรดไขมันสายสั้น (Halver and Hardy, 2002) ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกดูดซึมโดยตรงเข้าสู่ brush border ของ enterocyte

กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่อวัยวะต่างๆ คือ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลานิลขนาด 5.7 และ 35.8 กรัม พบว่ามีค่าสูงในลำไส้ส่วนต้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Dai *et al.* (2008) ที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลมีค่าสูงที่ลำไส้ และมีค่าน้อยในตับ แต่ปลานิลขนาด 92.1 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงที่กระเพาะ (ตารางที่ 9)

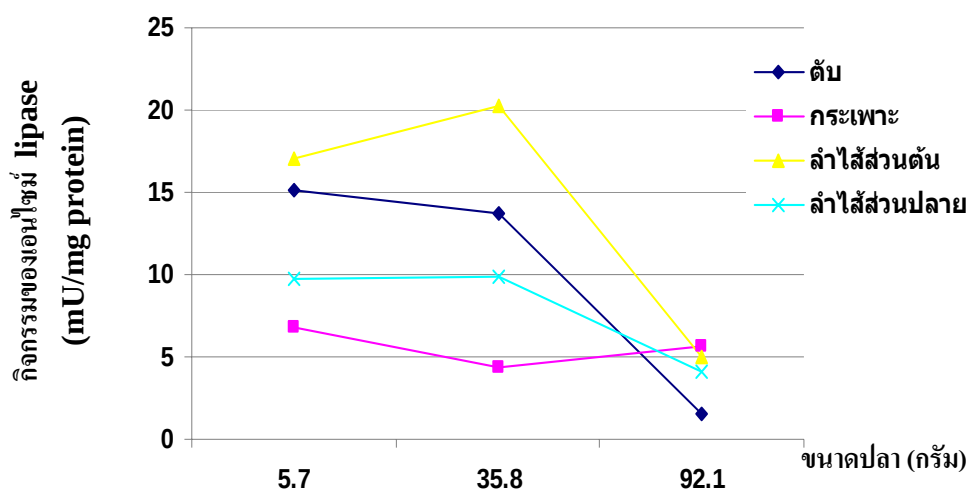
**ตารางที่ 9** กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากอวัยวะต่าง ๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| อวัยวะในระบบ<br>ย่อยอาหาร | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase (specific activity)* ในปลานิลขนาดต่าง ๆ |                             |                             |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                           | ปลานิลขนาด 5.7 กรัม                                              | ปลานิลขนาด 35.8 กรัม        | ปลานิลขนาด 92.1 กรัม        |
| ตับ                       | 15.100 ± 0.923 <sup>a</sup>                                      | 13.684 ± 0.111 <sup>b</sup> | 1.501 ± 0.125 <sup>c</sup>  |
| กระเพาะ                   | 6.831 ± 1.318 <sup>c</sup>                                       | 4.383 ± 0.238 <sup>d</sup>  | 5.598 ± 0.066 <sup>a</sup>  |
| ลำไส้ส่วนต้น              | 17.033 ± 0.492 <sup>a</sup>                                      | 20.248 ± 0.421 <sup>a</sup> | 5.010 ± 0.342 <sup>ab</sup> |
| ลำไส้ส่วนปลาย             | 9.767 ± 0.938 <sup>b</sup>                                       | 9.872 ± 1.123 <sup>c</sup>  | 4.107 ± 0.962 <sup>b</sup>  |
| P - value                 | 0.0014                                                           | 0.0001                      | 0.0049                      |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมมติที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* specific activity = mU/mg protein; U = mg/mL of n – nitrophenol/min

เอนไซม์ lipase ที่ไม่ได้ผลิตมาจากตับอ่อนจะเป็นเอนไซม์ lipase ที่ผลิตมาจาก กระเพาะ หรือเรียกว่า gastric lipase ซึ่งเอนไซม์นี้ผลิตมาจาก gastric gland ในส่วน mucosa ของกระเพาะ ซึ่งจะทำงานบริเวณกระเพาะ โดยความเป็นกรด ต่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นี้คือที่ pH เป็นกรด ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Gisbert *et al.* (1999) ซึ่งศึกษาในปลา Siberian sturgeon พบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric lipase)



ภาพที่ 18 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่พบสูงสุดในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลาทั้ง 3 ขนาด (ภาพที่ 18) พบว่าโดยรวมแล้วปลานขนาดเล็ก และขนาดกลาง พบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase สูงกว่าในปลานขนาดใหญ่ สำหรับปลานขนาดเล็กมีกิจกรรมของเอนไซม์ lipase สูง รวมถึงเอนไซม์ protease ด้วยเนื่องจาก เมื่อปลาฟักออกจากไข่ และเจริญเติบโต อาหารธรรมชาติที่ปลาได้รับเป็นแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ ซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีน และไขมันสูง (Halver and Hardy, 2002; Moyle and Cech, 2000) นอกจากนี้ปลานขนาดเล็ก และปลานขนาดกลาง เป็นปลาที่อัตราการเจริญเติบโตสูง มีการสังเคราะห์โปรตีน และมีความต้องการโปรตีน และพลังงานสูง ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ protease และ lipase จึงมีมากเพื่อตอบสนองต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีน และไขมันที่ได้รับจากอาหาร (วีรพงศ์, 2536; Webster and Lim, 2002)

#### ผลการศึกษาค่าทางเคมีของเลือด

ผลการศึกษาค่าทางเคมีของเลือด คือ ค่าโปรตีน กลูโคส และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลานิล 3 ขนาด คือ 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่า ค่าดังกล่าวในปลาทั้ง 3 ขนาด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ค่าทางเคมีของเลือดปลานิลที่ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| ขนาดปลา<br>(กรัม) | ค่าทางเคมีของเลือด        |                    |                           |
|-------------------|---------------------------|--------------------|---------------------------|
|                   | โปรตีนในเลือด<br>(mg/ mL) | กลูโคส<br>(mmol/l) | ไตรกลีเซอไรด์<br>(mmol/l) |
| 5.7               | $1.97 \pm 0.05^b$         | $26.83 \pm 0.59^c$ | $0.97 \pm 0.10^c$         |
| 35.8              | $2.16 \pm 0.05^a$         | $40.22 \pm 2.35^b$ | $3.14 \pm 0.40^a$         |
| 92.1              | $1.97 \pm 0.04^b$         | $68.74 \pm 2.41^a$ | $2.79 \pm 0.28^b$         |
| P - value         | 0.0001                    | 0.0001             | 0.0001                    |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสมมติที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ปลาขนาด 35.8 กรัม มีระดับโปรตีนในเลือดสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) ปลาขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม โดยมีค่าเท่ากับ  $2.16 \pm 0.05$  mg/mL หรือ  $0.21 \pm 0.00$  g/dl เมื่อเปรียบเทียบกับระดับโปรตีนในเลือดจากผลที่ได้จากการทดลองนี้กับค่าที่พบในปลานิลในการทดลองอื่นๆ 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 รวมถึงสภาวะแวดล้อม อาหารที่ปลาได้รับ รวมถึงความสามารถในการย่อยได้ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะทางสรีรวิทยาของปลาในแต่ละตัวด้วย (Guillaume, 2001)

ค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดจากการทดลองนี้พบว่าปลาขนาด 35.8 กรัม มีค่าดังกล่าวสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $3.14 \pm 0.40$  mmol/l หรือ  $276.00 \pm 35.20$  mg/100mL ผลดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับผลของปลานิลในการทดลองอื่น และปลาชนิดอื่นๆ เช่น blue tilapia (*Oreochromis aureus* (St.)), saced carp (*Cyprinus carpio* (L.)) ปลา jundia (*Rhamdia quelen*) ขนาด 121 – 196 กรัม และปลา *Clarias lazera* ขนาด 100 – 500 กรัม ที่มีค่าอยู่ในช่วง 133–546

mg/dl (Aiura, 2007; Chen *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2004; Papoutsoglou *et al.*, 2001; Borges *et al.*, 2004; Mahmoud and Al-Salahy, 2004) ค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลาขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับค่าที่พบในปลานิลในการทดลองอื่น และปลาชนิดอื่นๆ สำหรับปลาขนาดใหญ่ที่มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำกว่าปลาขนาด 35.8 กรัม อาจเกิดจากผลของอาหารที่ได้รับ เช่นการศึกษาเกี่ยวกับอาหารทางสัณฐานที่พบว่าสัตว์ที่ได้รับอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีนจากพืชจะมีผลให้ ระดับ HDL-C ใน plasma เพิ่มขึ้น แต่ระดับของ ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL-C ลดลง (Tortueroe *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 1996, 1997; Anderson and Hanna, 1999; Xie and Shi, 2006) สำหรับปลาขนาดเล็กมีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำกว่าปลาขนาด 35.8 กรัม เกิดจากปลาขนาดเล็กอยู่ในช่วงที่ร่างกายกำลังเจริญเติบโตมีความต้องการโปรตีน และพลังงานสูง ดังนั้นไขมันที่ร่างกายได้รับจึงถูกนำไปใช้เป็นส่วนมากจึงทำให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ที่เหลืออยู่ในกระแสเลือดมีค่าค่อนข้างต่ำ เช่นเดียวกับที่พบในผลของระดับโปรตีนในเลือด นอกจากความต้องการไขมันเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านของอาหารที่เป็นพลังงานแล้ว ไขมันยังมีประโยชน์และมีความจำเป็นต่อปลาขนาดเล็กในเรื่องของการเจริญเติบโตที่ปกติ และการพัฒนาของร่างกายอย่างสมบูรณ์ (Webster and Lim, 2002)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงที่สุด ( $P < 0.01$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $68.74 \pm 2.41$  mmol/l หรือ  $1238.56 \pm 43.46$  mg/dl รองลงมาคือปลาขนาด 35.8 กรัม และ 5.7 กรัม ทั้งนี้เนื่องจากปลานิลขนาดใหญ่ ได้รับอาหารที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าปลานิลขนาดเล็ก ทำให้ร่างกายสร้างเอนไซม์ amylase สำหรับย่อยคาร์โบไฮเดรตมากขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้เต็มที่ (De silva and Anderson, 1995) เมื่อคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยโดยเอนไซม์ amylase แล้วผลิตภัณฑ์ที่ได้คือกลูโคส ดังนั้นจึงพบว่าระดับกลูโคสในเลือดปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงกว่าในปลาขนาดอื่นๆ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่มีค่าสูงในปลาขนาด 92.1 กรัม และจะมีค่าลดลงในปลาขนาด 35.8 และ 5.7 กรัม โดยทั่วไปแล้วปลามีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้น้อยมาก (Webster and Lim, 2002) ระดับกลูโคสในเลือดของปลาในการทดลองนี้มีค่าสูงเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากการศึกษาในปลานิลขนาด 100 กรัม ขึ้นไป ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 48.5 – 87.5 mg/dl (Wright *et al.*, 1999; Fox *et al.*, 2006; Welker *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2003) สำหรับปลานิลขนาด 38.46 กรัม มีระดับกลูโคสในเลือดเท่ากับ 52.33 mg/dl (Hussein *et al.*, 1996) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Delaney and Klesius (2004) ซึ่งรายงานไว้ในปลานิลขนาด 35.2 กรัม พบระดับกลูโคสในเลือดปลามีค่าเท่ากับ 99.1 mmol/l ซึ่งค่าที่ได้ค่อนข้างสูงกว่าค่าที่ได้จากการทดลองใน

ครั้งนี้ ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของขนาดปลา สิ่งแวดล้อม หรืออาหารที่ได้รับ รวมถึงเทคนิค และวิธีการศึกษาที่แตกต่างกันไปด้วย

**การทดลองที่ 2 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ในวัตถุดิบ ของ เอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม และเอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.**

**ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีน**

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนได้แก่ ปลาป่น, กากเมล็ดทานตะวัน และกากถั่วเหลือง โดยเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม แสดงในตารางที่ 11 พบว่าปลานิลขนาด 5.7 กรัม สามารถย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบทั้งสามชนิดได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม สามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่นได้ดีที่สุด ( $P < 0.05$ ) เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพ นอกจากโปรตีนที่มีคุณภาพแล้วปลาป่นยังมีแร่ธาตุที่สำคัญด้วยได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุรองอื่น ๆ อีก รวมทั้งวิตามินต่าง ๆ ด้วย นอกจากความสมบูรณ์ทางโภชนาการแล้วปลาป่นยังมีความน่ากินสูงด้วย (Cheeke, 2005) ปลาป่นนอกจากเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพแล้ว ยังเป็นแหล่งกรดอะมิโน และกรดไขมันที่มีคุณภาพด้วย ระดับโปรตีนที่สูงในปลาป่นสามารถถูกย่อยได้ง่าย ปลาป่นมีกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ในระดับสูง รวมถึง lysine ซึ่งพบในโปรตีนจากพืชน้อยมาก (Pond *et al.*, 2005) ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่ย่อยได้พลังงานอย่างดี (El – Sayed, 2006) สำหรับปลานิลขนาด 92.1 กรัม มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากกากเมล็ดทานตะวันได้ดีที่สุด ( $P < 0.05$ )

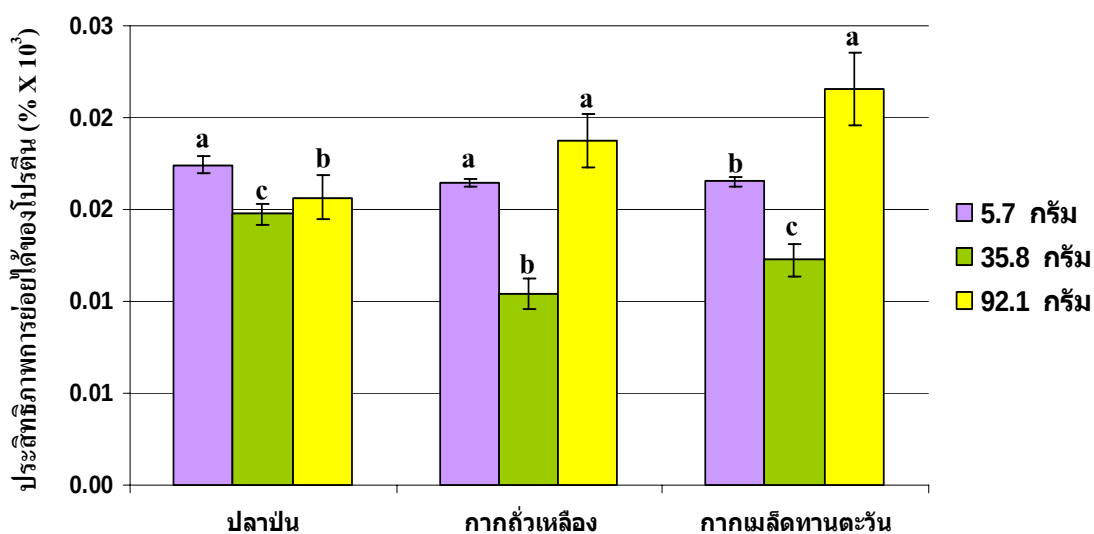
**ตารางที่ 11** โปรตีนละลายน้ำ โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ และประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีน โดยเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ของ ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| วัตถุดิบ         | โปรตีนละลายน้ำ    | โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|------------------|-------------------|--------------------------|----------------------------------------|
| <b>5.7 กรัม</b>  |                   |                          |                                        |
| ปลาป่น           | $0.12 \pm 0.00^a$ | $0.08 \pm 0.00^a$        | $69.78 \pm 4.26^a$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน | $0.11 \pm 0.00^a$ | $0.07 \pm 0.00^a$        | $66.20 \pm 7.35^a$                     |
| กากถั่วเหลือง    | $0.12 \pm 0.00^a$ | $0.07 \pm 0.00^a$        | $65.91 \pm 5.35^a$                     |
| <i>P</i> - value | 0.1630            | 0.1319                   | 0.6793                                 |
| <b>35.8 กรัม</b> |                   |                          |                                        |
| ปลาป่น           | $0.02 \pm 0.00^a$ | $0.01 \pm 0.00^a$        | $52.32 \pm 1.81^a$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน | $0.04 \pm 0.00^a$ | $0.01 \pm 0.00^a$        | $43.36 \pm 2.56^b$                     |
| กากถั่วเหลือง    | $0.03 \pm 0.00^a$ | $0.01 \pm 0.00^a$        | $36.78 \pm 2.49^c$                     |
| <i>P</i> - value | 0.1084            | 0.2512                   | 0.0005                                 |
| <b>92.1 กรัม</b> |                   |                          |                                        |
| ปลาป่น           | $0.03 \pm 0.00^a$ | $0.02 \pm 0.00^a$        | $58.53 \pm 1.28^c$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน | $0.02 \pm 0.00^a$ | $0.02 \pm 0.00^a$        | $80.50 \pm 1.87^a$                     |
| กากถั่วเหลือง    | $0.02 \pm 0.00^a$ | $0.01 \pm 0.00^a$        | $70.00 \pm 0.96^b$                     |
| <i>P</i> - value | 0.0604            | 0.1652                   | 0.0001                                 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของปลาขนาดเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของปลาทั้งสามขนาด ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนทั้งสามชนิด โดยเปรียบเทียบที่ 1 มิลลิกรัม ของปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ (ภาพที่ 19) พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่นของปลาขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุด ( $P < 0.05$ ) รองลงมาคือค่าที่พบในปลาขนาด 92.1 และ 35.8 กรัม ทั้งนี้เนื่องจากปลาขนาด 5.7 กรัม เป็นปลาขนาดเล็กที่ร่างกายกำลังพัฒนา และมีอัตราการเจริญเติบโตสูง มีความจำเป็นต้องใช้โปรตีนในการเจริญเติบโต สร้างอวัยวะ และภูมิคุ้มกัน และด้วยอาหารที่ปลาได้รับเป็นอาหารจำพวกโปรตีนสูงเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นร่างกายปลาจะผลิตเอนไซม์ protease เป็นจำนวนมากเพื่อใช้ในการย่อยอาหาร

ที่ปลาได้รับ และเพื่อใช้ประโยชน์จากอาหารนั้นได้เต็มที่ เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลาขนาด 5.7 กรัม จากการทดลองที่ 1 ก็พบว่าค่าที่ได้สอดคล้องกันโดยปลาขนาดดังกล่าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงด้วยเช่นกัน จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงด้วย และด้วยเหตุผลที่กล่าวไปแล้วข้างต้นถึงคุณสมบัติ และคุณค่าทางอาหาร ที่เหมาะสมของปลาป่น จึงทำให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นมีค่าสูง



ภาพที่ 19 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม

สำหรับปลาขนาด 92.1 กรัม เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว และร่างกายมีพัฒนาการที่สมบูรณ์ ถึงแม้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease จะมีค่าน้อยกว่าปลาขนาดอื่น ซึ่งเป็นผลที่พบจากการทดลองที่ 1 แต่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากพืชทั้งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง และโปรตีนจากกากเมล็ดทานตะวัน มีค่าสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) ค่าที่พบในปลาขนาดอื่น ซึ่งผลที่ได้แตกต่างกับผลที่พบในปลาขนาด 35.8 กรัม ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงแต่ประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนมีค่าต่ำ ทั้งการย่อยโปรตีนจากสัตว์ และโปรตีนจากพืช การที่ปลาในแต่ละขนาดมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นแตกต่างกันนั้นอาจเกิดจากขบวนการย่อยอาหาร การหลั่งเอนไซม์ย่อยอาหาร การดูดซึม และขบวนการเคลื่อนที่ของอาหาร การทำงานร่วมกันของปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยอาหารได้แก่ อายุหรือขนาดของปลา ความสมดุลของสารอาหาร และอุณหภูมิของน้ำ เช่นเมื่ออุณหภูมิของน้ำลดลง กิจกรรมของเอนไซม์ก็มีค่าลดลง

อัตราการย่อยการดูดซึม และการเคลื่อนที่ของอาหารก็จะลดลง และช้าลงตามด้วย นอกจากนี้ตัวอาหารเองก็มีผลต่อการย่อยอาหารเช่นกัน เช่นในอาหารที่มีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันสูง จะสามารถกระตุ้นให้เอนไซม์ trypsin , amylase และ lipase หลั่งออกมาได้เร็วขึ้น (Guillaume *et al.*, 2001)

เมื่อพิจารณาค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในกากเมล็ดทานตะวันพบว่าปลาขนาด 92.1 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในกากเมล็ดทานตะวันสูงสุด ( $P < 0.05$ ) รองลงมาคือค่าที่พบในปลาขนาด 5.7 และ 35.8 กรัม ทั้งนี้เนื่องจากปลาขนาด 92.1 กรัม เป็นปลาขนาดใหญ่ ระบบย่อยอาหารพัฒนาได้เต็มที่แล้ว รวมถึงประสิทธิภาพของเอนไซม์ย่อยโปรตีน หรือเอนไซม์ protease มีค่าสูงแม้ว่าจะพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าปลาขนาดอื่น ๆ นอกจากนี้ อาหารที่ปลาขนาดใหญ่ได้รับจะมีสัดส่วนของโปรตีนที่เป็นเนื้อสัตว์ลดลง เปรอร์เซ็นต์ของโปรตีนในอาหารก็ลดลงด้วย ดังนั้นปลามีการปรับตัวให้สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชได้ดีขึ้น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงตัวของวัตถุดิบ พบว่ากากเมล็ดทานตะวันที่เขาเปลือกออกแล้วปริมาณโปรตีนมีค่าเป็น 45 – 47% และเยื่อใยเท่ากับ 10 – 12% (Cheeke, 2005) นอกจากนี้กากเมล็ดทานตะวันมีส่วนที่เป็น anti - nutrition ต่ำ มีกรดอะมิโน methionine สูง แต่มีส่วนของ lysine ต่ำ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงทำให้ปลาที่มีขนาดใหญ่สามารถใช้ประโยชน์ หรือย่อยกากเมล็ดทานตะวันดีกว่าปลาขนาดเล็ก (Guillaume *et al.*, 2001)

สำหรับค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลืองพบว่าปลาขนาด 92.1 และ 5.7 กรัม มีค่าดังกล่าวสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) และพบมีค่าน้อยที่สุดในปลาขนาด 35.8 กรัม ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาปนด้วยเหตุผลทางสรีรของปลา และด้วยคุณสมบัติของถั่วเหลืองเองที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชชั้นดี กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพ มีเยื่อใยและ complex carbohydrate ต่ำ มีโปรตีนสูง (Guillaume *et al.*, 2001) กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่สำคัญ ใช้ทดแทนโปรตีนจากสัตว์ในกรณีที่ไม่สามารถหาโปรตีนจากสัตว์ได้ กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีความน่าชวนกินสูง และย่อยได้ง่าย มีโปรตีนสูงถึง 44 – 50 % สมดุลอะมิโนที่เหมาะสม และมีพลังงานที่ย่อยได้สูง กากถั่วเหลืองประกอบด้วย oligosaccharide 5 – 6% ซึ่งเป็น polysaccharide สายสั้นๆ ซึ่งสัตว์น้ำ หรือสัตว์ที่ไม่ใช่สัตว์ที่มี 4 กระเพาะ จะย่อยได้ยาก แต่สำหรับกากถั่วเหลืองที่นำ oligosaccharide ออกไปแล้วโดยวิธีการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ปริมาณของพลังงาน และโปรตีนจะเพิ่มขึ้น ดังนั้นกากถั่วเหลืองที่มีปริมาณของโปรตีนสูงจึงหมดปัญหาจากการย่อย oligosaccharide ได้น้อยลง (Cheeke, 2005) จากวัตถุดิบ

ทั้งสามชนิดที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ปลาทั้งสามขนาด พบว่าเมื่อเปรียบเทียบแล้วปลาขนาด 35.8 กรัม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในวัตถุดิบทุกชนิดน้อยที่สุด ( $P < 0.05$ )

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งโปรตีนได้แก่ ปลาป่น, กากเมล็ดทานตะวัน และกากถั่วเหลือง โดยเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 12 พบประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุดิบต่าง ๆ มีค่าแตกต่างกัน ( $P < 0.05$ ) โดยค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของปลาป่นมีค่าอยู่ในช่วง 76 – 98 % กากเมล็ดทานตะวันมีค่าอยู่ในช่วง 86 – 96 % และกากถั่วเหลืองมีค่าอยู่ในช่วง 65 – 93 % และเมื่อแยกศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ในวัตถุดิบแต่ละชนิดของเอนไซม์ protease นี้ พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนมีค่าสูงสุดในการย่อย กากเมล็ดทานตะวัน ในทุกความเข้มข้นของเอนไซม์ protease ยกเว้นที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.06 U และ 0.1 U ที่พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบแต่ละชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

**ตารางที่ 12** โปรตีนละลายน้ำ โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ของวัตถุดิบแหล่งโปรตีน โดยเอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้นต่างๆ

| วัตถุดิบ               | โปรตีนละลายน้ำ       | โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------------------|
| <b>protease 0.01 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                 | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.17 \pm 0.05^{ab}$     | $76.05 \pm 1.68^b$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน       | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.25 \pm 0.00^a$        | $85.61 \pm 0.42^a$                     |
| กากถั่วเหลือง          | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.07 \pm 0.00^b$        | $64.54 \pm 2.16^c$                     |
| <i>P</i> - value       | 0.0425               | 0.0326                   | 0.0023                                 |
| <b>protease 0.02 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                 | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.17 \pm 0.04^{ab}$     | $77.85 \pm 1.70^b$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน       | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.25 \pm 0.00^a$        | $86.20 \pm 0.65^a$                     |
| กากถั่วเหลือง          | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.08 \pm 0.00^b$        | $70.78 \pm 2.51^c$                     |
| <i>P</i> - value       | 0.0425               | 0.0328                   | 0.0077                                 |
| <b>protease 0.04 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                 | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.18 \pm 0.05^a$        | $79.36 \pm 2.17^b$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน       | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.26 \pm 0.00^a$        | $87.66 \pm 1.23^a$                     |
| กากถั่วเหลือง          | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.08 \pm 0.00^b$        | $73.65 \pm 0.48^c$                     |
| <i>P</i> - value       | 0.0425               | 0.0177                   | 0.0056                                 |
| <b>protease 0.06 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                 | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.18 \pm 0.04^{ab}$     | $84.79 \pm 1.93^a$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน       | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.26 \pm 0.00^a$        | $88.33 \pm 0.66^a$                     |
| กากถั่วเหลือง          | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.09 \pm 0.001^b$       | $83.01 \pm 2.92^a$                     |
| <i>P</i> - value       | 0.0425               | 0.0273                   | 0.1675                                 |
| <b>protease 0.08 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                 | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.20 \pm 0.05^{ab}$     | $90.28 \pm 1.71^b$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน       | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.28 \pm 0.00^a$        | $94.80 \pm 0.52^a$                     |
| กากถั่วเหลือง          | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.10 \pm 0.00^b$        | $88.09 \pm 0.96^c$                     |
| <i>P</i> - value       | 0.0425               | 0.0241                   | 0.0230                                 |

ตารางที่ 12 (ต่อ)

| วัตถุดิบ              | โปรตีนละลายน้ำ       | โปรตีนละลายน้ำที่ย่อยได้ | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|-----------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------------------|
| <b>protease 0.1 U</b> |                      |                          |                                        |
| ปลาป่น                | $0.22 \pm 0.06^{ab}$ | $0.22 \pm 0.05^a$        | $98.22 \pm 1.65^a$                     |
| กากเมล็ดทานตะวัน      | $0.29 \pm 0.00^a$    | $0.28 \pm 0.00^a$        | $95.70 \pm 1.94^a$                     |
| กากถั่วเหลือง         | $0.12 \pm 0.01^b$    | $0.11 \pm 0.01^b$        | $92.90 \pm 1.95^a$                     |
| <i>P</i> - value      | 0.0425               | 0.0329                   | 0.1354                                 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้นเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

#### ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม แสดงในตาราง ที่ 13 และภาพที่ 20

**ตารางที่ 13** ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต โดย  
เอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| วัตถุดิบ         | TS <sup>*1</sup>          | SDS <sup>*1</sup>         | RDS <sup>*1</sup>        | RS <sup>*1</sup>          | ประสิทธิภาพการ<br>ย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------------------------|
| <b>5.7 กรัม</b>  |                           |                           |                          |                           |                                            |
| แป้งข้าวเจ้า     | 26.82 ± 0.80 <sup>a</sup> | 10.18 ± 0.32 <sup>a</sup> | 6.84 ± 0.54 <sup>a</sup> | 9.79 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 25.49 ± 1.42 <sup>a</sup>                  |
| แป้งข้าวโพด      | 26.66 ± 0.99 <sup>a</sup> | 9.70 ± 0.55 <sup>a</sup>  | 7.11 ± 0.42 <sup>a</sup> | 9.83 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 26.68 ± 0.75 <sup>a</sup>                  |
| แป้งมันสำปะหลัง  | 26.18 ± 0.77 <sup>a</sup> | 10.03 ± 0.38 <sup>a</sup> | 6.30 ± 0.14 <sup>a</sup> | 9.85 ± 0.37 <sup>a</sup>  | 24.06 ± 0.67 <sup>a</sup>                  |
| <i>P</i> - value | 0.6608                    | 0.4398                    | 0.1198                   | 0.9582                    | 0.0516                                     |
| <b>35.8 กรัม</b> |                           |                           |                          |                           |                                            |
| แป้งข้าวเจ้า     | 21.23 ± 0.58 <sup>b</sup> | 8.11 ± 0.25 <sup>b</sup>  | 4.41 ± 0.24 <sup>b</sup> | 8.71 ± 0.39 <sup>a</sup>  | 20.77 ± 0.91 <sup>c</sup>                  |
| แป้งข้าวโพด      | 25.59 ± 1.09 <sup>a</sup> | 9.53 ± 0.66 <sup>a</sup>  | 7.02 ± 0.15 <sup>a</sup> | 9.04 ± 0.94 <sup>a</sup>  | 27.45 ± 0.67 <sup>b</sup>                  |
| แป้งมันสำปะหลัง  | 24.39 ± 0.15 <sup>a</sup> | 8.63 ± 0.16 <sup>b</sup>  | 7.28 ± 0.04 <sup>a</sup> | 8.47 ± 0.23 <sup>a</sup>  | 29.85 ± 0.19 <sup>a</sup>                  |
| <i>P</i> - value | 0.0008                    | 0.0169                    | 0.0001                   | 0.5495                    | 0.0001                                     |
| <b>92.1 กรัม</b> |                           |                           |                          |                           |                                            |
| แป้งข้าวเจ้า     | 21.87 ± 0.42 <sup>a</sup> | 8.33 ± 0.30 <sup>a</sup>  | 5.42 ± 0.24 <sup>a</sup> | 8.11 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 24.78 ± 0.74 <sup>a</sup>                  |
| แป้งข้าวโพด      | 20.13 ± 0.09 <sup>b</sup> | 7.36 ± 0.65 <sup>b</sup>  | 5.28 ± 0.04 <sup>a</sup> | 7.48 ± 0.72 <sup>ab</sup> | 26.26 ± 0.33 <sup>a</sup>                  |
| แป้งมันสำปะหลัง  | 17.00 ± 0.09 <sup>c</sup> | 6.02 ± 0.19 <sup>c</sup>  | 4.29 ± 0.20 <sup>b</sup> | 6.68 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 25.26 ± 1.16 <sup>a</sup>                  |
| <i>P</i> - value | 0.0001                    | 0.0018                    | 0.0006                   | 0.0175                    | 0.1613                                     |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของปลาแต่ละขนาด ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทาง  
สถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup>TS - Total Starch

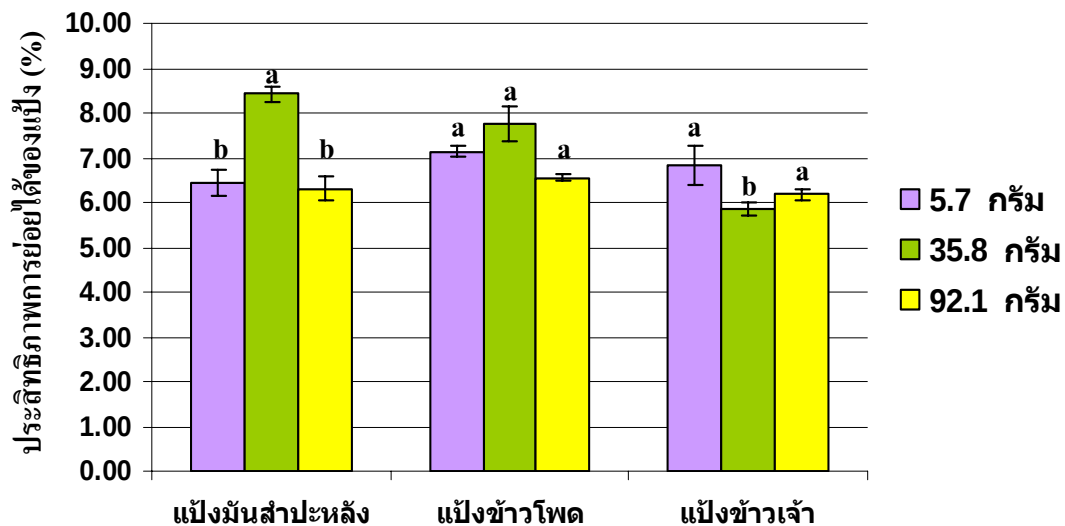
<sup>\*1</sup>SDS - Slowly Digestible Starch

<sup>\*1</sup>RDS - Rapidly Digestible Starch

<sup>\*1</sup>RS - Resistant Starch

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลที่ขนาด  
ต่างๆ พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตในปลาขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม มีค่าไม่

แตกต่างกันในการย่อยแป้งแต่ละชนิด ( $P>0.01$ ) แต่ปลานขนาด 35.8 กรัม มีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตจากแป้งมันสำปะหลังได้ดีที่สุด ( $P<0.01$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $29.85 \pm 0.19$  เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งโดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากปลาทั้ง 3 ชนิด พบว่าการย่อยได้ของแป้ง และกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานขนาด 92.1 กรัม มีความสอดคล้องกัน เนื่องจากปลานขนาดดังกล่าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงกว่าปลานขนาดอื่น จึงทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งแต่ละชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ส่วนปลานขนาด 5.7 กรัม และ 35.8 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ค่อนข้างใกล้เคียงกันในแต่ละอวัยวะ ยกเว้นลำไส้ส่วนต้นของปลานขนาด 35.8 กรัม ที่พบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase น้อยกว่าในปลานขนาด 5.7 กรัม จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพของการย่อยแป้งแตกต่างกัน นอกจากปัจจัยในตัวปลาที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้ง ปัจจัยจากวัตถุดิบเองก็มีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งมีค่าแตกต่างกัน แป้งจากธัญพืชเช่นแป้งข้าวโพด และแป้งข้าวเจ้า มีรูปแบบการพองตัว และการละลาย 2 ชั้น จึงมีการพองตัวและการละลายต่ำสุด เนื่องจากมีปริมาณอะมิโลสสูง ซึ่งจะมิโลสจะทำให้โครงสร้างร่างแห ในเม็ดแป้งแข็งแรงขึ้น ทำให้พองตัวได้ต่ำ ส่งผลให้แป้งถูกย่อยได้ยาก และย่อยได้น้อย ส่วนแป้งจากส่วนราก หรือส่วนกลางลำต้น เช่น

แป้งมันสำปะหลัง มีการพองตัวเพียงขึ้นเดียว กำลังการพองตัว และการละลายมีค่าสูงกว่าแป้งจาก ธัญพืช ส่งผลให้แป้งถูกย่อยได้ง่ายกว่า

นอกจากนี้ปริมาณแป้งก็มีผลต่อการย่อยด้วยเช่นกัน ปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลังพันธุ์ต่าง ๆ มีอยู่ ประมาณ 14 – 28 % แป้งมันสำปะหลังมี starch อยู่ประมาณ 95 % มีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อยกว่า 1% แป้งมันสำปะหลังจัดเป็นแป้งที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ คือ 18 – 23 % และมีขนาดแตกต่างกัน คุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยากับน้ำ เป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ เม็ดแป้งที่แขวนลอยอยู่ในน้ำเมื่อได้รับความร้อน พลังงานความร้อนจะไปทำลายพันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างของเม็ดแป้ง ทำให้โมเลกุลของน้ำสามารถเข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระของเม็ดแป้งได้ แป้งที่มีอะมิโลสสูงจะมีกำลังการพองตัวต่ำกว่าแป้งที่มีอะมิโลสต่ำ เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของอะมิโลสที่เป็นเส้นตรงจะทำให้เกิดพันธะระหว่างโมเลกุลได้ดี และอะมิโลสอาจจับตัวกับไขมันทำให้ขัดขวางการพองตัวของเม็ดแป้งได้ แป้งมันสำปะหลังจัดเป็นแป้งที่มีอะมิโลสต่ำ จึงมีกำลังการพองตัวที่ดี (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2550) ซึ่งส่งผลให้สามารถถูกย่อยได้ง่ายกว่าแป้งชนิดอื่น

จากการศึกษาของ Sagum and Arcot (2000) รายงานว่า ระดับของอะมิโลสมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้ง โดยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของแป้งที่ย่อยได้อย่างรวดเร็ว (Rapidly digestion starch = RDS) และลดจำนวนของแป้งที่ย่อยได้ช้า (SDS = Slowly digestion starch) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แป้งที่มีระดับอะมิโลสสูงถูกย่อยได้ช้ากว่าแป้งที่มีระดับอะมิโลสต่ำ หรือมีปริมาณปานกลาง ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งขึ้นอยู่กับ ธรรมชาติของแป้ง คุณสมบัติของแป้งนั้นๆ สัดส่วนของ amylase ต่อ amylopectin ขนาด และ ความสมบูรณ์ของเม็ดแป้ง นอกจากนี้ความแตกต่างของแป้งเองขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแป้งนั้นด้วย (Guillaume *et al.*, 2001) ประสิทธิภาพในการย่อยแป้งที่ได้จากธัญพืชเช่น แป้งที่ได้จากข้าวโพด ของเอนไซม์กลุ่ม pancreatic enzymes จะขึ้นอยู่กับผลึกของเม็ดแป้งนั้น (Onyango, 2005) สำหรับการย่อยของคาร์โบไฮเดรตในปลานิลนั้นมีผลกระทบหลายปัจจัยเช่น แหล่งที่มาของคาร์โบไฮเดรตนั้นๆ ขนาดของปลา รวมถึงความถี่ในการให้อาหารด้วย (El – Sayed, 2006) และสำหรับความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตของตัวปลาเองนั้นจะแปรเปลี่ยนตามขนาดและอายุของปลา (Shiau, 1997). โดยทั่วไปแล้วปลานิลมีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ประมาณ 35 – 45% (El – Sayed, 2006) การใช้ประโยชน์ได้ของแป้งในปลานิลนอกจากผลจากอาหารแล้ว ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่าง คือ การพัฒนาการทางด้านสรีรวิทยาของปลา จากการศึกษาของ Tung and Yen (1993) พบว่าปลา

นิลที่ขนาดต่างกันคือ 4.55 และ 0.46 กรัม ปลาขนาดใหญ่ที่ได้รับอาหารผสมกลูโคสมีการเจริญเติบโต น้ำหนักเพิ่ม การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การสะสมโปรตีน และพลังงานดีกว่าในปลาขนาดเล็ก ซึ่งผลที่ได้นี้ก็คล้ายกับการให้อาหารที่มีส่วนผสมของแป้งสูงเช่นกัน (Webster and Lim, 2002) มีความคาดหวังที่จะให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้ง ซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตเพียงแหล่งเดียวมีค่าประมาณ 70 – 80 % แต่ประสิทธิภาพการย่อยได้ก็ยังมีค่าต่ำกว่า 50 % ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้ง ขึ้นอยู่กับกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ซึ่งมีความจำเพาะกับชนิดของปลา (Guillaume *et al.*, 2001) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวน่าจะเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งที่แตกต่างกัน นอกจากผลของกิจกรรมของเอนไซม์ และอวัยวะที่เกิดการย่อยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งแล้ว ตัววัตถุดิบแหล่งแป้ง ชนิด และแหล่งที่มาของแป้ง รวมถึงคุณลักษณะที่แตกต่างกันของแป้งแต่ละชนิดมีผลต่อการย่อยได้ของแป้งในปลานิลด้วย ปัจจัยที่ผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งที่มาจากวัตถุดิบคือสัดส่วนของ amylose และ amylopectin และขนาดของเม็ดแป้งด้วย amylose บริสุทธิ์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ amylase ได้ง่ายกว่า amylopectin แต่ด้วยลักษณะของผลึกโครงสร้างของเม็ดแป้งซึ่งไม่ว่าต่อการตอบสนองต่อเอนไซม์ amylase ด้วยเหตุนี้เองประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งจึงมีค่าลดลงเมื่อสัดส่วนของ amylose เพิ่มขึ้น และเม็ดแป้งมีขนาดใหญ่ เม็ดแป้งที่ได้จากพืชหัว หรือราก จะมีขนาดใหญ่ และย่อยได้น้อยกว่าเม็ดแป้งที่ได้จากธัญพืช แต่การให้ความร้อน หรือการผ่านไอน้ำที่ร้อนจะทำหน้าที่ปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเม็ดแป้งทำให้สามารถถูกย่อยได้มากขึ้น ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่ากระบวนการ gelatinization นอกจากนี้บ่อยครั้งที่ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งจะมีค่าผกผันกลับกับขนาดของวัตถุดิบ (Guillaume *et al.*, 2001)

ปลานิลเป็นปลาจำพวก herbivorous ซึ่งมีการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่าปลาจำพวก carnivorous ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งในปลานิลมีค่าอยู่ที่ 35 – 40 % ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของแป้งในปลานิลได้แก่แหล่งของคาร์โบไฮเดรต วัตถุดิบอื่น ๆ ที่ใช้ในสูตรอาหาร ชนิดและขนาดของปลา รวมถึงความถี่ในการให้อาหาร มีการทดลองของ Lin and Shiau (1995) พบว่ากิจกรรมของ lipogenic เอนไซม์ ในตับของปลาที่ได้รับแป้งเป็นอาหารมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับกลูโคสเป็นอาหาร นอกจากนี้ขนาดของปลาที่แตกต่างกันมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยที่แตกต่างกันด้วย (El – Sayed, 2006) กิจกรรมของเอนไซม์ carbohydrase มีค่าตอบสนองต่อระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร เช่นในปลา *O. mossambicus* มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์ carbohydrase เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณแป้งในอาหาร สำหรับในปลานิล *O. niloticus* (Nile tilapia) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ carbohydrase มีค่าลดลงเมื่อระดับของแป้งใน

สูตรอาหารเพิ่มมากขึ้น แต่ระดับของ  $\alpha$  glucosidase และ  $\beta$  galactosidase มีค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งตอบสนองต่อระดับ lactose ในอาหารที่เพิ่มขึ้น กล่าวได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์ carbohydrase มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการกินอาหารของปลา (De Silva and Anderson, 1995)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งคาร์โบไฮเดรต โดยเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

| วัตถุดิบ             | TS <sup>*1</sup>         | SDS <sup>*1</sup>        | RDS <sup>*1</sup>        | RS <sup>*1</sup>         | ประสิทธิภาพการย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์) |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| <b>Amylase 0.3 U</b> |                          |                          |                          |                          |                                     |
| แป้งข้าวเจ้า         | 0.18 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 30.79 ± 0.46 <sup>a</sup>           |
| แป้งข้าวโพด          | 0.17 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 28.58 ± 1.16 <sup>b</sup>           |
| แป้งมันสำปะหลัง      | 0.16 ± 0.00 <sup>c</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>a</sup> | 27.97 ± 1.01 <sup>b</sup>           |
| P - value            | 0.0009                   | 0.2963                   | 0.0001                   | 0.3318                   | 0.0222                              |
| <b>Amylase 0.6 U</b> |                          |                          |                          |                          |                                     |
| แป้งข้าวเจ้า         | 0.19 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.07 ± 0.00 <sup>a</sup> | 32.29 ± 0.43 <sup>a</sup>           |
| แป้งข้าวโพด          | 0.19 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.07 ± 0.00 <sup>a</sup> | 29.05 ± 1.27 <sup>b</sup>           |
| แป้งมันสำปะหลัง      | 0.16 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.04 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.05 ± 0.00 <sup>b</sup> | 31.04 ± 1.20 <sup>ab</sup>          |
| P - value            | 0.0001                   | 0.4219                   | 0.0138                   | 0.0039                   | 0.0240                              |
| <b>Amylase 0.9 U</b> |                          |                          |                          |                          |                                     |
| แป้งข้าวเจ้า         | 0.18 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 32.42 ± 0.73 <sup>a</sup>           |
| แป้งข้าวโพด          | 0.18 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 0.06 ± 0.00 <sup>b</sup> | 31.74 ± 0.15 <sup>a</sup>           |
| แป้งมันสำปะหลัง      | 0.23 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.08 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.08 ± 0.00 <sup>a</sup> | 0.08 ± 0.00 <sup>a</sup> | 31.51 ± 0.35 <sup>a</sup>           |
| P - value            | 0.0001                   | 0.0001                   | 0.0001                   | 0.0007                   | 0.1313                              |

ตารางที่ 14 (ต่อ)

| วัตถุดิบ        | TS <sup>*1</sup> | SDS <sup>*1</sup> | RDS <sup>*1</sup> | RS <sup>*1</sup> | ประสิทธิภาพการย่อยได้ (เปอร์เซ็นต์) |
|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|
| Amylase 1.2 U   |                  |                   |                   |                  |                                     |
| แป้งข้าวเจ้า    | 0.17 ± 0.00 b    | 0.05 ± 0.00 b     | 0.06 ± 0.00 b     | 0.06 ± 0.00 b    | 32.73 ± 0.59 a                      |
| แป้งข้าวโพด     | 0.24 ± 0.00 a    | 0.08 ± 0.00 a     | 0.07 ± 0.00 a     | 0.08 ± 0.00 a    | 32.31 ± 1.51 a                      |
| แป้งมันสำปะหลัง | 0.18 ± 0.00 b    | 0.06 ± 0.00 b     | 0.06 ± 0.00 b     | 0.06 ± 0.00 b    | 33.32 ± 0.64 a                      |
| P - value       | 0.0001           | 0.0017            | 0.0012            | 0.0024           | 0.5086                              |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* ที่ความเข้มข้นเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup>TS - Total Starch

<sup>\*1</sup>SDS - Slowly Digestible Starch

<sup>\*1</sup>RDS - Rapidly Digestible Starch

<sup>\*1</sup>RS - Resistant Starch

ความสามารถในการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ amylase ตั้งคราะหมีประสิทธิภาพสูงสุด ( $P < 0.05$ ) ในแป้งข้าวเจ้า เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้น 0.3 และ 0.6 U แต่ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.9 และ 1.2 U พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติในแป้งแต่ละชนิด ( $P > 0.05$ ) ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งข้าวเจ้ามีค่าอยู่ในช่วง 31 – 33 %, แป้งข้าวโพดมีค่าอยู่ในช่วง 32 % และแป้งมันสำปะหลังมีค่าอยู่ในช่วง 28 – 33 %

### ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน ได้แก่ น้ำมันพืช และน้ำมันปลา โดยเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม แสดงในตาราง ที่ 15

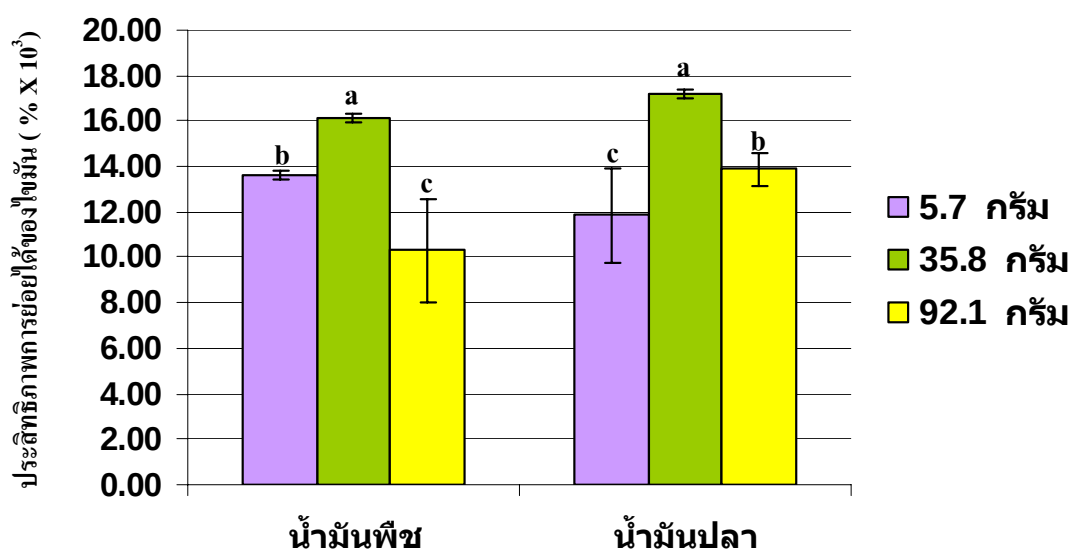
ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน โดยเอนไซม์ ที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

| วัตถุดิบ         | Triglyceride of oil<br>(mmol/mL) | Triglyceride remainder of oil<br>(mmol/mL) | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>5.7 กรัม</b>  |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช        | $10.89 \pm 0.08^a$               | $4.20 \pm 0.18^a$                          | $54.79 \pm 0.54^a$                     |
| น้ำมันปลา        | $6.84 \pm 0.10^b$                | $3.09 \pm 0.08^b$                          | $51.37 \pm 1.45^b$                     |
| <i>P</i> - value | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0489                                 |
| <b>35.8 กรัม</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช        | $10.89 \pm 0.08^a$               | $5.27 \pm 0.32^a$                          | $57.42 \pm 1.43^b$                     |
| น้ำมันปลา        | $6.84 \pm 0.10^b$                | $3.19 \pm 0.48^b$                          | $61.16 \pm 2.06^a$                     |
| <i>P</i> - value | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0465                                 |
| <b>92.1 กรัม</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช        | $10.89 \pm 0.08^a$               | $3.26 \pm 0.07^b$                          | $34.60 \pm 5.39^b$                     |
| น้ำมันปลา        | $6.84 \pm 0.10^b$                | $4.72 \pm 1.07^a$                          | $50.18 \pm 1.10^a$                     |
| <i>P</i> - value | 0.0001                           | 0.0075                                     | 0.0176                                 |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของปลาขนาดเดียวกัน ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อแยกศึกษาโดยพิจารณาจากขนาดของปลา พบว่า ปลาขนาด 5.7 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยไขมันในน้ำมันพืชได้ดีกว่าน้ำมันปลา ( $P < 0.05$ ) เมื่อพิจารณาถึงคุณสมบัติของน้ำมันพืช พบว่า น้ำมันพืชถึงแม้จะไม่มี HUFAs แต่น้ำมันพืชมี กรดไขมันจำเป็นที่สำคัญเช่น linoleic acid และ linolenic acid ที่ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็น HUFAs ได้ในปลาน้ำจืด (Webster and Lim, 2002)

ซึ่งอาจเหมาะสมต่อการย่อยของเอนไซม์ lipase ในปลาขนาด 5.7 กรัม ผลที่ได้นี้คล้ายกับการทดลองในปลานิลชนิด blue tilapia ที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันถั่วเหลืองมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของกรดไขมัน linoleic acid และในปลานิล *O. niloticus* ที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันปลา (pollock liver oil) พบว่าการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันข้าวโพด หรือน้ำมันถั่วเหลืองในอาหาร (Webster and Lim, 2002) สำหรับปลาขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม พบประสิทธิภาพการย่อยไขมันในน้ำมันปลามีค่าสูงกว่าค่าที่พบในน้ำมันพืช ( $P < 0.05$ ) ทั้งนี้ น้ำมันปลาเป็นน้ำมันที่สามารถย่อยได้ดีมีส่วนประกอบของ HUFAs สูง และกรดไขมันจำพวก PUFA จะถูกย่อยได้ดี และน้ำมันปลาเป็นน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง มีจุดเดือดต่ำซึ่งไขมันที่มีจุดเดือดต่ำ เป็นไขมันที่ปลาสามารถย่อยได้ดี ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันมีค่าสูง ( $ADC > 95\%$ ) ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับการทดลองในปลานิล Nile tilapia ที่ได้รับน้ำมันปลาที่ผลิตจาก ตับปลา cod ซึ่งมีระดับของกรดไขมันชนิด 22:6n-3 สูง มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลเพิ่มขึ้น (Webster and Lim, 2002)



ภาพที่ 21 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในวัตถุดิบแหล่งไขมันของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม

ความสามารถในการย่อยได้ของไขมันทั้งในน้ำมันพืช และน้ำมันปลาของเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิล มีค่าแตกต่างกันในปลาแต่ละขนาด ( $P < 0.05$ ) แสดงในภาพที่ 21 โดยพบว่าปลานิลขนาด 5.7 และ 35.8 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในน้ำมันพืชสูงกว่าใน

ปลาขนาด 92.1 กรัม ( $P<0.05$ ) สำหรับประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในน้ำมันปลาพบมีค่าสูงในปลาขนาด 35.8 กรัม ( $P<0.05$ ) จากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่าปลาขนาด 35.8 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันสูงสุดทั้งในน้ำมันพืช และน้ำมันปลา ส่วนปลาขนาด 92.1 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันสูงสุดในน้ำมันปลา และปลาขนาด 5.7 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันสูงสุดในน้ำมันพืช ( $P<0.05$ )

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* ในวัตถุดิบแหล่งไขมันได้แก่ น้ำมันพืช และน้ำมันปลา โดยเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Thermomyces lanuginosus* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vitro* (เปอร์เซ็นต์) ในวัตถุดิบแหล่งไขมัน โดยเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Thermomyces lanuginosus* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

| วัตถุดิบ           | Triglyceride of oil<br>(mmol/mL) | Triglyceride remainder of oil<br>(mmol/mL) | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|--------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>Lipase 15 U</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช          | $6.84 \pm 0.10^b$                | $6.03 \pm 0.18^b$                          | $11.99 \pm 1.20^b$                     |
| น้ำมันปลา          | $10.89 \pm 0.08^a$               | $9.01 \pm 0.32^a$                          | $19.05 \pm 1.61^a$                     |
| <i>P</i> - value   | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0001                                 |
| <b>Lipase 30 U</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช          | $6.84 \pm 0.10^b$                | $5.84 \pm 0.21^b$                          | $14.73 \pm 1.87^b$                     |
| น้ำมันปลา          | $10.89 \pm 0.08^a$               | $6.55 \pm 0.09^a$                          | $39.78 \pm 0.43^a$                     |
| <i>P</i> - value   | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0001                                 |
| <b>Lipase 45 U</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช          | $6.84 \pm 0.10^b$                | $5.24 \pm 0.08^b$                          | $23.43 \pm 0.46^b$                     |
| น้ำมันปลา          | $10.89 \pm 0.08^a$               | $6.11 \pm 0.11^a$                          | $43.87 \pm 0.94^a$                     |
| <i>P</i> - value   | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0001                                 |
| <b>Lipase 60 U</b> |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช          | $6.84 \pm 0.10^b$                | $5.04 \pm 0.11^b$                          | $26.30 \pm 0.74^b$                     |
| น้ำมันปลา          | $10.89 \pm 0.08^a$               | $5.37 \pm 0.06^a$                          | $50.69 \pm 0.41^a$                     |
| <i>P</i> - value   | 0.0001                           | 0.0001                                     | 0.0001                                 |

ตารางที่ 16 (ต่อ)

| วัตถุดิบ    | Triglyceride of oil<br>(mmol/mL) | Triglyceride remainder of oil<br>(mmol/mL) | ประสิทธิภาพการย่อยได้<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|-------------|----------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|
| Lipase 75 U |                                  |                                            |                                        |
| น้ำมันพืช   | $6.84 \pm 0.10b$                 | $3.97 \pm 0.26b$                           | $41.99 \pm 3.22b$                      |
| น้ำมันปลา   | $10.89 \pm 0.08a$                | $5.61 \pm 0.74 a$                          | $53.32 \pm 0.70a$                      |
| P - value   | 0.0001                           | 0.0005                                     | 0.0001                                 |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Thermomyces lanuginosus* ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ความสามารถในการย่อยได้ของไขมันทั้งในน้ำมันพืช และน้ำมันปลาของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Thermomyces lanuginosus* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีค่าแตกต่างกัน ( $P < 0.05$ ) ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยได้ของน้ำมันพืชมีค่าอยู่ในช่วง 12 – 42 % และน้ำมันปลามีค่าอยู่ในช่วง 19 – 53 % ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในน้ำมันปลามีค่าสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) น้ำมันพืช ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมันปลาเป็นน้ำมันที่สามารถย่อยได้ดีมีส่วนประกอบของ HUFAs สูง (Webster and Lim, 2002) กรดไขมันที่องค์ประกอบของ HUFAs สูงเป็นกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงจะมีประสิทธิภาพการย่อยได้สูงด้วย (Guillaume., 2001) นอกจากนี้ความยาวของสายโซ่กรดไขมัน ก็มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันในปลาด้วย โดยไขมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวที่มีสายโซ่ยาว หรือมีปริมาณสายโซ่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันจะลดลง (Guillaume *et al.*, 2001)

**การทดลองที่ 3 ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ระดับ 0.02 U ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อ การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และสุขภาพของปลานิล ขนาด 29 กรัม**

**การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหาร**

การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่เสริมเอนไซม์ และเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U ในปลาขนาด 29 กรัม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน แสดงในตารางที่ 17 และ 18

**ตารางที่ 17 การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 60 วัน**

| กลุ่มทดลอง                                                                | การเจริญเติบโต และอัตราการรอด |                             |                             |                                          |                                                        |                                  |
|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------|
|                                                                           | น้ำหนักเริ่มต้น<br>(กรัม)     | น้ำหนักสุดท้าย<br>(กรัม)    | น้ำหนักเพิ่ม<br>(กรัม)      | น้ำหนักเพิ่มต่อ<br>วัน<br>(กรัม/ตัว/วัน) | อัตราการ<br>เจริญเติบโต<br>จำเพาะ<br>(เปอร์เซ็นต์/วัน) | อัตราการ<br>รอด<br>(เปอร์เซ็นต์) |
| กลุ่มควบคุม                                                               | 29.00 ± 1.73 <sup>a</sup>     | 203.33 ± 5.77 <sup>a</sup>  | 174.33 ± 6.80 <sup>a</sup>  | 2.90 ± 0.10 <sup>a</sup>                 | 3.25 ± 0.12 <sup>a</sup>                               | 83.33 ± 9.23 <sup>a</sup>        |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น<br>ด้วยกากถั่วเหลือง 50%                                 | 29.33 ± 1.15 <sup>a</sup>     | 160.00 ± 10.00 <sup>b</sup> | 130.66 ± 10.06 <sup>b</sup> | 2.17 ± 0.16 <sup>b</sup>                 | 2.82 ± 0.12 <sup>c</sup>                               | 87.00 ± 1.41 <sup>a</sup>        |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น<br>ด้วยกากถั่วเหลือง 75%                                 | 28.33 ± 1.15 <sup>a</sup>     | 175.33 ± 8.38 <sup>b</sup>  | 147.00 ± 7.81 <sup>b</sup>  | 2.45 ± 0.13 <sup>b</sup>                 | 3.04 ± 0.07 <sup>abc</sup>                             | 84.00 ± 11.31 <sup>a</sup>       |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น<br>ด้วยกากถั่วเหลือง<br>100%                             | 29.66 ± 1.52 <sup>a</sup>     | 176.66 ± 5.77 <sup>b</sup>  | 147.00 ± 7.00 <sup>b</sup>  | 2.45 ± 0.11 <sup>b</sup>                 | 2.97 ± 0.13 <sup>bc</sup>                              | 77.33 ± 4.61 <sup>a</sup>        |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น<br>ด้วยกากถั่วเหลือง 50%<br>+ เอนไซม์ protease<br>0.02 U | 29.33 ± 1.52 <sup>a</sup>     | 196.00 ± 9.64 <sup>a</sup>  | 166.66 ± 11.01 <sup>a</sup> | 2.78 ± 0.18 <sup>a</sup>                 | 3.16 ± 0.16 <sup>ab</sup>                              | 86.66 ± 6.42 <sup>a</sup>        |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น<br>ด้วยกากถั่วเหลือง 75%<br>+ เอนไซม์ protease<br>0.02 U | 29.00 ± 1.00 <sup>a</sup>     | 204.33 ± 5.13 <sup>a</sup>  | 175.33 ± 5.50 <sup>a</sup>  | 2.92 ± 0.09 <sup>a</sup>                 | 3.25 ± 0.08 <sup>a</sup>                               | 85.00 ± 4.24 <sup>a</sup>        |

ตารางที่ 17 (ต่อ)

| กลุ่มทดลอง                                             | การเจริญเติบโต และอัตราการรอด |                             |                             |                                          |                                                        |                              |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------|
|                                                        | น้ำหนักเริ่มต้น<br>(กรัม)     | น้ำหนักสุดท้าย<br>(กรัม)    | น้ำหนักเพิ่ม<br>(กรัม)      | น้ำหนักเพิ่มต่อ<br>วัน<br>(กรัม/ตัว/วัน) | อัตราการ<br>เจริญเติบโต<br>จำเพาะ<br>(เปอร์เซ็นต์/วัน) | อัตราการรอด<br>(เปอร์เซ็นต์) |
| กลุ่มทดแทนปลาป่น                                       |                               |                             |                             |                                          |                                                        |                              |
| ด้วยกากถั่วเหลือง<br>100% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U | 28.33 ± 0.57 <sup>a</sup>     | 176.66 ± 15.27 <sup>b</sup> | 148.33 ± 14.84 <sup>b</sup> | 2.47 ± 0.24 <sup>b</sup>                 | 3.04 ± 0.12 <sup>abc</sup>                             | 87.33 ± 2.05 <sup>a</sup>    |
| P - value                                              | 0.8217                        | 0.0002                      | 0.0003                      | 0.0003                                   | 0.0063                                                 | 0.7820                       |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสคมภ์ ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การเจริญเติบโตศึกษาจากค่าน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จากการทดลองพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับกลุ่มควบคุม และมีค่าสูงกว่าปลากลุ่มอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันนั้นเนื่องมาจากปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ทุกระดับ จะได้รับโปรตีนในปลาป่นและในกากถั่วเหลืองอย่างเต็มที่ เนื่องจากเอนไซม์ protease ที่เสริมในอาหารจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร ทำให้สามารถย่อยโปรตีนทั้งในปลาป่น และกากถั่วเหลืองได้เพิ่มขึ้น นำโปรตีนในอาหารมาใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้ดี ส่งผลให้การเจริญเติบโตมีค่าเป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม ซึ่งตรงกันข้ามกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับ แต่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ protease ในสูตรอาหาร เนื่องจากปลาขนาดดังกล่าวมีความสามารถในการย่อยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองได้น้อย นอกจากนี้กากถั่วเหลืองยังขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น methionine และ lysine เป็นต้น ส่งผลให้ปลาใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองได้ไม่ดี และใช้ประโยชน์จากโปรตีนในปลาป่นเป็นส่วนใหญ่ ทำให้ปลามีโปรตีนไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในขบวนการเจริญเติบโต ส่งผลให้การเจริญเติบโตน้อยกว่าปลาในกลุ่มอื่นๆ สำหรับอัตราการเจริญเติบโตต่อวันในปลานิลโดยทั่วไปมีค่าอยู่ในช่วง 0.18 – 1.06 กรัม/วัน (Badwy *et al.*, 2008; Magouz *et al.*, 2008; Hakim *et al.*, 2008)

เมื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U มีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างทางสถิติกับปลากลุ่มควบคุม ( $P > 0.05$ ) แต่มีค่าสูงกว่าในปลากลุ่มอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ  $3.25 \pm 0.08$  เปอร์เซ็นต์/วัน ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้ปลากลุ่มนี้ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าในปลากลุ่มอื่น และมีค่าใกล้เคียงกับปลากลุ่มควบคุมนอกจากปัจจัยที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว อาจเกิดมาจากปัจจัยที่เกี่ยวกับประสิทธิภาพของอาหาร รวมถึงประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ปลาในกลุ่มนี้มีค่าสูงกว่าค่าที่พบในปลากลุ่มอื่นๆ นอกจากปัจจัยนี้ อาจเกิดจากความสมดุลของกรดอะมิโนที่ได้จากปลาป่น และกากถั่วเหลืองที่อัตราส่วนทดแทนดังกล่าว หลังจากมีการเสริมเอนไซม์ protease แล้ว เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Fasakin *et al.* (2005) ที่มีการใช้ความร้อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลือง เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองแบบให้ความร้อนที่ระยะเวลาที่ต่างกันเป็นอาหารซึ่งทดลองในปลานิลขนาด 2.56 กรัม โปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 37.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 45 วัน น้ำหนักปลาสุดท้ายประมาณ 26 กรัม ซึ่งการศึกษการให้ความร้อนกับกากถั่วเหลือง ใช้ระยะเวลาที่ 0 – 30 นาที ผลการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองให้ความร้อนนาน 30 นาที มีค่าสูงสุด และค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าอยู่ในช่วง 5.09 – 5.90 เปอร์เซ็นต์/วัน กากถั่วเหลืองถูกย่อยได้มากขึ้น จะมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในปลานิลครั้งนี้ที่พบว่าเมื่อปลาสามารถย่อยกากถั่วเหลืองได้มากขึ้น จะส่งผลให้การเจริญเติบโตของปลาเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยพืชโปรตีน (Fontainhas *et al.*, 1999) โดยศึกษาในปลานิลขนาด 6.7 กรัม ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนเท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 120 วัน น้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 61 กรัม จากการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยพืชโปรตีนซึ่งได้แก่กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 33, 66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ในช่วง 2.03 – 2.50 เปอร์เซ็นต์/วัน จากการทดลองของ Fontainhas *et al.* (1999) ซึ่งทดลองทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์ดังนั้นเมื่อมีการทดแทนที่ระดับสูงขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะก็จะลดลง ซึ่งคล้ายกับการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่น้อยกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ นอกจากการ

ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ protease และให้ความร้อนแล้ว ยังมีการศึกษาของ Biswas *et al.* (2007) ซึ่งศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองที่ผสมเอนไซม์ phytase เพื่อทดแทนปลาป่นบางส่วนในปลา red sea bream ขนาด 24 กรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ได้น้ำหนักสุดท้ายเป็น 60 กรัม จากการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองผสมเอนไซม์ phytase มีค่าดีกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแต่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ phytase ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าอยู่ในช่วง 1.9 – 2.3 เปอร์เซ็นต์/วัน ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองในปลานิลครั้งนี้ที่พบว่า การเสริมเอนไซม์ในอาหารเพื่อให้ใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองได้มากขึ้น มีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตในปลานิลได้

นอกจากการศึกษากการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแล้วยังมีการศึกษากการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบชนิดอื่นๆ อีกเช่น การทดลองของ Ahmad and Daib (2008) ซึ่งศึกษาการใช้ okara ซึ่งเป็นส่วนของกากเหลือจากขบวนการทำนมถั่วเหลือง และเต้าหู้ ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร โดยทำการทดแทนที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองในปลาเริ่มต้นขนาด 30 กรัม เป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ ใช้อาหารทดลองที่ระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในปลาทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.12 – 1.13 เปอร์เซ็นต์/วัน

การศึกษากการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองนอกจากจะศึกษาในปลานิลแล้ว ยังมีการศึกษาในปลาชนิดอื่นอีกด้วย เช่น การศึกษาของ Wang *et al.* (2006) ศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญเติบโต ในปลา cuneate drum (*Nibea miichthioides*) ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และให้อาหารที่ระดับโปรตีนเท่ากับ 39 เปอร์เซ็นต์ โดยปลาขนาดเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 29 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักสุดท้ายของปลามีค่าอยู่ในช่วง 90.2 – 152.2 กรัม จากการศึกษาพบว่าปลากลุ่มควบคุมมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือปลากลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของปลามีค่าผกผันกับปริมาณที่เพิ่มขึ้นของกากถั่วเหลืองในสูตรอาหาร อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าอยู่ในช่วง 2.01 – 2.86 เปอร์เซ็นต์/วัน ผลการศึกษาของ Wang *et al.* (2006) นี้คล้ายกับผลที่ได้จากการทดลองในปลานิลที่พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่เสริมเอนไซม์มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่น้อยกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบ

ผสมเอนไซม์ และการเจริญเติบโตจะลดลง เมื่อมีการทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับการทดแทนสูงขึ้น

ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ในปลานิลขนาด 6 – 30 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 0.62 – 1.56 เปอร์เซ็นต์/วัน (Ergün *et al.*, 2008; Zead *et al.*, 2008; Magouz *et al.*, 2008; Badwy *et al.*, 2008) ปลานิลขนาด 17 – 179 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 1.28 – 2.56 เปอร์เซ็นต์/วัน (Leenhouders *et al.*, 2007; Azaza *et al.*, 2008; Hakim *et al.*, 2008) ปลานิลขนาด 200 กรัมขึ้นไปมีค่าดังกล่าวประมาณ 1.21 เปอร์เซ็นต์/วัน (Papoutsoglou *et al.*, 2001) หรือปลาชนิดอื่นเช่น blue tilapia และ scale carp ที่มีขนาด 200 กรัม ขึ้นไป มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะประมาณ 0.88 เปอร์เซ็นต์/วัน (Papoutsoglou *et al.*, 2001) ปลา hybrid tilapia ขนาด 4 – 36 กรัม มีค่าดังกล่าวประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์/วัน (Fasakin *et al.*, 2005) และปลา hybrid tilapia ขนาด 31 – 400 กรัม ขึ้นไปมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอยู่ในช่วง 1.84 – 1.93 เปอร์เซ็นต์/วัน (Bahurmiz and Ng, 2007) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในปลา Mangrove red snapper ถึงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในปลาขนาด 30 กรัม ขึ้นไป โดยค่าดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 2.39 เปอร์เซ็นต์/วัน (Amil *et al.*, 2007) สำหรับปลาอีสกเทศขนาด 200 กรัม ขึ้นไป มีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 0.45 – 0.54 เปอร์เซ็นต์/วัน (Kaur and Saxena, 2005) สำหรับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ศึกษาในการทดลองนี้ มีค่าค่อนข้างสูงกว่า ค่าของการทดลองอื่นเล็กน้อย ซึ่งเกิดจากอาหารที่ปลาได้รับแตกต่างกัน

อัตราการรอดของปลาจากการทดลองในครั้งนี้พบว่าในแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของอาหารซึ่งได้แก่ ค่าปริมาณอาหารที่กิน (FI) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCE) ประสิทธิภาพของโปรตีน (PER) และค่าการใช้ประโยชน์ได้สุทธิของโปรตีน (NPU) พบว่าปลากลุ่มควบคุมมีปริมาณอาหารที่กินสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U มีค่าดังกล่าวน้อยที่สุด ( $P < 0.05$ ) แต่เมื่อศึกษาค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 1.31 เนื่องจากปลากลุ่มดังกล่าวสามารถนำโปรตีนในอาหารซึ่งได้จากปลาปน และกากถั่วเหลืองมาใช้ประโยชน์ได้

อย่างสมบูรณ์ จากการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหาร ซึ่งมีผลให้การย่อยโปรตีนทั้งจากปลาป่น และกากถั่วเหลืองสูงขึ้น ส่งผลให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนในวัตถุดิบทั้งสองชนิดในการสะสมเป็นกล้ามเนื้อ และใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลากลุ่มนี้ที่พบว่ามีค่าสูงกว่าปลากลุ่มอื่น ๆ จึงส่งผลให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าดีที่สุด ( $P < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เนื่องจากค่าดังกล่าวจะมีค่าไปในแนวทางเดียวกับค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

**ตารางที่ 18** ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของอาหาร และประสิทธิภาพของโปรตีนของอาหารสูตรต่าง ๆ ที่ปลานิลได้รับที่ระยะเวลา 60 วัน

| กลุ่มทดลอง                                                             | ประสิทธิภาพของอาหาร                 |                                   |                                         |                      |                                                          |
|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|
|                                                                        | ปริมาณอาหารที่กิน<br>(กรัม/ตัว/วัน) | อัตราการเปลี่ยนอาหาร<br>เป็นเนื้อ | ประสิทธิภาพการเปลี่ยน<br>อาหารเป็นเนื้อ | ประสิทธิภาพของโปรตีน | การใช้ประโยชน์<br>ได้ของโปรตีน<br>สุทธิ<br>(เปอร์เซ็นต์) |
| กลุ่มควบคุม                                                            | $5.31 \pm 0.19^a$                   | $1.83 \pm 0.01^{ab}$              | $54.64 \pm 0.40^{dc}$                   | $1.74 \pm 0.01^{cd}$ | $13.75 \pm 0.54^a$                                       |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50%                              | $4.17 \pm 0.17^{bc}$                | $1.92 \pm 0.07^a$                 | $52.16 \pm 1.90^c$                      | $1.64 \pm 0.05^c$    | $4.84 \pm 0.38^c$                                        |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75%                              | $4.16 \pm 0.28^{bc}$                | $1.70 \pm 0.02^b$                 | $58.84 \pm 0.943^c$                     | $1.84 \pm 0.02^c$    | $14.07 \pm 0.96^a$                                       |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100%                             | $4.29 \pm 0.38^{bc}$                | $1.75 \pm 0.10^b$                 | $57.23 \pm 3.35^c$                      | $1.83 \pm 0.10^c$    | $11.47 \pm 0.97^b$                                       |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | $4.82 \pm 0.59^{ab}$                | $1.73 \pm 0.10^b$                 | $57.90 \pm 3.50^c$                      | $1.85 \pm 0.11^c$    | $12.12 \pm 1.82^{ab}$                                    |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | $3.83 \pm 0.25^c$                   | $1.31 \pm 0.05^d$                 | $76.36 \pm 2.95^a$                      | $2.45 \pm 0.09^a$    | $13.66 \pm 0.88^a$                                       |

ตารางที่ 18 (ต่อ)

| กลุ่มทดลอง                                                              | ประสิทธิภาพของอาหาร                     |                                       |                                             |                          |                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------|
|                                                                         | ปริมาณ<br>อาหารที่กิน<br>(กรัม/ตัว/วัน) | อัตราการ<br>เปลี่ยนอาหาร<br>เป็นเนื้อ | ประสิทธิภาพ<br>การเปลี่ยน<br>อาหารเป็นเนื้อ | ประสิทธิภาพ<br>ของโปรตีน | การใช้ประโยชน์<br>ได้ของโปรตีน<br>สุทธิ<br>(เปอร์เซ็นต์) |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | $3.88 \pm 0.38^c$                       | $1.57 \pm 0.07^c$                     | $63.69 \pm 3.12^b$                          | $2.03 \pm 0.09^{ab}$     | $13.98 \pm 1.34^a$                                       |
| P - value                                                               | 0.0014                                  | 0.0001                                | 0.0001                                      | 0.0001                   | 0.0001                                                   |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาทดลองของ Fasakin *et al.* (2005) ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้ผลผลิตของสัตว์ร่วมกับกากถั่วเหลือง และใช้กากถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว ซึ่งทดลองในปลา hybrid tilapia ขนาดปลาเริ่มต้น 1.93 และ 4.64 กรัม และได้น้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 10.39 และ 35.74 กรัม ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 และ 56 วัน ระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าเท่ากับ 1.24 – 1.69 ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในช่วงเดียวกับผลที่ศึกษาในปลานิลในการทดลองนี้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Azaza *et al.* (2008) ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองแบบให้ความร้อนที่ระยะเวลาที่ต่างกันเป็นอาหารในปลานิลขนาด 2.56 กรัม โปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 37.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 45 วัน การให้ความร้อนกับกากถั่วเหลือง ใช้ระยะเวลาที่ 0 – 30 นาที จากผลการศึกษาของ Azaza *et al.* (2008) พบว่าค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนนาน 30 นาที มีค่าดังกล่าวดีที่สุด โดยมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อยู่ในช่วง 1.32 – 1.63 ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับการทดลองนี้ที่พบว่า การเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองมีผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าดีขึ้น

Biswas *et al.* (2007) ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองที่ผสมเอนไซม์ phytase เพื่อทดแทนปลาป่นบางส่วนในอาหารปลา red sea bream ขนาด 60 กรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า

ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าอยู่ในช่วง 74.4 – 82.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับผลที่ได้จากการทดลองในปลานิลในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ นอกจากนี้จากการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแล้วยังมีการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบชนิดอื่นๆ อีกเช่น การทดลองของ Ahmad and Daib (2008) ซึ่งศึกษาการใช้ okara ซึ่งเป็นส่วนของกากเหลือจากขบวนการทำนมถั่วเหลือง และเต้าหู้ ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร โดยทำการทดแทนที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองในปลาเริ่มต้นขนาด 30 กรัม เป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ ใช้อาหารทดลองที่ระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่า อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ของปลาทุกชุดทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 2.01 – 2.08 และ 48.03 – 49.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ protease มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์ protease สำหรับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลขนาด 17 – 179 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 1.04 – 1.79 (Azaza *et al.*, 2008; Leenhouders *et al.*, 2007; Hakim *et al.*, 2008) และปลานิลขนาด 16 - 45 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 2.20 – 2.68 (Zead *et al.*, 2008; Badwy *et al.*, 2008; Magouz *et al.*, 2008; Ergün *et al.*, 2008) ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อใกล้เคียงกับการทดลองอื่นๆ

ค่าประสิทธิภาพของโปรตีน หรือค่า Protein Efficiency Ratio (PER) เป็นค่าที่ศึกษาถึงคุณภาพของแหล่งโปรตีนในอาหารที่ให้กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่สัตว์ว่ามีความเหมาะสม หรือมีคุณภาพหรือไม่ (De Silva and Anderson, 1995) ซึ่งจากการทดลองพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าดังกล่าวสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 2.45 แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารทดลองชุดดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงสุด ปลาสามารถนำโปรตีนในอาหารไปใช้ได้อย่างสูงสุด จึงส่งผลให้ค่าดังกล่าว และการเจริญเติบโตของปลามีค่าสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Fasakin *et al.* (2005) ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้ผลผลิตของสัตว์ร่วมกับกากถั่วเหลือง และการใช้กากถั่วเหลืองล้วนซึ่งศึกษาในปลา hybrid tilapia ขนาดปลาเริ่มต้น 1.93 และ 4.64 กรัม และน้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 10.39 และ 35.74 กรัม ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 และ 56 วัน ระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ที่พบว่าค่า

ประสิทธิภาพของโปรตีนมีค่าเท่ากับ 2.17 – 2.50 ซึ่งค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการทดลองในปลานิลในการศึกษาครั้งนี้ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Azaza *et al.* (2008) ที่ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองแบบให้ความร้อนที่ระยะเวลาที่ต่างกันเป็นอาหารซึ่งทดลองในปลานิลขนาด 2.56 กรัม โปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 37.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 45 วัน การศึกษาการให้ความร้อนกับกากถั่วเหลือง ใช้ระยะเวลาที่ 0 – 30 นาที จากผลการศึกษาพบว่าค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนนาน 30 นาที มีค่าดีที่สุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.20 – 1.65 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองในปลานิลครั้งนี้ ค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารของปลานิลขนาด 30 – 100 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 0.82 – 2.18 (Ng *et al.*, 2001; Ahmad and Daib, 2008) สำหรับปลานิลขนาด 16 – 45 กรัม มีค่าประสิทธิภาพของโปรตีนอยู่ในช่วง 1.11 – 1.71 (Zead *et al.*, 2008; Badwy *et al.*, 2008; Magouz *et al.*, 2008; Hakim *et al.*, 2008; Ergün *et al.*, 2008) และปลานิลขนาด 26 – 400 กรัม มีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 1.11 – 2.93 (Fontainhas *et al.*, 1999; Azaza *et al.*, 2008; Bahurmiz and Ng, 2007)

สำหรับค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนสุทธิ หรือ ค่า Net Protein Utilization (NPU) เป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงการใช้ประโยชน์ได้จากโปรตีน เป็นค่าที่แสดงถึงคุณภาพของอาหาร (De Silva and Anderson, 1995) ซึ่งจากผลการทดลองก็พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U มีค่าดังกล่าวสูงเช่นกัน โดยมีค่าเท่ากับ 13.66 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากที่สัดส่วนการทดแทนดังกล่าว และมีการผสมเอนไซม์ protease มีผลให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนในอาหารได้เต็มที่ และสูงสุด จึงทำให้ค่า NPU ในปลากลุ่มดังกล่าวมีค่าสูงสุด ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบควบคู่กับ ค่า PER พบว่ามีค่าไปในทิศทางเดียวกัน โดยทั่วไปค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนสุทธิของปลานิลหรือปลา hybrid tilapia มีค่าอยู่ในช่วง 12.94 – 46.5 เปอร์เซ็นต์ (Ng *et al.*, 2001; Hakim *et al.*, 2008; Ergün *et al.*, 2008)

จากผลการทดลองทั้งด้านการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหารพบว่าอาหารชุดทดลองที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ให้ค่าการเจริญเติบโต และใช้ประโยชน์จากโปรตีน และอาหารได้ดีที่สุด ดังนั้นการทดแทนที่สัดส่วนดังกล่าว และมีการเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U จึงมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเลี้ยงปลานิลขนาด 29 กรัม มากที่สุด

### ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vivo* ในปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 19 พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยได้ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) สำหรับปลาในกลุ่มทดลองที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการผสมเอนไซม์มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนต่ำที่สุด ( $P < 0.05$ ) ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับการทดลองของ Skjaervik *et al.*, (2006) ที่ศึกษาเรื่องประสิทธิภาพการย่อยของอาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองในปลา Atlantic cod ขนาด 534 กรัม และ 1,750 กรัม ที่ระยะเวลา 48 วัน พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองมีผลต่อการลดลงของประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน ไขมัน พลังงาน และกรดอะมิโน และเมื่อแยกศึกษาถึงประสิทธิภาพการย่อยได้ของปลาป่น และกากถั่วเหลืองพบว่ามีค่าอยู่ที่ 87.5 และ 83.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพการย่อยได้โดยแยกส่วนของทางเดินอาหารเป็น 5 ส่วนพบว่าทางเดินอาหารส่วนปลาย หรือในส่วนที่เป็นส่วนท้ายของลำไส้ และส่วนที่เรียกว่า distal chamber ในปลา cod มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่าในส่วนของทางเดินอาหารส่วนต้น ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับผลของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่พบในการทดลองครั้งนี้ ที่กิจกรรมของเอนไซม์ protease มีค่าสูงในส่วนของลำไส้ส่วนปลาย จึงมีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีน ค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นมีค่าอยู่ในช่วง 73.6 – 89.1 เปอร์เซ็นต์ และ 71 – 85.9 เปอร์เซ็นต์ สำหรับประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลือง

**ตารางที่ 19** ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vivo* (เปอร์เซ็นต์) ในปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสม และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U

| กลุ่มทดลอง                                                          | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน (เปอร์เซ็นต์) |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| กลุ่มควบคุม                                                         | 83.420 ± 0.584 <sup>c</sup>                  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                               | 85.778 ± 0.397 <sup>ab</sup>                 |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                               | 84.988 ± 0.711 <sup>b</sup>                  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                              | 80.158 ± 1.625 <sup>d</sup>                  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 86.190 ± 0.695 <sup>a</sup>                  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 86.083 ± 0.816 <sup>a</sup>                  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | 82.372 ± 1.385 <sup>c</sup>                  |
| <i>P</i> - value                                                    | 0.0001                                       |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสครมภ์ ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease แสดงในตารางที่ 20

**ตารางที่ 20** เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vivo* (เปอร์เซ็นต์) ในอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสม และ ผสม เอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U

| กลุ่มทดลอง                            | ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน<br>(เปอร์เซ็นต์) |                                | P - value |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------|-----------|
|                                       | ผสมเอนไซม์                                      | ไม่ผสมเอนไซม์                  |           |
| กลุ่มทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลือง 50%  | 86.190 ± 0.695 <sup>a(a)</sup>                  | 85.778 ± 0.397 <sup>a(a)</sup> | 0.1468    |
| กลุ่มทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลือง 75%  | 86.083 ± 0.816 <sup>a(a)</sup>                  | 84.988 ± 0.711 <sup>a(b)</sup> | 0.0081    |
| กลุ่มทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลือง 100% | 82.372 ± 1.385 <sup>b(a)</sup>                  | 80.158 ± 1.625 <sup>b(b)</sup> | 0.0069    |
| P - value                             | 0.0001                                          | 0.0001                         |           |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมมุติที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ

ความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีตัวอักษรในวงเล็บกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ

ความเชื่อมั่น 95%

จากการศึกษานี้พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่สำหรับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) ปลากลุ่มไม่ผสมเอนไซม์ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Aslaksen *et al.* (2007) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหาร และลักษณะทางพยาธิวิทยาของปลา Atlantic salmon ที่ได้รับอาหารจำพวกพืชตระกูลถั่ว พืชน้ำมัน และธัญพืช ทดลองเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ โดยใช้ปลาขนาด 700 กรัม โดยวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองได้แก่ corn gluten, ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน กากเมล็ดทานตะวันสกัดน้ำมัน เม็ด lupin กะเทาะเปลือก rapeseed สกัดน้ำมัน ถั่วเมล็ดเต็ม ข้าวสาลี และข้าวโอ๊ตกะเทาะเปลือก ผลที่ได้คล้ายกับผลที่พบในการศึกษาในปลานิลครั้งนี้ที่พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนมีค่าลดลงเมื่อใช้อาหารที่ใช้กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน rapeseed สกัดน้ำมัน และ ข้าวโอ๊ตกะเทาะเปลือกโดยไม่มีการเสริมเอนไซม์ ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนและกรดอะมิโนมีค่าลดลงในอาหารที่ใช้กากเมล็ดทานตะวัน และ กาก rapeseed ส่วนใหญ่แล้วประสิทธิภาพการย่อยได้ที่ลดลงเมื่อใช้อาหารที่ได้จากพืชโปรตีน

มาจาก สารจำพวก anti - nutrition ที่อยู่ในพืชเหล่านั้น แต่นอกจากนี้ปัจจัยที่เกิดจากการเก็บรักษา อุณหภูมิ ก็มีผลต่อคุณภาพของพืชแหล่งโปรตีนเหล่านี้ด้วย

Riche *et al.* (2001) ทำการศึกษาลำไส้กับการทดลองในครั้งนี้ โดยศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนและ amino acid ในปลานิล (*O. niloticus*) ที่ได้รับกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ phytase เป็นอาหารในปลานิลขนาด 68 กรัม โดยการทดลองให้อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ โดยไม่ได้รับการย่อยด้วยเอนไซม์ก่อน มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนอยู่ในช่วง 80 – 83 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม กากถั่วเหลืองที่ได้รับกากย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนอยู่ในช่วง 79 – 85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่ได้คล้ายกับผลของการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าการใช้เอนไซม์เพิ่มในสูตรอาหารสามารถช่วยให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลืองมีค่าสูงขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนรวมในอาหารมีค่าสูงขึ้นด้วย

นอกจากการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากกากถั่วเหลืองโดยการใช้เอนไซม์แล้ว การให้ความร้อนก็มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลืองเช่นกัน จากการทดลองของ Azaza *et al.* (2008) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล (*O. niloticus*) ที่ได้รับอาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน โดยทดลองในปลานิลขนาด 2.45 กรัม จากการทดลองพบว่าค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนมีค่าสูงในปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ผ่านความร้อนเป็นระยะเวลานานที่สุด โดยค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ผ่านความร้อนที่ระยะเวลา 0 ถึง ระยะเวลา 30 นาที มีค่าอยู่ในช่วง 82.29 – 92.38 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Fontainhas *et al.* (1999) ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยพืชโปรตีนในอาหารปลานิลซึ่งศึกษาในปลานิลขนาด 6.7 กรัม ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน ซึ่งการทดลองใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นโปรตีนทดแทนที่ระดับ 33, 66 และ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่าปลากลุ่มควบคุมมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาคือปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชที่ระดับ 33 เปอร์เซ็นต์ และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด สำหรับประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบปลาป่นมีค่าเท่ากับ 96.9 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบกากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 94.4 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนที่พบจากการทดลองนี้มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลานิลขนาด 100 - 170 กรัม ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 72 – 89 เปอร์เซ็นต์ (Leenhouwers *et al.*, 2007; Hakim *et al.*, 2008; Azaza *et al.*, 2008) สำหรับปลานิลแดงขนาด 400 กรัม ขึ้นไปมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 83 – 85 เปอร์เซ็นต์ (Bahurmiz and Ng, 2007) สำหรับปลาช่อนเทศขนาด 11 กรัม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนอยู่ในช่วง 82 – 94 เปอร์เซ็นต์ (Bairagi, 2002) และปลาชนิดอื่น ๆ เช่น ปลา rainbow trout ขนาด 5 กรัม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนอยู่ในช่วง 88- 89 เปอร์เซ็นต์ (Hansen and Storebakken, 2007)

### ค่าโลหิตวิทยา และค่าทางเคมีของเลือด

ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยา และค่าทางเคมีของเลือดของปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 21

**ตารางที่ 21** ค่าทางโลหิตวิทยาของปลานิลเมื่อเริ่มการทดลอง (0 วัน) และ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (60 วัน)

| กลุ่มทดลอง                                                         | ค่าทางโลหิตวิทยา              |                                |                                |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                                                    | เม็ดเลือดแดง                  | ฮีมาโตคริต(HCT)                | ฮีโมโกลบิน                     |
|                                                                    | (RBC)                         | (%)                            | (HGB)                          |
|                                                                    | ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ) |                                | (g/dl)                         |
| เริ่มการทดลอง                                                      | 4.16 $\pm$ 1.23               | 36.41 $\pm$ 9.40               | 12.56 $\pm$ 1.24               |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                    |                               |                                |                                |
| กลุ่มควบคุม                                                        | 2.78 $\pm$ 0.37 <sup>c</sup>  | 21.11 $\pm$ 3.32 <sup>d</sup>  | 11.82 $\pm$ 1.33 <sup>b</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                              | 3.16 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>  | 23.85 $\pm$ 4.60 <sup>c</sup>  | 12.11 $\pm$ 1.45 <sup>b</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                              | 3.23 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>  | 25.97 $\pm$ 4.05 <sup>c</sup>  | 12.66 $\pm$ 1.37 <sup>ab</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                             | 3.34 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>  | 27.66 $\pm$ 4.34 <sup>b</sup>  | 12.67 $\pm$ 1.63 <sup>ab</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%<br>+ เอนไซม์ protease 0.02 U | 3.13 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>  | 23.22 $\pm$ 3.27 <sup>cd</sup> | 11.91 $\pm$ 1.01 <sup>b</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%<br>+ เอนไซม์ protease 0.02 U | 3.50 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>  | 28.85 $\pm$ 4.01 <sup>a</sup>  | 13.72 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>  |

ตารางที่ 21 (ต่อ)

| กลุ่มทดลอง                                                          | ค่าทางโลหิตวิทยา                       |                    |                    |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                                                                     | เม็ดเลือดแดง                           | ฮีมาโตคริต(HCT)    | ฮีโมโกลบิน         |
|                                                                     | (RBC)<br>( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ) | (%)                | (HGB)<br>(g/dl)    |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%<br>+ เอนไซม์ protease 0.02 U | $3.01 \pm 0.38^b$                      | $25.42 \pm 1.76^c$ | $10.37 \pm 1.50^c$ |
| P - value                                                           | 0.0012                                 | 0.0001             | 0.0002             |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางเคมีของเลือด เป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา และสุขภาพของปลาว่ามีการเปลี่ยนแปลง หรืออยู่ในสถานะใด ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสม และไม่ผสมเอนไซม์ protease มีค่าโลหิตวิทยา และ ค่าทางเคมีของเลือดแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งค่าโลหิตวิทยาของปลาได้แก่ ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) ค่าฮีมาโตคริต (HCT) และค่าฮีโมโกลบิน (HGB) ของปลามีอยู่ในช่วงปกติ ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกับการศึกษาอื่น ๆ เช่นการศึกษาฮีมาโตคริตในปลานิลขนาด 400 กรัม ขึ้นไป มีค่าประมาณ 36.7 เปอร์เซ็นต์ (Chen *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาค่าโลหิตวิทยาได้แก่ ค่าฮีโมโกลบิน และค่าฮีมาโตคริต ของปลา *O. mossambicus* ขนาด 60 – 80 กรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7 g/dl และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Wu and Deng, 2006) สำหรับค่าฮีโมโกลบิน และค่าฮีมาโตคริตของปลา *jundia (Rhamdia quelen)* มีค่าอยู่ในช่วง 7.5 – 9.1 g% และ 37 – 51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Borges *et al.*, 2004) ค่าโลหิตวิทยาของปลานิล (*O. niloticus*) ขนาดเล็กซึ่งมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 52.6 – 71.61 กรัม ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีโมโกลบิน และ ค่าฮีมาโตคริต มีค่าเท่ากับ 1.5 – 1.85 ( $\times 10^{12}/\text{l}$ ), 82.11 – 82.99 g/l และ 20 – 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Duy *et al.*, 2008; Min and Kang, 2008) และปลาขนาดใหญ่ซึ่งมีน้ำหนัก 223.14 – 250.51 กรัม มีค่าโลหิตวิทยาดังกล่าวเท่ากับ 2.56 – 2.58 ( $\times 10^{12}/\text{l}$ ), 101.27 – 101.33 g/l และ 30 – 31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Duy *et al.*, 2008) สำหรับการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลานิล hybrid tilapia (*O. niloticus* X *O. aureus*) ระยะ juvenile ขนาด 6.27 กรัม มีจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีมาโตคริต และ ค่าฮีโมโกลบิน มีค่าอยู่ในช่วง 15.63 – 31.93 ( $\times 10^{12}/\text{l}$ ), 24.22 –

30.92 เปอร์เซ็นต์ และ 47.33 – 109.33 ตามลำดับ (Yue and Zhou, 2008) สำหรับการศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาในเลือดปลานิลขนาด 100 กรัม ได้แก่อำนาจเม็ดเลือดแดง และ hemoglobin มีค่าเท่ากับ  $0.973 \times 10^6/\text{mm}^{-3}$  และ 7.3 g% ตามลำดับ (Ghazaly, 1992) สำหรับค่าโลหิตวิทยาของปลานิล *O. niloticus* ขนาดประมาณ 60 - 80 กรัม มีค่าอำนาจเม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $1.6 - 2.75 \times 10^6/\mu\text{l}$  ค่า hemoglobin มีค่าเท่ากับ 5.46 - 9.4 g/dl และ ค่า hematocrit มีค่าเท่ากับ 22.51 - 30.9 เปอร์เซ็นต์ (Peres et al., 2004; Pérez et al., 2008) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่าค่าที่ได้มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับการศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาของปลานิล และปลาชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในระดับปกติ

ผลการศึกษาค่าทางเคมีของเลือดปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ค่าทางเคมีของเลือด ของปลานิลเมื่อเริ่มการทดลอง (0 วัน) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (60 วัน)

| กลุ่มทดลอง                                                      | ค่าทางเคมีของเลือด        |                            |                           |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                                                 | โปรตีน                    | กลูโคส                     | ไตรกลีเซอไรด์             |
|                                                                 | (Protein)                 | (Glucose)                  | (Triglyceride)            |
|                                                                 | (mg/ mL)                  | (mmol/l)                   | (mmol/l)                  |
| เริ่มการทดลอง                                                   | 4.95 ± 0.45               | 4.68 ± 0.98                | 5.71 ± 0.35               |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                 |                           |                            |                           |
| กลุ่มควบคุม                                                     | 5.16 ± 0.20 <sup>c</sup>  | 5.01 ± 0.75 <sup>cd</sup>  | 3.30 ± 0.49 <sup>c</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                           | 5.05 ± 0.30 <sup>c</sup>  | 5.13 ± 0.93 <sup>bcd</sup> | 4.94 ± 0.82 <sup>a</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                           | 4.93 ± 0.60 <sup>c</sup>  | 5.39 ± 0.95 <sup>bc</sup>  | 5.00 ± 1.00 <sup>a</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                          | 5.65 ± 0.56 <sup>b</sup>  | 4.46 ± 0.33 <sup>d</sup>   | 3.92 ± 3.18 <sup>b</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์ protease 0.02 U | 5.31 ± 0.16 <sup>bc</sup> | 4.80 ± 1.29 <sup>cd</sup>  | 4.48 ± 1.16 <sup>ab</sup> |

ตารางที่ 22 (ต่อ)

| กลุ่มทดลอง                                                          | ค่าทางเคมีของเลือด          |                                 |                                             |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------|
|                                                                     | โปรตีน(Protein)<br>(mg/ mL) | กลูโคส<br>(Glucose)<br>(mmol/l) | ไตรกลีเซอไรด์<br>(Triglyceride)<br>(mmol/l) |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%<br>+ เอนไซม์ protease 0.02 U  | 5.33 ± 0.09 <sup>bc</sup>   | 5.90 ± 0.15 <sup>b</sup>        | 4.32 ± 1.77 <sup>ab</sup>                   |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%<br>+ เอนไซม์ protease 0.02 U | 8.19 ± 0.33 <sup>a</sup>    | 6.94 ± 0.08 <sup>a</sup>        | 1.59 ± 0.13 <sup>d</sup>                    |
| <i>P</i> - value                                                    | 0.0001                      | 0.0001                          | 0.0001                                      |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สำหรับค่าทางเคมีของเลือดซึ่งได้แก่ค่าโปรตีน กลูโคส และค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือด จากการทดลองพบว่ามีค่าแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาค่าโปรตีนในเลือดที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ กับการศึกษาในปลานิลขนาดต่างๆ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงเดียวกัน ซึ่งค่าดังกล่าวเป็นค่าปกติที่พบในปลา เช่นค่าที่ได้จากการศึกษาของ Chen *et al.* (2004) ซึ่งศึกษาระดับโปรตีน ในเลือดปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 200 กรัม ซึ่งค่าที่ได้มีค่าเท่ากับ 3.35 g/dl สำหรับปลานิลขนาดประมาณ 400 กรัม มีค่าโปรตีนในเลือดเท่ากับ 3.99 g/dl (Chen *et al.*, 2004) สำหรับปลานิลขนาด 71.61 - 90 กรัม มีค่าโปรตีนในเลือดเท่ากับ 4.7 - 5.7 g/dl (El – sayed *et al.*, 2007; Min and Kang, 2008) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาค่าโปรตีนในเลือดในปลาชนิดอื่น ซึ่งค่าที่ได้มีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับค่าที่ได้ในการศึกษาค้างนี้เช่นกัน เช่น การศึกษาทางด้านสรีรวิทยา และลักษณะทางพยาธิวิทยาที่เกิดจากการใช้เม็ดดูปปีนในอาหารปลา Nile catfish (*Clarias lazera*) ขนาด 123 กรัม และทดสอบด้วยกลูโคส และ alloxan จากการทดลองพบว่า ค่าโปรตีนในเลือดมีค่าเท่ากับ 4.9 – 5.1 g/dl (Mahmoud and Al – Salahy, 2004) สำหรับการศึกษาค่าโปรตีนในเลือดของปลา crucian carp (*Carrasius auratus*) ขนาด 265 กรัม มีค่าโปรตีนในเลือดประมาณ 45 g/l (Zhang *et al.*, 2007) มีการศึกษาระดับโปรตีนในเลือดของปลา jundia (*Rhamdia quelen*) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 3.5 – 4.9 g/dl (Borges *et al.*, 2004)

ระดับกลูโคสในเลือดปลาพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างปลากลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ มีค่าสูงที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ซึ่งมีระดับกลูโคสอยู่ในช่วง 4 – 7 mmol/l หรือ 80 – 130 mg/dl กับการศึกษาค่ากลูโคสในเลือดของปลานิลขนาดอื่นๆ และปลาชนิดอื่น ๆ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน และอยู่ในช่วงที่เป็นค่าปกติ เช่นเมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาของ Chen *et al.* (2004) และ Chen *et al.* (2003) พบว่าระดับกลูโคสในเลือดปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 200 - 400 กรัม มีค่าประมาณ 68.1 – 87.5 mg/dl สำหรับระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลขนาด 70 – 100 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 5.7 g/dl, 62.6 – 225.0 mg/dl (El – Sayed *et al.*, 2007; Min and Kang, 2008 and Ghazaly, 1992) ค่ากลูโคสในเลือดของปลา rainbow trout ขนาด 225 กรัม มีค่าเท่ากับ 250 mg/dl (Küçükbay *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาระดับกลูโคสในเลือดปลา jundia (*Rhamdia quelen*) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 43 – 78 mg/dl ค่ากลูโคสในเลือดปลา Nile catfish (*Clarias lazera*) ขนาด 123 กรัม ค่าอยู่ในช่วง 4.2 – 4.61 mmol/l การศึกษาของ Zhang *et al.* (2007) ก็พบว่าค่ากลูโคสที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งศึกษาค่ากลูโคสในเลือดปลา crucian carp (*Carrasius auratus*) ขนาด 265 กรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5 mmol/l

ค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดพบมีค่าสูงในปลาหลายกลุ่มได้แก่ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease แต่ค่าที่แตกต่างดังกล่าวซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 1 – 6 mmol/l หรือ 130 – 500 mg/dl ก็ยังอยู่ในช่วงของค่าไตรกลีเซอไรด์ที่พบทั่วไปในปลานิลขนาดอื่นๆ และปลาชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นค่าปกติของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดที่พบทั่วไป สำหรับระดับไตรกลีเซอไรด์ที่พบในเลือดปลานิลขนาดอื่นๆ เช่น ในปลานิลขนาด 71 - 121 กรัม ค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดมีค่าเท่ากับ 333.6 mg/100 mL (Papoutsoglou *et al.*, 2001), 193.3 – 225.0 mg/dl (Min and Kang, 2008) สำหรับปลาชนิดอื่นๆ เช่น ปลา Nile catfish (*Clarias lazera*) ขนาด 123 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 1.9 – 2.0 g/l (Mahamoud and Al – Salahy, 2004) สำหรับค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลา Japanese flounder ขนาด 1.93 กรัม มีค่าอยู่ในช่วง 2.91 – 4.14 mmol/l (Junming *et al.*, 2007) สำหรับค่าไตรกลีเซอไรด์ในเลือดปลา crucian carp (*Carrasius auratus*) ขนาด 265 กรัม มีค่าประมาณ 2.5 mmol/l (Zhang *et al.*, 2007)

### เปอร์เซ็นต์ซาก และค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลโดยแยกออกเป็นเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้ กระดูก และอวัยวะภายใน จากการทดลองนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อกินได้ และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในของทุกกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้มีค่าอยู่ในช่วง 36.16 – 44.89 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในมีค่าอยู่ในช่วง 8.98 – 11.98 เปอร์เซ็นต์ แต่เปอร์เซ็นต์กระดูกมีค่าแตกต่างกัน ( $P<0.05$ ) โดยพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U มีค่าสูงกว่าปลาในกลุ่มอื่นๆ ( $P<0.05$ ) ดังนั้นกล่าวได้ว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ไม่มีผลต่อการเพิ่ม และลดลงของเปอร์เซ็นต์เนื้อกินได้ของปลา เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อกินได้ของปลานิลในการทดลองนี้กับการศึกษาของ ส่องศรี และคณะ (2545) และ รุ่งกานต์ และ คณะ (2546, 2547) พบว่ามีค่าค่อนข้างสูงกว่ามาก ซึ่งค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้จากการศึกษาดังกล่าวมีค่าอยู่ในช่วง 22.53 - 36.69 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เกิดจากน้ำหนักตัวปลา และอาหารที่ปลาได้รับ มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ

| กลุ่มทดลอง                                                              | น้ำหนักตัวปลา<br>(กรัม)     | เนื้อกินได้<br>(เปอร์เซ็นต์) | กระดูก<br>(เปอร์เซ็นต์)   | อวัยวะภายใน<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| เริ่มการทดลอง                                                           | 29.77 ± 1.09                | 36.16 ± 2.58                 | 65.86 ± 2.34              | 11.98 ± 0.21                 |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                         |                             |                              |                           |                              |
| กลุ่มควบคุม                                                             | 215.83 ± 20.59 <sup>a</sup> | 42.72 ± 2.06 <sup>a</sup>    | 54.11 ± 2.18 <sup>b</sup> | 8.98 ± 1.82 <sup>a</sup>     |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 50%                               | 165.00 ± 10.48 <sup>b</sup> | 44.08 ± 1.38 <sup>a</sup>    | 54.72 ± 1.18 <sup>b</sup> | 9.33 ± 1.05 <sup>a</sup>     |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 75%                               | 160.14 ± 15.15 <sup>b</sup> | 44.56 ± 2.29 <sup>a</sup>    | 54.08 ± 1.71 <sup>b</sup> | 9.82 ± 0.77 <sup>a</sup>     |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 100%                              | 178.12 ± 30.46 <sup>b</sup> | 43.37 ± 3.40 <sup>a</sup>    | 53.47 ± 2.63 <sup>b</sup> | 10.00 ± 1.06 <sup>a</sup>    |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U  | 185.71 ± 28.63 <sup>b</sup> | 42.57 ± 2.79 <sup>a</sup>    | 53.72 ± 2.47 <sup>b</sup> | 9.73 ± 1.20 <sup>a</sup>     |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 75% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U  | 213.33 ± 24.86 <sup>a</sup> | 42.20 ± 1.73 <sup>a</sup>    | 59.47 ± 2.59 <sup>a</sup> | 9.67 ± 1.09 <sup>a</sup>     |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกาก<br>ถั่วเหลือง 100% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U | 170.00 ± 18.97 <sup>b</sup> | 44.89 ± 2.99 <sup>a</sup>    | 58.45 ± 3.58 <sup>a</sup> | 9.81 ± 1.20 <sup>a</sup>     |
| P - value                                                               | 0.0002                      | 0.1828                       | 0.0001                    | 0.6580                       |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษารายการประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักเปียก) ขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 24 และภาพที่

**ตารางที่ 24** องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักเปียก) ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ เมื่อเริ่มการทดลอง และสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน

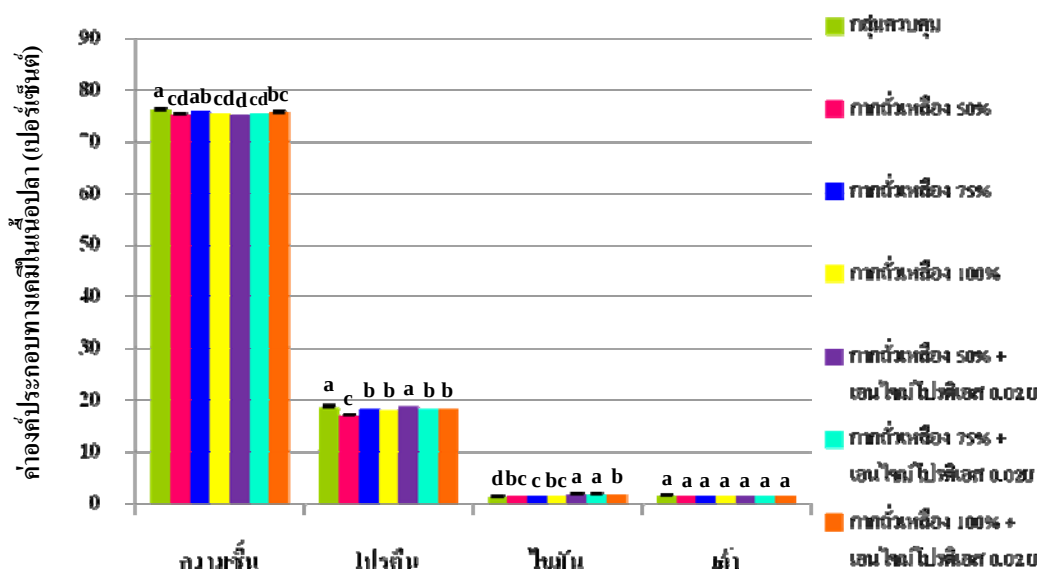
| กลุ่มทดลอง                                                       | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา (เปอร์เซ็นต์) |                           |                           |             |                          |
|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|--------------------------|
|                                                                  | ความชื้น                                  | โปรตีน                    | ไขมัน                     | เยื่อใย     | เถ้า * <sup>1</sup>      |
| เริ่มการทดลอง                                                    | 76.52 ± 0.78                              | 21.43 ± 0.71              | 1.46 ± 0.08               | 0.00 ± 0.00 | 6.13 ± 0.65              |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                  |                                           |                           |                           |             |                          |
| กลุ่มควบคุม                                                      | 76.28 ± 0.32 <sup>a</sup>                 | 18.88 ± 0.29 <sup>a</sup> | 1.31 ± 0.02 <sup>d</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 1.51 ± 0.09 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                            | 75.41 ± 0.09 <sup>cd</sup>                | 17.13 ± 0.13 <sup>c</sup> | 1.62 ± 0.04 <sup>bc</sup> | 0.00 ± 0.00 | 1.53 ± 0.00 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                            | 76.06 ± 0.00 <sup>ab</sup>                | 18.45 ± 0.07 <sup>b</sup> | 1.51 ± 0.02 <sup>c</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 1.45 ± 0.01 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                           | 75.52 ± 0.07 <sup>cd</sup>                | 18.37 ± 0.07 <sup>b</sup> | 1.60 ± 0.02 <sup>bc</sup> | 0.00 ± 0.00 | 1.50 ± 0.01 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 75.32 ± 0.01 <sup>d</sup>                 | 18.93 ± 0.09 <sup>a</sup> | 1.81 ± 0.06 <sup>a</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 1.56 ± 0.00 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 75.55 ± 0.04 <sup>cd</sup>                | 18.49 ± 0.04 <sup>b</sup> | 1.81 ± 0.05 <sup>a</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 1.47 ± 0.00 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100% + เอนไซม์ protease 0.02 U | 75.76 ± 0.16 <sup>bc</sup>                | 18.42 ± 0.1 <sup>b</sup>  | 1.69 ± 0.07 <sup>b</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 1.48 ± 0.02 <sup>a</sup> |
| P - value                                                        | 0.0025                                    | 0.0001                    | 0.0002                    | -           | 0.2083                   |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมรภูมิที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*<sup>1</sup> เปอร์เซ็นต์เถ้าเมื่อเริ่มการทดลองเป็นค่าที่ได้จากปลาทั้งตัว ส่วนเปอร์เซ็นต์เถ้าเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นค่าที่ได้จากเนื้อปลา

องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาแบบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปียก พบว่าในส่วนของความชื้น โปรตีน และไขมันมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ปริมาณเถ้าในปลาแต่ละกลุ่ม

ทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) และไม่พบเชื้อในส่วนของเนื้อปลา ค่าความชื้นในเนื้อปลามีค่าสูงสุดในปลากลุ่มควบคุม ( $P<0.05$ ) และมีค่าต่ำสุดในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ค่าโปรตีนในเนื้อปลาพบสูงสุดในปลากลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ  $79.60 \pm 0.16$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ ทั้งแบบผสมและไม่ผสมเอนไซม์ protease ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $77.08 \pm 0.26$  และ  $76.71 \pm 0.32$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์ มีค่าโปรตีนในเนื้อปลาต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $69.70 \pm 0.26$  เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่าไขมันในเนื้อปลาพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 – 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าไขมันในโปรตีนสูงกว่าในกลุ่มทดลองอื่น ( $P<0.05$ ) และปลากลุ่มควบคุมมีค่าไขมันในเนื้อน้อยที่สุด และสำหรับค่าถ้ำในเนื้อปลาแต่ละกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )



ภาพที่ 22 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักเปียก) ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาจากผลการทดลองในครั้งนี้มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับค่าที่ได้จากการทดลองของ Ergün *et al.* (2008) และ Ng *et al.* (2001) ซึ่งศึกษาในปลานิลขนาด 10 และ 11.73 กรัม ที่พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาทั้งตัวโดยศึกษาความชื้น โปรตีน ไขมัน อยู่

ในช่วง 75.6 – 76.9, 14.9 – 15.5 และ 2.4 – 3.8 เปอร์เซ็นต์ และ 75.5, 15, 4.6 และถ้ามีค่าเท่ากับ 4.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา grouper (*Epinephelus coioides*) ระยะ juveniles ขนาด 10.9 กรัม ซึ่งค่าองค์ประกอบทางเคมีในกล้ามเนื้อ มีค่าความชื้น โปรตีน และไขมันอยู่ในช่วง 79.2 – 79.67, 17.88 – 18.49 และ 0.66 – 1.32 เปอร์เซ็นต์ (Luo *et al.*, 2005) เมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ กับผลที่ได้จากการศึกษาของ Papoutsoglou *et al.* (2001) ซึ่งศึกษาในปลานิลขนาดเริ่มต้น 121 กรัม มีค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาซึ่งได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น มีค่าเท่ากับ 18.35, 8.33, 4.09 และ 69.81 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าดังกล่าวนี้มีค่าใกล้เคียงกัน และเป็นค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาที่พบในปลาทั่วไป

ผลการศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ขนาด 29 กรัม ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 % แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U แสดงในตารางที่ 25 และภาพที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาแบบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า มีค่าแตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองในส่วนของ โปรตีน และไขมันซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ผลแบบเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปียก สำหรับปริมาณเถ้าในปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) และไม่พบเชื้อในในส่วนของเนื้อปลา ค่าโปรตีนในเนื้อปลาพบสูงสุดในปลากลุ่มควบคุม มีค่าเท่ากับ  $79.60 \pm 0.16$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ ทั้งแบบผสมและไม่ผสมเอนไซม์ protease ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $77.08 \pm 0.26$  และ  $76.71 \pm 0.32$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์ มีค่าโปรตีนในเนื้อปลาค่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $69.70 \pm 0.26$  เปอร์เซ็นต์ ค่าไขมันในเนื้อปลาพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 50 – 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าไขมันในเนื้อปลาสูงกว่าปลาในกลุ่มทดลองอื่น ( $P < 0.05$ ) และปลากลุ่มควบคุมมีค่าไขมันในเนื้อน้อยที่สุด และสำหรับค่าเถ้าในเนื้อปลาแต่ละกลุ่มทดลองพบว่าไม่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

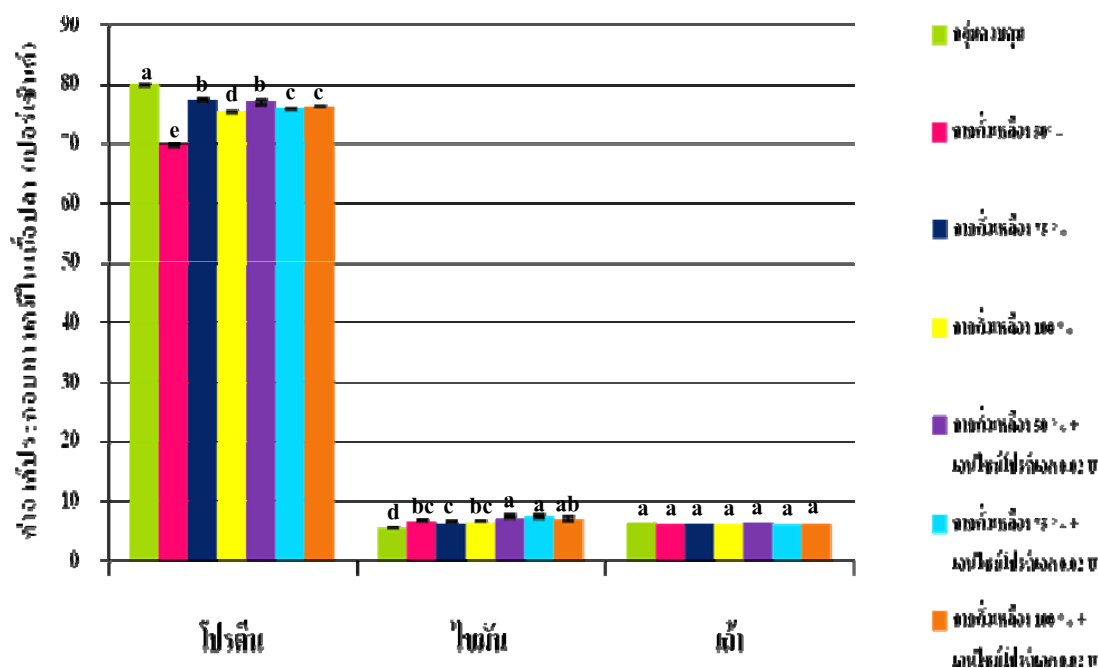
ตารางที่ 25 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับอาหารทดแทน  
ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ

| กลุ่มทดลอง                                                              | องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา (เปอร์เซ็นต์) |                           |             |                          |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|-------------|--------------------------|
|                                                                         | โปรตีน                                    | ไขมัน                     | เยื่อใย     | เถ้า                     |
| เริ่มการทดลอง                                                           | 91.37 ± 0.15                              | 1.54 ± 0.15               | 0.00 ± 0.00 | 6.47 ± 0.69              |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                         |                                           |                           |             |                          |
| กลุ่มควบคุม                                                             | 79.60 ± 0.16 <sup>a</sup>                 | 5.51 ± 0.04 <sup>d</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 6.36 ± 0.31 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50%                               | 69.70 ± 0.26 <sup>c</sup>                 | 6.59 ± 0.13 <sup>bc</sup> | 0.00 ± 0.00 | 6.24 ± 0.02 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75%                               | 77.08 ± 0.26 <sup>b</sup>                 | 6.300 ± 0.11 <sup>c</sup> | 0.00 ± 0.00 | 6.06 ± 0.06 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100%                              | 75.06 ± 0.04 <sup>d</sup>                 | 6.55 ± 0.06 <sup>bc</sup> | 0.00 ± 0.00 | 6.12 ± 0.07 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 76.71 ± 0.32 <sup>b</sup>                 | 7.35 ± 0.25 <sup>a</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 6.35 ± 0.02 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 75.61 ± 0.03 <sup>c</sup>                 | 7.42 ± 0.24 <sup>a</sup>  | 0.00 ± 0.00 | 6.04 ± 0.05 <sup>a</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | 75.99 ± 0.01 <sup>c</sup>                 | 6.97 ± 0.34 <sup>ab</sup> | 0.00 ± 0.00 | 6.12 ± 0.03 <sup>a</sup> |
| <i>P</i> – value                                                        | 0.0001                                    | 0.0003                    | -           | 0.1643                   |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความ  
เชื่อมั่น 95%

การศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง นอกจากจะศึกษาในปลานิลแล้ว ยังมี  
การศึกษาในปลาอื่นด้วยเช่นกัน เช่น การศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองต่อการ  
เจริญเติบโต การใช้ประโยชน์ได้ของอาหาร และองค์ประกอบทางเคมีของปลา *cuneate drum*  
(*Nibea miichthoides*) (Wang *et al.*, 2006) ซึ่งทดลองในปลา *cuneate drum* (*Nibea miichthoides*)

ขนาด 29.8 กรัม เป็นระยะเวลา 2 เดือน ซึ่งระดับการทดแทนในสูตรอาหารเป็น 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาได้แก่ความชื้น และ โปรตีน มีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองโดยมีค่าอยู่ในช่วง 72.1 – 73.1 และ 18.2 – 18.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับ ไขมัน และเถ้าในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าในกลุ่มทดลองโดยพบว่า ปลาในกลุ่มควบคุมมีค่าไขมัน และเถ้าในตัวปลาเท่ากับ 6.2 และ 3.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปลาในกลุ่มทดลองมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 4.7 – 6 และ 4.1 – 4.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้ค่อนข้างแตกต่างจากผลที่ได้จากการทดลองในปลานิลในครั้งนี้นี้ที่พบว่าปลานิลมีค่าองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ความชื้น และโปรตีน แตกต่างกันในกลุ่มการทดลอง แต่ค่าที่พบดังกล่าวเป็นค่าปกติที่พบในปลานิล และปลาชนิดอื่น ๆ



ภาพที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล (น้ำหนักแห้ง) ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ

นอกจากการทดลองทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแล้ว ยังมีการใช้วัตถุดิบราคาถูกทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารด้วยเช่นกัน จากการศึกษาของ Yue and Zhou (2008) ศึกษาการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากนุ่นในอาหารปลานิล hybrid tilapia (*O. niloticus* X *O. aureus*) ระยะ juvenile ขนาด 6.27 กรัม พบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาโดยมีค่า โปรตีน ไขมัน

และถั่ว มีค่าอยู่ในช่วง 19.68 – 20.65, 0.90 – 1.02 และ 1.35 – 1.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองในปลานิลในครั้งนี้ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงปกติของปลา

นอกจากการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแล้ว ยังมีการใช้วัตถุดิบอื่นในการทดแทนปลาป่นด้วยเช่นกัน เช่น การศึกษาการใช้ maize gluten เสริมในอาหารปลาตระกูลคาร์พ ขนาด 200 – 300 กรัม (Kaur, 2005) พบค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และถั่วมีค่าอยู่ในช่วง 10.68 – 11.40, 1.13 – 2.48, 78.37 – 81.37 และ 0.75 – 2.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ก็ใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการทดลองในปลานิลในครั้งนี้ ยกเว้นค่าโปรตีนในเนื้อที่พบในปลานิลมีค่าสูงกว่าในปลาคาร์พ อาจเนื่องจากอาหารที่ปลาได้รับมีผลต่อปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา การศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากเหลือของสัตว์ได้แก่กระดุก เลือด ตับ ขน และเศษเนื้อ ในปลา mangrove red snapper (*Lutjanus agentimaculatus*) ขนาด 30 กรัม เป็นระยะเวลา 70 วัน ซึ่งจากการทดลองพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของปลาซึ่งได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และถั่วมีค่าอยู่ในช่วง 73.62 – 74.10, 18.80 – 21.19, 5.82 – 5.91 และ 3.23 – 4.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Jamil *et al.*, 2007)

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของปลานิล และปลาชนิดอื่นๆ เช่น Indian carp, ปลา catfish, hybrid tilapia (*O. niloticus* X *O. aureus*) และ hybrid striped bass ซึ่งได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน และถั่ว มีค่าอยู่ในช่วง 73 – 78.06, 3.5 – 29.7, 14.9 – 54.5 และ 1.33 – 11.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Focken and Becker, 1998; Ahmed *et al.*, 2003; Ng *et al.*, 2000; Twibell *et al.*, 2000)

#### กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร

กิจกรรมของเอนไซม์ protease จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่ผสม และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ที่ระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) แสดงในตารางที่ 26 และ ภาพที่ 24

**ตารางที่ 26** กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ  
ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย  
*Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7

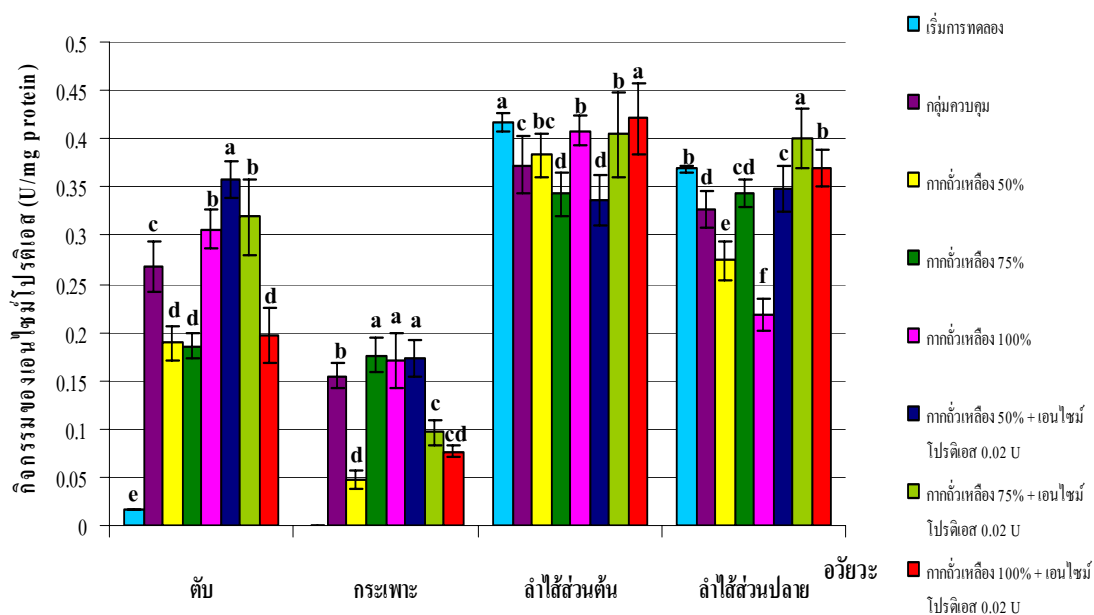
| กลุ่มทดลอง                                                              | กิจกรรมของเอนไซม์ protease (specific activity * <sup>1</sup> ) ในอวัยวะต่าง ๆ |                             |                             |                             |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                                                         | ตับ                                                                           | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนต้น                | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| เริ่มการทดลอง                                                           | 0.016 ± 0.000 <sup>c</sup>                                                    | 0.001 ± 0.000 <sup>c</sup>  | 0.417 ± 0.010 <sup>a</sup>  | 0.369 ± 0.003 <sup>b</sup>  |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                         |                                                                               |                             |                             |                             |
| กลุ่มควบคุม                                                             | 0.267 ± 0.026 <sup>c</sup>                                                    | 0.155 ± 0.013 <sup>b</sup>  | 0.373 ± 0.029 <sup>c</sup>  | 0.328 ± 0.019 <sup>d</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50%                               | 0.189 ± 0.018 <sup>d</sup>                                                    | 0.048 ± 0.010 <sup>d</sup>  | 0.383 ± 0.022 <sup>bc</sup> | 0.274 ± 0.021 <sup>e</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75%                               | 0.186 ± 0.013 <sup>d</sup>                                                    | 0.176 ± 0.018 <sup>a</sup>  | 0.343 ± 0.023 <sup>d</sup>  | 0.344 ± 0.015 <sup>cd</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100%                              | 0.306 ± 0.020 <sup>b</sup>                                                    | 0.171 ± 0.028 <sup>a</sup>  | 0.408 ± 0.015 <sup>b</sup>  | 0.218 ± 0.017 <sup>f</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.358 ± 0.019 <sup>a</sup>                                                    | 0.173 ± 0.018 <sup>a</sup>  | 0.336 ± 0.026 <sup>d</sup>  | 0.348 ± 0.024 <sup>c</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.319 ± 0.040 <sup>b</sup>                                                    | 0.097 ± 0.013 <sup>c</sup>  | 0.405 ± 0.044 <sup>b</sup>  | 0.401 ± 0.031 <sup>a</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100% +<br>เอนไซม์ protease 0.02 U | 0.197 ± 0.029 <sup>d</sup>                                                    | 0.077 ± 0.007 <sup>cd</sup> | 0.421 ± 0.037 <sup>a</sup>  | 0.369 ± 0.019 <sup>b</sup>  |
| P - value                                                               | 0.0001                                                                        | 0.0001                      | 0.0001                      | 0.0001                      |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมรรถที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความ  
เชื่อมั่น 95%

\*<sup>1</sup> U/mg protein; U = Abs /min/mg protein

จากการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease พบมีค่าสูงในส่วนของตับ กระเพาะ  
ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบ  
ผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ( $P < 0.05$ ) และเมื่อศึกษาแยกอวัยวะ พบว่าส่วนของ

ลำไส้ทั้งส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายมีค่าสูงกว่าในอวัยวะส่วนอื่น ซึ่งพบได้ในปลาทุกกลุ่มทดลอง ผลการทดลองนี้คล้ายกับผลการทดลองของ Sheng *et al.* (2006) ซึ่งศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ในแต่ละอวัยวะในปลา hybrid tilapia (*O. niloticus* X *O. aureus*) ได้แก่ กระเพาะ ตับอ่อน และลำไส้ ซึ่งจากการศึกษาพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease มีค่าสูงในส่วนของลำไส้ และมีค่าน้อยในส่วนของกระเพาะ และตับอ่อน ดังนั้นเมื่อปลาได้รับอาหารที่เสริมเอนไซม์จึงทำให้พบปริมาณของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์น้อยกว่า เนื่องจากเอนไซม์ที่มีอยู่ หรือผลิตจากร่างกายปลา ถูกส่งไปยังลำไส้ส่วนต้น และส่วนปลายเพื่อใช้ในการย่อยอาหาร และไม่ได้รับเพิ่มจากภายนอกจึงทำให้ปริมาณของเอนไซม์ที่พบมีจำนวนน้อย ส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่พบมีค่าลดลงด้วย ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารจึงมีผลต่อการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในตัวปลา



**ภาพที่ 24** กิจกรรมของเอนไซม์ protease จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ เป็นระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)

สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับแบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมไม่มากนัก ( $P < 0.05$ ) แต่การเสริมเอนไซม์สังเคราะห์ให้อาหารมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในตัวปลา ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองที่ 2 ที่พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์ เนื่องจากปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมเอนไซม์จะได้รับเอนไซม์ protease จากทั้งที่ผลิตในร่างกาย และที่ผสมในอาหารเข้าไปทำหน้าที่ในการช่วยย่อย มีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยสูงขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารแบบไม่ผสมเอนไซม์ที่ได้รับเอนไซม์ในการย่อยที่ผลิตจากร่างกายเพียงอย่างเดียว จึงทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาดำกว่า เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้กับการศึกษาของ EI – Sayed *et al.* (2000) ที่ทำการศึกษากการใช้ถั่วเหลืองรูปแบบต่างในอาหารปลานิลขนาด 14.5 กรัม ที่ระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ถั่วเหลืองไม่ได้สกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองไม่ได้สกัดน้ำมันแต่มีการให้ความร้อน ถั่วเหลืองที่มีการแช่น้ำก่อนนำมาใช้ และถั่วเหลืองที่ทำการสกัดน้ำมันออกแล้ว และกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กากถั่วเหลืองในสูตรอาหาร ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนต้นของปลานิล ซึ่งการศึกษาทำการเลี้ยงปลาด้วยอาหารสูตรต่างๆ ดังกล่าวเป็นเวลา 30 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนต้น มีค่าแตกต่างกัน ซึ่งปลากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับกากถั่วเหลืองในอาหารมีกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 3,737 mU/mg รองลงมาคือปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองไม่ได้สกัดน้ำมัน ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease เท่ากับ 1,402 mU/mg สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองไม่ได้สกัดน้ำมันแต่มีการให้ความร้อน กากถั่วเหลืองที่มีการแช่น้ำก่อนนำมาใช้ และกากถั่วเหลืองที่ทำการสกัดน้ำมันออกแล้ว มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease น้อยที่สุด ทั้งนี้สืบเนื่องจากผลของสาร antinutrition ในถั่วเหลืองที่มีผลต่อกิจกรรมที่ลดลงของเอนไซม์ protease ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในปลานิลครั้งนี้พบว่ามีผลไปในทิศทางเดียวกัน ที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ protease มีค่าสูงกว่า ( $P < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบไม่ผสมเอนไซม์ และกลุ่มควบคุม

กิจกรรมของเอนไซม์ amylase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบ

ไม่ผสม และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ที่ระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)แสดงในตารางที่ 27 และภาพที่ 25

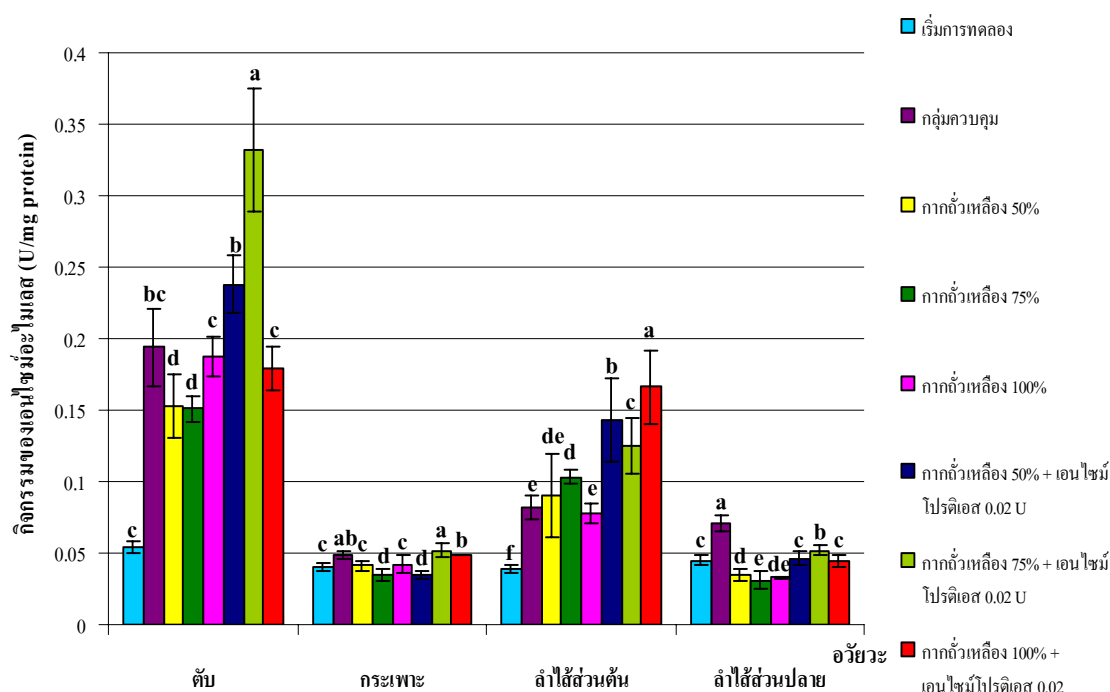
**ตารางที่ 27** กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7

| กลุ่มทดลอง                                                       | กิจกรรมของเอนไซม์ amylase (specific activity * <sup>1</sup> ) ในอวัยวะต่างๆ |                             |                             |                             |
|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                                                  | ตับ                                                                         | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนต้น                | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| เริ่มการทดลอง                                                    | 0.054 ± 0.004 <sup>c</sup>                                                  | 0.040 ± 0.001 <sup>c</sup>  | 0.039 ± 0.004 <sup>f</sup>  | 0.045 ± 0.000 <sup>c</sup>  |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                  |                                                                             |                             |                             |                             |
| กลุ่มควบคุม                                                      | 0.194 ± 0.027 <sup>bc</sup>                                                 | 0.049 ± 0.003 <sup>ab</sup> | 0.082 ± 0.008 <sup>c</sup>  | 0.071 ± 0.006 <sup>a</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                            | 0.153 ± 0.022 <sup>d</sup>                                                  | 0.041 ± 0.004 <sup>c</sup>  | 0.090 ± 0.029 <sup>dc</sup> | 0.035 ± 0.004 <sup>d</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                            | 0.151 ± 0.009 <sup>d</sup>                                                  | 0.035 ± 0.004 <sup>d</sup>  | 0.103 ± 0.005 <sup>d</sup>  | 0.031 ± 0.006 <sup>c</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                           | 0.188 ± 0.014 <sup>c</sup>                                                  | 0.042 ± 0.006 <sup>c</sup>  | 0.078 ± 0.007 <sup>c</sup>  | 0.033 ± 0.001 <sup>dc</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.238 ± 0.020 <sup>b</sup>                                                  | 0.035 ± 0.003 <sup>d</sup>  | 0.143 ± 0.029 <sup>b</sup>  | 0.046 ± 0.005 <sup>c</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.332 ± 0.043 <sup>a</sup>                                                  | 0.052 ± 0.005 <sup>a</sup>  | 0.125 ± 0.020 <sup>c</sup>  | 0.052 ± 0.003 <sup>b</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100% + เอนไซม์ protease 0.02 U | 0.179 ± 0.015 <sup>c</sup>                                                  | 0.048 ± 0.000 <sup>b</sup>  | 0.166 ± 0.026 <sup>a</sup>  | 0.044 ± 0.004 <sup>c</sup>  |
| P - value                                                        | 0.0001                                                                      | 0.0001                      | 0.0001                      | 0.0001                      |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมมติฐานที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95

\*<sup>1</sup> U/mg protein; U =  $\mu$ g of glucose/min/mg protein

จากผลการศึกษาค่ากิจกรรมเอนไซม์ amylase ในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วันกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่ระดับความแตกต่าง และความผันแปรไม่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหาร ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มกิจกรรม หรือปริมาณของเอนไซม์ amylase ในตัวปลา ดังนั้นกิจกรรมที่สูงขึ้น และลดลงของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ที่ระยะเวลา 60 วัน จึงเป็นการเพิ่มจากการผลิตในตัวปลาเอง



**ภาพที่ 25** กิจกรรมของเอนไซม์ amylase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease เป็นระยะเวลา 0 (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)

กิจกรรมของเอนไซม์ lipase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่

ผสม และผสมเอนไซม์ protease ที่ความเข้มข้น 0.02 U ที่ระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) แสดงในตารางที่ 28 และภาพที่ 26

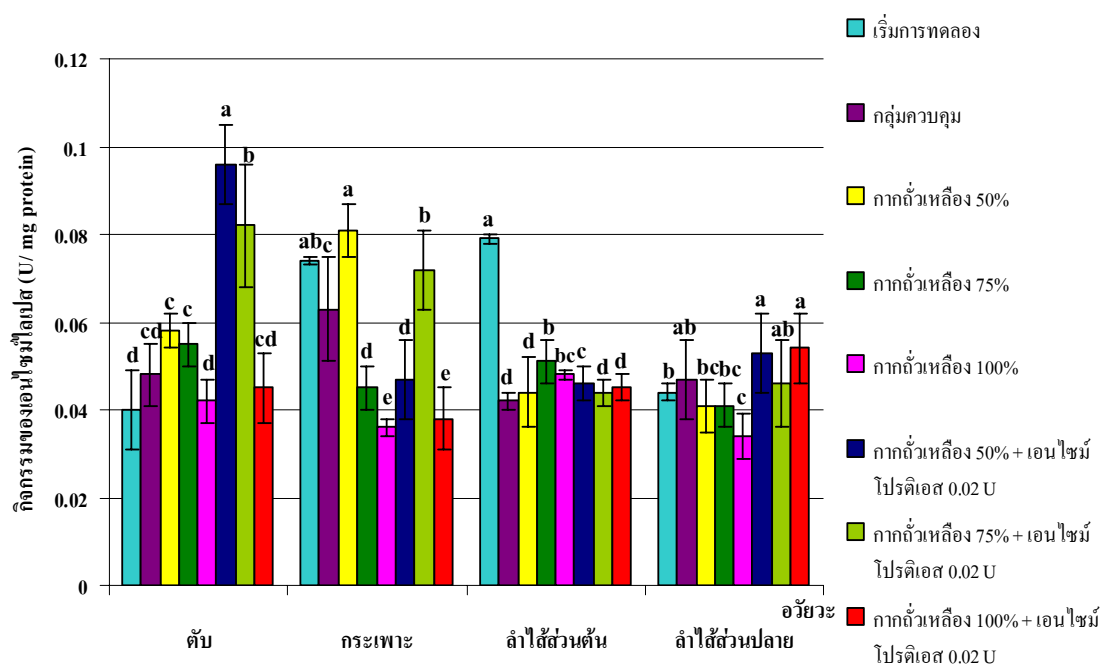
**ตารางที่ 28** กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้น 0.02 U เป็นระยะเวลา 0 และ 60 วัน ที่ pH 7

| กลุ่มทดลอง                                                       | กิจกรรมของเอนไซม์ lipase (specific activity * <sup>1</sup> ) ในอวัยวะต่างๆ |                             |                             |                             |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                                                  | ตับ                                                                        | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนต้น                | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| เริ่มการทดลอง                                                    | 0.040 ± 0.009 <sup>d</sup>                                                 | 0.074 ± 0.001 <sup>ab</sup> | 0.079 ± 0.001 <sup>a</sup>  | 0.044 ± 0.002 <sup>b</sup>  |
| สิ้นสุดการทดลอง                                                  |                                                                            |                             |                             |                             |
| กลุ่มควบคุม                                                      | 0.048 ± 0.007 <sup>cd</sup>                                                | 0.063 ± 0.012 <sup>c</sup>  | 0.042 ± 0.002 <sup>d</sup>  | 0.047 ± 0.009 <sup>ab</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50%                            | 0.058 ± 0.004 <sup>c</sup>                                                 | 0.081 ± 0.006 <sup>a</sup>  | 0.044 ± 0.008 <sup>d</sup>  | 0.041 ± 0.006 <sup>bc</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75%                            | 0.055 ± 0.005 <sup>c</sup>                                                 | 0.045 ± 0.005 <sup>d</sup>  | 0.051 ± 0.005 <sup>b</sup>  | 0.041 ± 0.005 <sup>bc</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100%                           | 0.042 ± 0.005 <sup>d</sup>                                                 | 0.036 ± 0.002 <sup>e</sup>  | 0.048 ± 0.001 <sup>bc</sup> | 0.034 ± 0.005 <sup>c</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.096 ± 0.009 <sup>a</sup>                                                 | 0.047 ± 0.009 <sup>d</sup>  | 0.046 ± 0.004 <sup>c</sup>  | 0.053 ± 0.009 <sup>a</sup>  |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75% + เอนไซม์ protease 0.02 U  | 0.082 ± 0.014 <sup>b</sup>                                                 | 0.072 ± 0.009 <sup>b</sup>  | 0.044 ± 0.003 <sup>d</sup>  | 0.046 ± 0.010 <sup>ab</sup> |
| กลุ่มทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 100% + เอนไซม์ protease 0.02 U | 0.045 ± 0.008 <sup>cd</sup>                                                | 0.038 ± 0.007 <sup>e</sup>  | 0.045 ± 0.003 <sup>d</sup>  | 0.054 ± 0.008 <sup>a</sup>  |
| P - value                                                        | 0.0001                                                                     | 0.0001                      | 0.0001                      | 0.0001                      |

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยในสมมติที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95

<sup>\*1</sup> U/mg protein; U = mg/mL of n- nitrophenol /min/mg protein

จากผลการศึกษาค่ากิจกรรมเอนไซม์ lipase ในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในตับของปลาทุกกลุ่มทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่เพิ่มขึ้น และลดลงมีค่าไม่เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหาร ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ไม่มีผลกระทบต่อค่าเพิ่ม และลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในอวัยวะต่างๆ ของปลา เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ amylase



ภาพที่ 26 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease เป็นระยะเวลา 0 วัน (เริ่มการทดลอง) และ 60 วัน (สิ้นสุดการทดลอง)

จากการศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารปลานิลที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และส่วนปลาย พบว่าการเสริมเอนไซม์

perotease มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในอวัยวะต่างๆ ของปลา แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้น หรือลดลง ของเอนไซม์ amylase และ lipase

**การศึกษาต้นทุนราคาอาหารปลานิลที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ กัน ทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus sp.***

ต้นทุนในการผลิตอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ กัน ทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.02 U แสดงในตารางที่ 29 เมื่อเปรียบเทียบราคาวัตถุดิบของปลาป่น และกากถั่วเหลือง พบว่าราคากากถั่วเหลืองมีราคาถูกกว่าปลาป่น ซึ่งปลาป่นราคา 32 บาท/กิโลกรัม ในขณะที่กากถั่วเหลืองราคา 20 บาท/กิโลกรัม กากถั่วเหลืองถูกกว่าปลาป่น 37.5 เปอร์เซ็นต์ หรือ ราคากากถั่วเหลืองมีราคาเป็น 0.62 เท่าของราคาปลาป่น ดังนั้นการนำกากถั่วเหลืองมาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารเพื่อการผลิตอาหารเม็ดแห้งจมน้ำ และลอยน้ำ สำหรับปลานิล จึงสามารถลดราคาต้นทุนในการผลิตอาหารปลาได้เป็นอย่างดี ซึ่งการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบไม่ผสมเอนไซม์ protease ในอาหาร สามารถลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลาได้ 10.84 และ 6.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และปลาที่มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่า แต่การเจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่สามารถลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลาได้ถึง 21.43 และ 10.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปลาในกลุ่มควบคุม รวมทั้งอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อยังมีค่าดีกว่า และปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์นี้ มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับปลาในกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาจากราคาอาหาร และต้นทุนค่าอาหารเพื่อให้ได้ปลา 1 กิโลกรัม และพิจารณาในแง่ของเศรษฐศาสตร์แล้ว ระดับการทดแทนในอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่แนะนำให้ทดแทนคือ 75 เปอร์เซ็นต์ และมีการผสมเอนไซม์ protease เนื่องจากที่ระดับทดแทนดังกล่าวมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาดีเทียบเท่ากับปลาในกลุ่มควบคุม รวมถึงค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าดีกว่า และต้นทุนราคาอาหารยังถูกกว่าการทดแทนที่ระดับอื่น ๆ รวมถึงกลุ่มควบคุมด้วย ซึ่งถูกกว่าถึง 21.43 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 29 ราคาอาหาร และต้นทุนราคาอาหารเพื่อผลิตปลา 1 กิโลกรัม

| สูตรอาหาร                                                                | ราคาอาหาร<br>1 กิโลกรัม<br>(บาท) | ราคาต้นทุนอาหาร<br>ในการผลิตปลา<br>1 กิโลกรัม<br>(บาท) | ต้นทุนวัตถุดิบ<br>การผลิตอาหาร<br>1 กิโลกรัม<br>ที่ลดลง<br>(เปอร์เซ็นต์) | ต้นทุนราคา<br>อาหารในการ<br>ผลิตปลา<br>1 กิโลกรัม<br>ที่ลดลง<br>(เปอร์เซ็นต์) |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| ควบคุม                                                                   | 30.84                            | $27.77 \pm 1.33^b$                                     | -                                                                        | -                                                                             |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50%                              | 29.74                            | $30.49 \pm 0.48^a$                                     | 3.55                                                                     | -9.79                                                                         |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75%                              | 29.12                            | $24.76 \pm 1.45^c$                                     | 5.56                                                                     | 10.84                                                                         |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100%                             | 28.67                            | $26.04 \pm 0.91^{bc}$                                  | 7.04                                                                     | 6.23                                                                          |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 50% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U | 29.80                            | $26.69 \pm 1.16^{bc}$                                  | 3.35                                                                     | 3.89                                                                          |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 75% + เอนไซม์<br>protease 0.02 U | 29.21                            | $21.82 \pm 1.11^d$                                     | 5.26                                                                     | 21.43                                                                         |
| สูตรอาหารแทนปลาป่นด้วย<br>กากถั่วเหลือง 100% +<br>เอนไซม์protease 0.02 U | 28.79                            | $24.81 \pm 0.85^c$                                     | 6.63                                                                     | 10.66                                                                         |
| <i>P</i> - value                                                         | -                                | 0.0001                                                 | -                                                                        | -                                                                             |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความ  
เชื่อมั่น 95%

## สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*O. niloticus* L.) ซึ่งแบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลอง ได้แก่ การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร และการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารซึ่งทำการทดลองในปลานิลเพศผู้ 3 ขนาด ได้แก่ ปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม และการทดลองเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิลซึ่งทำการทดลองในปลานิลเพศผู้ขนาด 29 กรัม สรุปผลการศึกษาดังนี้

1. กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH เป็นด่าง ซึ่งอยู่ในช่วง pH 9 – 12 สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลานิลทั้ง 3 ขนาด พบมีค่าสูงสุดที่ pH เป็นกรด ถึงกลาง ซึ่งอยู่ในช่วง pH 2 – 7 สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลานิลทั้ง 3 ขนาด พบมีค่าสูงสุดที่ pH เป็นกลางถึงเป็นด่างเล็กน้อย ซึ่งอยู่ในช่วง pH 7 – 8

2. กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากปลาขนาด 5.7 กรัม มีค่ากิจกรรมสูงที่สุด ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงสุด และกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากปลาขนาด 35.8 กรัม มีค่าสูงที่สุด ปลาขนาดเล็กกิจกรรมของเอนไซม์ protease และ lipase จะทำงานดีกว่าปลาขนาดใหญ่ และในทางตรงกันข้าม กิจกรรมของเอนไซม์ amylase จะทำงานได้ดีในปลาขนาดใหญ่ ซึ่งปลาที่ขนาดต่างกัน กิจกรรมและชนิดของเอนไซม์ก็มีความแตกต่างกันด้วย

3. ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากปลาป่นพบสูงสุดในปลานิลขนาด 5.7 กรัม สำหรับประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากกากถั่วเหลืองพบสูงสุดในปลานิลขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม และประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากกากเมล็ดทานตะวันพบสูงสุดในปลาขนาด 92.1 กรัม เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของวัตถุดิบแต่ละชนิดในปลาขนาดเดียวกัน ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนของปลานิลขนาด 5.7 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากปลาป่น กากเมล็ดทานตะวัน และกากถั่วเหลืองไม่แตกต่างกัน สำหรับปลาขนาด 35.8 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากปลาป่นสูงที่สุด และปลาขนาด 92.1 กรัม มี

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากกากเมล็ดทานตะวันสูงที่สุด กล่าวได้ว่าปลาขนาดกลาง (35.8 กรัม) มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนน้อยที่สุด และปลานิลขนาดใหญ่ (92.1 กรัม) สามารถย่อยโปรตีนจากพืชได้ดีที่สุด

4. ประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งได้แก่แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง นั้น ปลานิลขนาด 5.7 และ 92.1 กรัม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ไม่แตกต่างกันในวัตถุดิบแต่ละชนิด สำหรับปลาขนาด 35.8 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้งจากแป้งมันสำปะหลังสูงที่สุด สรุปได้ว่าอาหารปลานิลขนาดเล็ก (5.7 กรัม) และปลานิลขนาดใหญ่ (92.1 กรัม) สามารถใช้แป้งทั้งสามชนิดได้ แต่ปลาขนาดกลาง (35.8 กรัม) ควรใช้แป้งมันสำปะหลัง

5. ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันจากน้ำมันพืชพบสูงสุดในปลานิลขนาด 5.7 กรัม สำหรับประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันจากน้ำมันปลาพบมีค่าสูงในปลาขนาด 35.8 และ 92.1 กรัม กล่าวได้ว่าน้ำมันปลามีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในอาหารปลาขนาดกลาง และขนาดใหญ่ (35.8 และ 92.1 กรัม) ส่วนน้ำมันพืชเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในปลาขนาดเล็ก (5.7 กรัม)

6. การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลานิลขนาด 29 กรัม ทุกระดับ มีผลให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม แต่การเสริมเอนไซม์ protease ในอาหาร มีผลให้การเจริญเติบโต โดยเฉพาะค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้นเป็นปกติ สำหรับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลานิลขนาด 29 กรัม ทุกระดับ ทั้งแบบเสริม และไม่เสริมเอนไซม์ไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของปลา

7. การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลานิลทุกระดับมีผลให้ปลากินอาหารลดลง แต่การเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าต่ำ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูง รวมถึงมีผลช่วยให้ประสิทธิภาพของโปรตีนมีค่าสูงขึ้นด้วย กล่าวได้ว่าการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองช่วยให้การใช้ประโยชน์จากอาหาร โดยเฉพาะโปรตีนเพิ่มขึ้น

8. การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลานิลทุกระดับทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้น หรือลดลง ของเปอร์เซ็นต์เนื้อส่วนกินได้ของปลา แต่มีผลต่อการลดลงของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเนื้อปลาเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม

9. การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลานิลทุกระดับทั้งแบบผสมเอนไซม์ และไม่ผสมเอนไซม์ มีผลให้สุขภาพปลา ซึ่งวิเคราะห์ได้จากจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีมาโตคริต และค่าฮีโมโกลบิน มีค่าอยู่ในช่วงปกติ

10. การเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองทุกระดับมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ protease แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase และ lipase

11. สูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ขนาด 29 กรัมขึ้นไป คือสูตรอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ แบบผสมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ระดับ 0.02 U เนื่องจากอาหารสูตรดังกล่าวมีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตสูง และต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่าสูตรอาหารอื่น นอกจากนี้ราคาต้นทุนในการผลิตปลา ยังมีราคาต่ำกว่าอาหารสูตรอื่นๆ ด้วย

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2550. เทคโนโลยีของแป้ง.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิราภา หินซุย, วันชัย วรวัฒนเมธิกุล, นงนุช รักสกุลไทย และ จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร. 2549.

คุณลักษณะของเอนไซม์ trypsin และ chymotrypsin จากอวัยวะภายในปลานิล สายพันธุ์ จิตรลดา (*Oreochromis niloticus* Linneaus) ที่ทำให้บริสุทธิ์บางส่วน, น. 117 – 124. ใน **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 (สาขาประมง)**, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จันทกานต์ นุชสุข, อรุณี อิงคากุล, อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ และ อรพินท์ จินตสถาพร. 2550.

คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสาวยหนุระยะวัยอ่อน. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**. 1(2): 261 – 272.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2551. **เคมีอาหาร**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

รุ่งกานต์ กล้าหาญ, อรพินท์ จินตสถาพร, ประทักษ์ ตาบทพิชัยวรรณ, ส่องศรี มหาสวัสดิ์ และ

ศรีน้อย ชุ่มคำ. 2546. ผลของใบกาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโต และระบบสืบพันธุ์ปลานิล, น. 103 – 110. ใน **รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 (สาขาประมง)**, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

\_\_\_\_\_, อรพินท์ จินตสถาพร, ประทักษ์ ตาบทพิชัยวรรณ, ส่องศรี มหาสวัสดิ์ และ

ศรีน้อย ชุ่มคำ. 2547. ประสิทธิภาพของเถาเครือขาวต่อการเจริญเติบโต และระบบสืบพันธุ์ในปลานิล, น. 37 – 44. ใน **รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 (สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)**, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณ คุลชัย. 2551. **เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. **อาหารปลา**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ และการให้อาหารสัตว์น้ำ**.  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. **การเลี้ยงปลาน้ำจืด**. โอ.เอส.พรินต์ติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ

สงศรี มหาสวัสดิ์, อรพินท์ จินตสถาพร, ประทักษ์ ตาบทพิยัวรรณ และ จุฑามาศ นรชาญ. 2545.  
การใช้เนื้อหอยเชอรี่บดแห้งทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิล, น. 650 - 657. ใน **รายงาน  
การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 (สาขาสัตวสัตวแพทยศาสตร์  
สาขาประมง)**, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุนัย สหัทธโพธิ์. 2543. **ชีวเคมีทางโภชนาการ**. โอ.เอส. พรินต์ติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ

A.O.A.C. 2000. **Official Method of Analysis**. 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical  
Chemists, Inc., Virginia.

Ahmad, M.H., and A.S. Diab. 2008. Replacement of fish meal protein by okara meal in practical  
diets for all – male monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), pp. 729 - 738. In  
Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International  
Symposium on Tilapia Aquaculture**. Cairo, Egypt.

Ahmed, I., M. A. Khan and A.K. Jafri. 2003. Dietary methionine requirement of fingerling  
major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Aquaculture Int.** 11: 449 – 462.

Aiura, F.S. and M.R.B. de Carvalho. 2007. Body lipid deposition in Nile tilapia fed on rations  
containing tannin. **Pesq. agropec. bras.** 42(1): 51-56.

- Alarcón, F.J., M. Díaz, F.J. Moyano and E. Abellán. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). **Fish Physiol. and Biochemistry** 19: 257–267.
- Alcaide, E.M., D.R.Y. Ruiz, A. Moumen and A.I.M. Garcia. 2003. Ruminal degradability and in vitro intestinal digestibility of sunflower meal and in vitro digestibility of olive by – products supplemented with urea or sunflower meal comparison between goats sheep. **Anim. Feed Sci. Tech.** 11: 3 – 15.
- Aldman, G. and S. Holmgren. 1995. Intraduodenal Fat and Amino Acids Activate Gallbladder Motility in the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Gen. Com. Endocrinol.** 100: 27-32.
- Anderson, J. and T.J. Hanna. 1999. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. **J Nutr.** 129: 1457–1466.
- Areeksere, M. 2003. **Cultuer and enzymatic digestive activities of freshwater pearl mussel *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* SIMPSON, 1990.** Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- Aslaksen, M.A., O.F. Kraugerud, M. Penn, B. Svihus, V. Denstadli, H.Y. Jørgensen, M. Hillestad, Å. Krogdahl and T. Storebakken. 2007. Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. **Aquaculture** 272: 541 – 555.
- Azaza, M.S., W. Kammoun, A. Abdelmouleh and M.M. Kraiem. 2008. Growth performance, feed utilization, and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with differently heated soybean-meal-based diets. **Aquaculture Int.** DOI: 10.1007/s10499-008-9220-8.

- Azaza, M.S., K. Wassim, F. Mensi, A. Abdelmouleh, B. Brini, M.M. Kraïem. 2008. Evaluation of faba beans (*Vicia faba* L. var. *minuta*) as a replacement for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 287(1-2): 174 -179.
- Badwy, T.M., E.M. Ibrahim and M.M. Zeinhom. 2008. Partial replacement of fish meal with dried microalga (*Chlorella* spp. and *Scenedesmus* spp.) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets, pp. 801 – 812. *In* Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International Symposium on Tilapia Aquaculture**. Cairo, Egypt.
- Bahurmiz, O.M. and W.K. Ng. 2007. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., raised from stocking to marketable size. **Aquaculture** 262: 382 – 392
- Bairagi, A., K.S. Ghosh, S.K. Sen and A.K. Ray. 2002. Duckweed (*Lemna polyrhiza*) leaf as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. **Biores. Technol.** 85: 17 – 24.
- Bezerra, R.S., E.J.F. Lins, R.B. Alencar, P.M.G. Paiva, M.E.C. Chaves, C.B.B. Luana and L.B. Carvalho Jr. 2005. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Proc. Biochem.** 40: 1829 – 1834.
- Biswas, A.K., H. Kaku, S.C.M. Seoka and K. Takii. 2007. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture** 267: 284 – 291.
- Borges, A., L.V. Scoutti, D.R. Siquiera, D.F. Jurinitz, and G. F. Wassermann. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiol. Biochem.** 30: 21–25.

- Cheeke, P.R. 2005. **Applied Animal Nutrition: Feed and Feeding**. 3<sup>rd</sup> ed. Pearson Prentice Hall, Newjersy.
- Chen, C.Y., G.A. Wooster and P.R. Bowser. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. **Aquaculture** 239: 421 – 443.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, R.G. Getchell, P.R. Bowser and M.B. Timmons. 2003. Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. **Aquaculture** 218: 89 – 102.
- 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.
- Cousin, M., G. Cuzon, J. Guillaume and AQUACOP. 1996. Digestibility of starch in *Penaeus vannamei*: in vivo and in vitro study on eight sample of various origin. **Aquaculture** 140: 361 – 372.
- 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.
- Dag, R.G., A.J. Raae and B.T. Walther. 1989. Partial Purification and characterization of a triglyceride lipase from cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture** 79: 177 – 184.
- Dai, W., H. Du, L. Fu, C. Jin, Z. Xu and H. Liu. 2008. Effects of dietary Pb on accumulation, histopathology, and digestive enzyme activities in the digestive system of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Biol. Trace. Elem. Res.** 127(2): 124 – 131.

- Delaney, M.A. and P.H. Klesius. 2004. Hypoxic conditions induce Hsp70 production in blood, brain and head kidney of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture** 236: 633 – 644.
- De Silva, S.S. and T.A. Anderson. 1995. **Fish Nutrition in Aquaculture**. Chapman & Hall, UK.
- Duy, A.T., J.W. Schrama, A.A.V. Dam, and J.A.J. Verreth. 2008. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 275: 152 - 162
- Eid, A.E. and S.I. Ghonim, 1994. Dietary zinc requirement of fingerling *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture** 119: 259 – 264.
- El – Beltagy, A.E., T.A. El – Adawy, E.H. Rahma and A.A. El – Bedawey. 2004. Purification and characterization of an acid protease from the viscera of boti fish (*Tilapia nilotica*). **Food Chem.** 86: 33 – 39.
- El – Sayed, A.F.M. 1999. Alternative dietary protein source for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture** 179: 149 – 168.
- \_\_\_\_\_. 2006. **Tilapia culture**. CABI publishing. UK.
- \_\_\_\_\_ and D.L. Garling. 1998. Carbohydrate – to – lipid ratio in diets for *Tilapia zillii* fingerlings. **Aquaculture** 73: 157 – 163.
- El-Sayed, Y.S., T.T. Saad and S.M. El-Bahr. 2007. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. **Environ. Toxicol. Pharmacol.** 24: 212–217.

- 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.
- Fageer, A.S.M. and A.H. El - Tinay. 2004. Effect of genotype, malt pretreatment and cooking on in vitro protein digestibility and protein fraction of corn. **Food Chem.** 84: 613 - 619.
- Fasakin, E.A., R.D. Serwata and S.J. Davies. 2005. Comparative utilization of rendered animal derived products with or without composite mixture of soybean meal in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis mossambicus*) diets. **Aquaculture** 249: 329 – 338.
- Focken, U. and K. Becker. 1998. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using  $\delta^{13}\text{C}$  data. **Oecologia** 115: 337 – 343.
- Fontainhas, F.A., E. Gomes, M.A.H. Reis and J. Coimbra. 1999. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. **Aquaculture Int.** 7: 57 – 67.
- Fox, B.K., L.G. Riley, T. Hirano and E.G. Grau. 2006. Effects of fasting on growth hormone, growth hormone receptor, and insulin-like growth factor-I axis in seawater-acclimated tilapia, *Oreochromis mossambicus*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 148(3): 340 – 347.
- Gaxiola, G., G. Cuzon, T. García, G. Taboada, R. Brito, M.E. Chimal, A. Paredes, L. Soto, C. Rosas and A. van Wormhoudt. 2005. Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Comp. Biochem. Physiol. A.** 140: 29-39.

- Gaye, S.J., U. Focken, H.J. Abel and K. Becker. 2005. Improving estimates of trophoc shift in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) using measurements of lipogenic enzyme activities in the liver. **Comp. Biochem. Physiol. A** 140: 117 – 124.
- Ghazaly, K.S. 1992. Sublethal effect of nickel on carbohydrate metabolism, blood and mineral content of *Tilapia niloticus*. **Water Air Soil Pollut.** 64: 525-532.
- Gimenez, A.V.F., I. Fernandez, R.M. Preciado, M. Oliva, D. Tova and H. Nolasco. 1999. The activity of digestive enzyme during the molting stage of the arched swimming *Callinectes Arcatus* orday, 1863. (Crustacea : decapoda: portunidae). **Bull. Mar. Sci.** 65(1): 1 – 9.
- Gisbert, E., M.C. Sarasquete, P. Williot and F. Castello – Orvay. 1999. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. **J. Fish Biol.** 55: 596 – 616.
- Glass, H. and J. Stark. 1994. Protein digestion in the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). **Comp. Biochem. Physiol. B.** 108: 225–235.
- Guillaume, J., S. Kuashik, P. Bergot and R. Me'tailler. 2001. **Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans.** Praxis Publishing, UK.
- Hagenimana, A., X. Ding and T. Fang. 2006. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. **J. Cereal Sci.** 43: 38 – 46.
- Hakim, A.N.F., M.E. Lashin, A.A. Al- Azab and H.M. Nazmi. 2008. Effect of replacing soybean meal protein by other plant protein sources on growth performance and economical efficiency of mono sex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in tanks, pp. 739 – 756. *In* Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International Symposium on Tilapia Aquaculture.** Cairo, Egypt.

- Hakim, A.N.F. 2008. An meal by other plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Diets on digestibility of nutrients using fiber or ash as markers, pp. 813 – 822. In Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International Symposium on Tilapia Aquaculture**. Cairo, Egypt.
- Halver J.E. and R.W. Hardy. 2002. **Fish Nutrition**. Academic Press, United States of America.
- 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.
- Hansen, J. Ø. and T. Storebakken. 2007. Effects of dietary cellulose level on pellet quality and nutrient digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 272: 458 – 465.
- Hashini, S., V. Reshmi and S. Sreekumar. 2003. A brain peptide stimulates release of amylase from the midgut tissue of larvae of *Opisina arenosella* Walk. (Lipidoptera : Cryptopsasidae). **Neuropeptides** 37: 133 – 139.
- Hussein, S.Y., M.A. El-Nasser and S.M. Ahmed. 1996. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut Egypt. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 57: 503–510.
- Jamil, K., G. Abbas, R. Akhat, L. Hong and L. Zhenxing. 2007. Effects of replacing fishmeal with animal by – products meal supplementation in Diets on the Growth and nutrient utilization of mangrove Red Snapper. **J. Ocean Univ. China.** 6(3): 292 – 298.

- Junming, D., M. Kangsen, A. Qinghui and Z. Wenbing. 2007. Effects of soybean oligosaccharides on lipid metabolism of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus* Temminck et Schlegel) fed animal or plant protein source-based diets. **Front. Agric. China**. 1(3): 315 – 323.
- Kaur, V.I. and P.K. Saxena. 2005. Incorporation of maize gluten in supplementary feed and its impact on growth and flesh quality of some carps. **Aquaculture Int.** 13: 555 - 573.
- Küçükbay, F.Z., H. Yazlak, N. Sahin and M.N. Cakmak. 2006. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on serum glucose, cholesterol and minerals of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Int.** 14: 259–266.
- Leenhouwers, J.I., R.C. Ortega, J.A.J. Verreth and J.W. Schrama. 2007. Digesta characteristics in relation to nutrient digestibility and mineral absorption in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed cereal grains of increasing viscosity. **Aquaculture** 273: 556 – 565.
- Lim, C., B.L. Master and J.A. Brock. 1993. Riboflavin requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater. **J. World Aqua. Soc.** 24: 451 – 458.
- Lim, C. and L. Master. 1991. In: Program and Abstracts, **World Aquaculture Society 22<sup>nd</sup> Annual Conference and Exposition**, 16 – 20 June 1991. 39.
- 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.
- Lo M.-J. and C.-F. Weng. 2006. Developmental regulation of gastric pepsin and pancreatic serine protease in larvae of the euryhaline teleost, *Oreochromis mossambicus*. **Aquaculture** 261: 1403 -1412.

- Luo, Z., Y.J. Liu, K.S. Mai, L.X. Tian, D.H. Liu, X.Y. Tan and H.Z. Lin. 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. **Aquaculture Int.** 13: 257 – 269.
- Magouz, F.I., M.O. El- Gendi, M.F.I. Salem and A.A. Elazab. 2008. Use of Cucumber, squash and broad bean leaves as non – conventional plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Diet, pp. 847 – 860. In Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International Symposium on Tilapia Aquaculture.** Cairo, Egypt.
- Mahmoud, A.B. and M.B. Al-Salahy. 2004. Physiological and histological studies on the effect of lupine seeds on the fish, *Clarias lazera* treated with glucose and alloxan. **Fish Physiol. Biochem.** 30: 213–229.
- Markweg, H., M.S. Lang and F. Wagner. 1995. Dodecanoic acid inhibition of lipase from *Acinetobacter* sp. OPA 55. **Enz. Microb. Tech.** 17: 512 – 516.
- Min, E. Y. and J.C. Kang. 2008. Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Pest. Biochem. Physiol.** 92: 138–143.
- Moreau, Y., V. Desseaux, R. Koukiekolo, G.M. Mouren and M. Santimone. 2001. Starch digestion in tropical fishes: structural studies and inhibition kinetics of  $\alpha$  - amylase from two tilapias *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron*. **Comp. Biochem. Physiol. B.** 128: 543 – 552.
- Moyle, P.B. and J.J. Cech, Jr. 2000. **Fish : An Introduction to Ichthyology.** Prentice Hall Inc., United States of America.

- Ng, W. K., P.K. Lim and H. Sidek. 2001. The influence of a dietary lipid source on growth, muscle fatty acid composition and erythrocyte osmotic fragility of hybrid tilapia. **Fish Physiol. Biochem.** 25: 301 – 310.
- Ng, W. K., K. S. Lu, R. Hashim and A. Ali. 2000. Effects of feeding rate on growth, feed utilization and body composition of a tropical bagrid catfish. **Aquaculture Int.** 8: 19 – 29.
- NRC (National Research Council). 1983. **Nutrient Requirement of Warmwater Fishes and Shellfishes.** National Academy Press, Washington D.C.
- O’Connell, J.P. and D.M. Gatlin. 1994. Effects of dietary calcium and vitamin D3 on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low – calcium water. **Aquaculture** 125: 107 – 117.
- Ogunkoya, A.E., G.I. Page, M.A. Adewolu and D.P. Bureau. 2006. Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of faecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 254: 466 – 475.
- Omondi, J. G. and J. R. Stark. 1995. Some digestive carbohydrases from the midgut gland of *Penaeus indicus* and *Penaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). **Aquaculture** 134(1): 121-135.
- Onyango, C., H. Noetzold, A. Ziemis, T. Hofmann, T. Bley and T. Henle. 2005. Digestibility and antinutritient properties of acidified and extrude maize – finger millet blend in production of uji. **LWT.** 38: 697 – 707.

- Papoutsoglous, S.E., H. Miliou, N.P. Karkatsouli, M. Tzitzinakis and S. Chadio. 2001. Growth and physiological changes in scaled carp and blue tilapia under behavioral stress in mono- and polyculture rearing using a recirculated water system. **Aquaculture Int.** **9**: 509–518.
- Pe´rez, M. I. G., M. M. Lo´pez, L. A. G. Ramı´rez, C. A. R. Banuelos and M. L. R.Marengo. 2008. Effect of Sub-lethal Concentrations of Endosulfan on Phagocytic and Hematological Parameters in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** **80**: 266–269.
- Peres, H., C. Lim and P.H. Klesius. 2004. Growth, chemical composition and resistance to Streptococcus iniae challenge of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of dietary inositol. **Aquaculture** **235**: 423–432.
- Pond, W.G., D.C. Church, K.R. Pond and P.A. Schoknecht. 2005. **Basic Animal nutrition and Feeding.** 5<sup>th</sup> ed. Wiley and Sons, Inc., New York.
- Riche, M., N.L. Trottier, P.K. Ku and D.L. Garling. 2001. Apparent digestibility of crude protein and apparent availability of individual amino acids in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed phytasepretreated soybean meal diets. **Fish Physiol. Biochem.** **25**: 181 – 194.
- Roe, S. 2001. **Protein Purification Techniques.** 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, UK.
- Roem, A.J., C.C. Kohler and R.R. Stickney. 1990. Vitamin E requirements of the blue tilapia, *Oreochromis aoreus* (Steindachner), in relation to dietary lipid level. **Aquaculture** **87**: 155 – 164.

- Sagum, R. and J. Arcot. 2000. Effect of domestic processing methods on the starch, non – starch polysaccharide and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylase. **Food Chem.** 70: 107 – 111.
- Satoh, S.T., T. Takeuchi and T. Watanabe. 1987. Requirement of tilapia for alpha tocopherol. **Nippon Suisan Gakkaishi** 53: 119 – 124.
- Semeniuk, L.M., D. Severson, A.J. Kryski, S.L. Swirp, J.D. Molkentin and H.J. Duff. 2003. **Cardiac Metabolism and Contractile Function.** Smooth muscle research group. Available source: <http://www.ucalgary.ca/smrg/dave.htm>, April 18, 2007.
- Sheng, L. J., L. J. Lin and W. T. Ting. 2006. Ontogeny of protease, amylase and lipase in the alimentary tract of hybrid Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*). **Fish Physiol. Biochem.** 32: 295–303.
- Shiau, S.Y. 1997. Utilization of carbohydrates in warmwater - fish particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 151: 79 – 96.
- Shiau, S.Y. and C.Q. Lung. 1993. No dietary vitamin B12 required for juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Comp. Biochem. Physiol. A.** 105A: 147 – 150.
- \_\_\_\_\_ and F.L. Jan. 1992. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Nippon Suisan Gakkaishi** 58: 671 – 675.
- Shiau, S.Y. and G.S. Suen. 1992. Estimation of the niacin requirements for tilapia fed diets containing glucose or dextrin. **J. Nurt.** 122: 2030 – 2036.
- \_\_\_\_\_ and H.L. Hsieh. 1997. Vitamin B6 requirements of tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus* fed dietary protein concentrations. **Fish. Sci.** 63: 1002 – 1007.

- Shiau, S.Y. and J.C. Chuang. 1995. Utilization of disaccharides by juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture** 133: 249 – 256.
- \_\_\_\_\_ and J.F. Hsieh. 2001. Quantifying the dietary potassium requirement of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Brit. Nutr.** 85: 213 – 218.
- \_\_\_\_\_ and J.Y. Hwang. 1993. Vitamin D requirement of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Nippon Suisan Gakkaishi** 59: 553 – 558.
- \_\_\_\_\_ and L.F. Shiau. 2001. Reevaluation of the vitamin E requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Anim. Sci.** 72: 529 – 534.
- \_\_\_\_\_ 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.
- Skjærvik, O.F., S. Refstie, M. A. Aslaksen and A. Skrede. 2006. Digestibility of diets containing different soybean meals in Atlantic cod (*Gadus morhua*); comparison of collection methods and mapping of digestibility in different sections of the gastrointestinal tract. **Aquaculture** 261: 241 – 258.
- 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. 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., 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.
- Tengjaroenkul, B., J. Bonnie, S.T. Caceci and S.A. Smith. 2000. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture** 182: 317 – 327.
- \_\_\_\_\_, J. Smith, S.A. Smith and U. Chatreeewongsin. 2002. Ontogenic development of the intestinal enzymes of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture** 211: 241 – 251.
- 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.
- Tibaldi, E., Y. Hakim, Z. Uni, F. Tulli, M. de Francesco, U. Luzzana and S. Harpaz. 2006. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture** 261: 182 – 193.
- Tortueroe F., E. Fernández, P. Rupérez and M. Moreno. 1997. Raffinose and lactic acid bacteria influence fermentation and serum cholesterol in rats. **Nutr. Res.** 17: 41–49.

- Tung, P.H. and S.S.Yen. 1993. Carbohydrate utilization versus body size in tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Comp. Biochem. Physiol. A.** 104: 585 – 588.
- Twibell, R. G., B. A. Watkins, L. Rogers<sup>b</sup> and P. B. Brown. 2000. Effects of dietary conjugated linoleic acids on hepatic and muscle lipids in hybrid striped bass. **Lipid** 35(2): 155 – 161.
- Wang, S. M., F. Y. Liu, Y. Z. Dong, Z. N. Xu, W. Wang and S. F. Liu. 1996. The preventive and curative effect of soybean oligosaccharides on the experimental rats with hyperlipidemia. **Acta. Nutr. Sin.** 18(2): 217–220.
- \_\_\_\_\_, F. Y. Liu, Z. N. Xu, Y. Z. Dong, W. Wang and S. F. Liu. 1997. Experimental studies on the antioxidation of soybean oligosaccharides in rats. **Acta. Nutr. Sin.** 19(4): 468–469.
- Wang, Y., L. J. Kong, C. Li and D. P. Bureau. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). **Aquaculture** 261: 1307 - 1313.
- 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.
- Wedemeyer, G.A. 1996. **Physiology of Fish in Intensive Culture System**. Chapman & Hall, United States of America.

- Welker, T.L., C. Lim, M.Y. Aksoy and P.H. Klesius. 2007. Growth, immune function, and disease and stress resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of bovine lactoferrin. **Aquaculture** 262: 156 – 162.
- Wong, D.W.S. 1995. **Food Enzyme: Structure and Mechanism**. Chapman & Hall, New York.
- Wright, J.R., Jr., C. Abraham, B.C. Dickson, H. Yang and C.M. Morrison. 1999. Streptozotocin Dose–Response Curve in Tilapia, a Glucose-Responsive Teleost Fish. **Gen. Com. Endocrinol.** 114: 431 – 410.
- Wu, S.M. and A.N. Deng. 2006. Effect of cadmium on hematological functions in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 76: 891–898.
- Xie, S. L. and Y.G. Shi. 2006. Effects of soy oligosaccharides and peptides on blood lipid metabolism of rats. **Acta. Acad. Med. Mili. Tert.** 28(9): 945–948.
- Yaniv, H., Z. Uni, G. Hulata and S. Harpaz. 2006. Relationship between intestinal brush border enzymatic activity and growth rate in tilapias fed diets containing 30% or 40% protein. **Aquaculture** 257: 420 – 428.
- Yavuzucan, H.Y., S. Pulatsu and R. Kurtoglu. 1997. Baseline haematological and serological parameters of healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Anim. Sci.** 15(4): 213-218.
- 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.

- Zead, H.Y.A., M.A. Soltan and M.S. Ibrahim. 2008. Effect of replacing soybean meal by sunflower meal in the diets for Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus* (L.)), pp. 787 – 800. In Elgobashy, H., K. Fitzsimmon and A.S. Diab, eds. **The Eight International Symposium on Tilapia Aquaculture**. Cairo, Egypt.
- Zeng, F. and A.C. Cohen. 2000. Partial characterization of  $\alpha$  - amylase in the salivary glands of *Lygus Hesperus* and *L. lineolaris*. **Comp. Biochem. Physiol.** 126: 9 – 16.
- Zhang, X., P. Xie, W. Wang, D. Li and Z. Shi. 2007. Plasma biochemical responses of the omnivorous crucian carp (*Carassius auratus*) to crude cyanobacterial extracts. **Fish Physiol Biochem.** DOI: 10.1007/s10695-007-9191-0.

### ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH        | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/mg protein) <sup>*1</sup> |                             |                              |                             |
|-----------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|           | ตับ                                                            | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนบน                  | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| 2         | 0.014 ± 0.000 <sup>h</sup>                                     | 0.174 ± 0.072 <sup>g</sup>  | 0.042 ± 0.009 <sup>g</sup>   | 0.029 ± 0.005 <sup>g</sup>  |
| 3         | 0.082 ± 0.004 <sup>h</sup>                                     | 0.163 ± 0.008 <sup>g</sup>  | 0.031 ± 0.004 <sup>g</sup>   | 0.113 ± 0.005 <sup>g</sup>  |
| 4         | 0.148 ± 0.005 <sup>h</sup>                                     | 0.551 ± 0.079 <sup>g</sup>  | 0.597 ± 0.089 <sup>g</sup>   | 0.776 ± 0.089 <sup>g</sup>  |
| 5         | 0.923 ± 0.036 <sup>g</sup>                                     | 2.253 ± 0.270 <sup>f</sup>  | 4.115 ± 0.191 <sup>f</sup>   | 6.577 ± 0.563 <sup>f</sup>  |
| 6         | 1.753 ± 0.112 <sup>f</sup>                                     | 4.180 ± 0.239 <sup>c</sup>  | 13.270 ± 0.042 <sup>c</sup>  | 15.680 ± 0.056 <sup>c</sup> |
| 7         | 3.525 ± 0.281 <sup>c</sup>                                     | 7.581 ± .685 <sup>d</sup>   | 14.720 ± 0.325 <sup>d</sup>  | 18.280 ± 0.127 <sup>d</sup> |
| 8         | 4.250 ± 0.363 <sup>d</sup>                                     | 11.780 ± 0.367 <sup>b</sup> | 16.585 ± 0.091 <sup>c</sup>  | 20.300 ± 0.395 <sup>c</sup> |
| 9         | 6.405 ± 0.215 <sup>b</sup>                                     | 13.515 ± 0.134 <sup>a</sup> | 20.410 ± 0.070 <sup>a</sup>  | 21.760 ± 0.551 <sup>b</sup> |
| 10        | 7.894 ± 0.301 <sup>a</sup>                                     | 11.865 ± 0.388 <sup>b</sup> | 20.230 ± 0.042 <sup>ab</sup> | 22.565 ± 0.374 <sup>b</sup> |
| 11        | 6.832 ± 0.481 <sup>b</sup>                                     | 9.808 ± 0.567 <sup>c</sup>  | 16.765 ± 0.403 <sup>c</sup>  | 21.885 ± 0.742 <sup>b</sup> |
| 12        | 5.506 ± 0.020 <sup>c</sup>                                     | 11.235 ± 0.247 <sup>b</sup> | 19.875 ± 0.233 <sup>b</sup>  | 24.260 ± 0.183 <sup>a</sup> |
| 13        | 0.043 ± 0.004 <sup>h</sup>                                     | 0.146 ± 0.032 <sup>g</sup>  | 0.018 ± 0.006 <sup>g</sup>   | 0.079 ± 0.005 <sup>g</sup>  |
| P - value | 0.0001                                                         | 0.0001                      | 0.0001                       | 0.0001                      |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95

\*<sup>1</sup> Abs/min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH               | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                            |                              |                             |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|                  | ตับ                                                                | กระเพาะ                    | ลำไส้ส่วนบน                  | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| 2                | 0.041 ± 0.012 <sup>d</sup>                                         | 0.092 ± 0.008 <sup>c</sup> | 0.145 ± 0.006 <sup>f</sup>   | 0.109 ± 0.027 <sup>f</sup>  |
| 3                | 0.066 ± 0.012 <sup>d</sup>                                         | 0.289 ± 0.096 <sup>c</sup> | 0.053 ± 0.025 <sup>f</sup>   | 0.393 ± 0.007 <sup>f</sup>  |
| 4                | 0.178 ± 0.064 <sup>d</sup>                                         | 0.492 ± 0.069 <sup>c</sup> | 0.564 ± 0.012 <sup>f</sup>   | 0.136 ± 0.000 <sup>f</sup>  |
| 5                | 1.178 ± 0.129 <sup>cd</sup>                                        | 1.261 ± 0.530 <sup>d</sup> | 5.165 ± 0.193 <sup>c</sup>   | 5.009 ± 0.443 <sup>c</sup>  |
| 6                | 2.548 ± 0.821 <sup>c</sup>                                         | 2.116 ± 0.104 <sup>c</sup> | 14.543 ± 0.654 <sup>d</sup>  | 13.919 ± 0.084 <sup>d</sup> |
| 7                | 4.672 ± 0.586 <sup>b</sup>                                         | 3.906 ± 0.113 <sup>b</sup> | 17.520 ± 0.785 <sup>c</sup>  | 17.545 ± 1.498 <sup>c</sup> |
| 8                | 5.506 ± 0.615 <sup>b</sup>                                         | 6.225 ± 0.644 <sup>a</sup> | 21.287 ± 1.385 <sup>b</sup>  | 19.371 ± 1.139 <sup>c</sup> |
| 9                | 9.353 ± 0.622 <sup>a</sup>                                         | 5.887 ± 0.252 <sup>a</sup> | 23.131 ± 0.149 <sup>ab</sup> | 25.694 ± 0.977 <sup>a</sup> |
| 10               | 9.921 ± 1.308 <sup>a</sup>                                         | 4.386 ± 0.461 <sup>b</sup> | 23.917 ± 2.158 <sup>a</sup>  | 23.535 ± 0.190 <sup>b</sup> |
| 11               | 8.494 ± 1.895 <sup>a</sup>                                         | 4.300 ± 0.200 <sup>b</sup> | 23.065 ± 0.094 <sup>ab</sup> | 22.038 ± 1.632 <sup>b</sup> |
| 12               | 9.104 ± 0.176 <sup>a</sup>                                         | 4.189 ± 0.357 <sup>b</sup> | 22.152 ± 0.062 <sup>ab</sup> | 21.893 ± 0.091 <sup>b</sup> |
| 13               | -                                                                  | 0.074 ± 0.000 <sup>c</sup> | 0.035 ± 0.000 <sup>f</sup>   | 0.398 ± 0.047 <sup>f</sup>  |
| <i>P</i> - value | 0.0001                                                             | 0.0001                     | 0.0001                       | 0.0001                      |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> Abs/min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH               | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                             |                               |                              |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                  | ตับ                                                                | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนบน                   | ลำไส้ส่วนปลาย                |
| 2                | 0.216 ± 0.009 <sup>bcd</sup>                                       | 0.069 ± 0.032 <sup>e</sup>  | 1.014 ± 0.162 <sup>d</sup>    | 3.136 ± 1.522 <sup>de</sup>  |
| 3                | 0.024 ± 0.004 <sup>e</sup>                                         | 0.344 ± 0.118 <sup>de</sup> | 0.027 ± 0.038 <sup>d</sup>    | 0.353 ± 0.032 <sup>e</sup>   |
| 4                | 0.077 ± 0.000 <sup>e</sup>                                         | 0.474 ± 0.021 <sup>de</sup> | 0.509 ± 0.163 <sup>d</sup>    | 1.332 ± 0.420 <sup>de</sup>  |
| 5                | 0.300 ± 0.098 <sup>b</sup>                                         | 1.063 ± 0.183 <sup>c</sup>  | 3.046 ± 0.015 <sup>d</sup>    | 5.617 ± 2.145 <sup>d</sup>   |
| 6                | 0.275 ± 0.004 <sup>bc</sup>                                        | 1.338 ± 0.270 <sup>c</sup>  | 17.839 ± 0.634 <sup>abc</sup> | 10.511 ± 3.051 <sup>c</sup>  |
| 7                | 0.265 ± 0.049 <sup>bcd</sup>                                       | 2.408 ± 0.226 <sup>a</sup>  | 14.272 ± 4.299 <sup>c</sup>   | 16.687 ± 0.420 <sup>b</sup>  |
| 8                | 0.136 ± 0.093 <sup>cde</sup>                                       | 1.193 ± 0.151 <sup>c</sup>  | 16.431 ± 0.240 <sup>bc</sup>  | 16.144 ± 3.812 <sup>b</sup>  |
| 9                | 0.509 ± 0.108 <sup>a</sup>                                         | 1.896 ± 0.388 <sup>b</sup>  | 19.976 ± 0.634 <sup>ab</sup>  | 23.923 ± 1.406 <sup>a</sup>  |
| 10               | 0.240 ± 0.054 <sup>bcd</sup>                                       | 2.852 ± 0.270 <sup>a</sup>  | 21.252 ± 2.611 <sup>a</sup>   | 23.831 ± 0.550 <sup>a</sup>  |
| 11               | 0.335 ± 0.069 <sup>b</sup>                                         | 1.934 ± 0.205 <sup>b</sup>  | 17.724 ± 1.525 <sup>abc</sup> | 21.499 ± 0.847 <sup>a</sup>  |
| 12               | 0.129 ± 0.024 <sup>cd</sup>                                        | 0.313 ± 0.226 <sup>de</sup> | 18.310 ± 2.696 <sup>abc</sup> | 14.632 ± 1.920 <sup>bc</sup> |
| 13               | 0.010 ± 0.004 <sup>e</sup>                                         | 0.589 ± 0.032 <sup>d</sup>  | 15.746 ± 0.217 <sup>c</sup>   | 13.443 ± 3.283 <sup>bc</sup> |
| <i>P</i> - value | 0.0001                                                             | 0.0001                      | 0.0001                        | 0.0001                       |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> Abs/min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 4 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH        | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ ( $\mu\text{g}$ of glucose/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                         |                      |                         |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|
|           | ตับ                                                                                       | กระเพาะ                 | ลำไส้ส่วนบน          | ลำไส้ส่วนปลาย           |
| 2         | $3.111 \pm 0.196^f$                                                                       | $0.149 \pm 0.007^g$     | $0.259 \pm 0.079^c$  | $0.223 \pm 0.011^g$     |
| 3         | $9.030 \pm 0.668^c$                                                                       | $0.044 \pm 0.015^g$     | $0.647 \pm 0.004^c$  | $0.202 \pm 0.028^g$     |
| 4         | $11.195 \pm 0.960^d$                                                                      | $1.571 \pm 0.369^f$     | $2.677 \pm 0.237^d$  | $1.601 \pm 0.193^f$     |
| 5         | $14.506 \pm 1.156^c$                                                                      | $4.809 \pm 0.267^e$     | $13.862 \pm 0.049^b$ | $7.656 \pm 0.210^d$     |
| 6         | $19.254 \pm 0.111^a$                                                                      | $13.284 \pm 0.675^a$    | $17.538 \pm 0.133^a$ | $16.545 \pm 0.023^a$    |
| 7         | $17.764 \pm 1.632^{ab}$                                                                   | $10.213 \pm 0.290^c$    | $14.675 \pm 1.972^b$ | $13.342 \pm 0.679^b$    |
| 8         | $17.460 \pm 0.676^{ab}$                                                                   | $11.118 \pm 0.235^b$    | $14.086 \pm 0.852^b$ | $12.382 \pm 0.187^c$    |
| 9         | $13.953 \pm 0.080^c$                                                                      | $6.752 \pm 0.258^d$     | $8.209 \pm 1.095^c$  | $12.734 \pm 0.287^{bc}$ |
| 10        | $14.842 \pm 1.177^c$                                                                      | $5.309 \pm 0.015^c$     | $8.665 \pm 0.509^c$  | $5.446 \pm 0.550^c$     |
| 11        | $17.257 \pm 0.115^b$                                                                      | $10.824 \pm 0.698^{bc}$ | $16.364 \pm 0.039^a$ | $13.102 \pm 0.222^{bc}$ |
| 12        | $15.120 \pm 0.692^c$                                                                      | $4.764 \pm 0.125^c$     | $0.781 \pm 0.084^c$  | $12.924 \pm 0.427^{bc}$ |
| 13        | $10.448 \pm 0.379^{dc}$                                                                   | $0.260 \pm 0.023^g$     | $0.287 \pm 0.039^c$  | $0.335 \pm 0.216^g$     |
| P - value | 0.0001                                                                                    | 0.0001                  | 0.0001               | 0.0001                  |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> Abs/min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH        | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ ( $\mu\text{g}$ of glucose/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                      |                         |                      |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|
|           | ตับ                                                                                       | กระเพาะ              | ลำไส้ส่วนบน             | ลำไส้ส่วนปลาย        |
| 2         | $3.776 \pm 0.550^g$                                                                       | $0.187 \pm 0.008^g$  | $0.230 \pm 0.018^{efg}$ | $0.534 \pm 0.076^c$  |
| 3         | $10.477 \pm 0.712^f$                                                                      | $0.502 \pm 0.111^g$  | $0.534 \pm 0.055^{cd}$  | $0.073 \pm 0.007^e$  |
| 4         | $14.794 \pm 0.451^c$                                                                      | $0.363 \pm 0.137^g$  | $0.321 \pm 0.073^{def}$ | $1.632 \pm 0.492^e$  |
| 5         | $18.075 \pm 1.481^d$                                                                      | $3.359 \pm 0.017^f$  | $1.008 \pm 0.085^b$     | $1.554 \pm 0.229^e$  |
| 6         | $21.700 \pm 1.226^{abc}$                                                                  | $10.384 \pm 0.651^b$ | $1.878 \pm 0.012^a$     | $4.056 \pm 0.200^d$  |
| 7         | $23.971 \pm 1.058^a$                                                                      | $7.150 \pm 0.248^c$  | $1.100 \pm 0.350^b$     | $16.363 \pm 0.138^a$ |
| 8         | $23.668 \pm 1.636^{ab}$                                                                   | $12.433 \pm 0.583^a$ | $0.639 \pm 0.018^c$     | $13.351 \pm 0.651^b$ |
| 9         | $17.351 \pm 3.257^{de}$                                                                   | $5.737 \pm 0.033^d$  | $0.465 \pm 0.055^{cde}$ | $5.630 \pm 0.777^d$  |
| 10        | $18.312 \pm 0.729^d$                                                                      | $3.450 \pm 0.488^f$  | $0.034 \pm 0.000^g$     | $4.992 \pm 1.068^d$  |
| 11        | $20.575 \pm 2.170^{bcd}$                                                                  | $4.178 \pm 0.231^e$  | $0.103 \pm 0.012^{gf}$  | $7.484 \pm 1.942^c$  |
| 12        | $19.069 \pm 0.214^{cd}$                                                                   | $0.138 \pm 0.026^g$  | $0.117 \pm 0.018^{gf}$  | $0.185 \pm 0.041^e$  |
| 13        | $7.982 \pm 0.492^f$                                                                       | $0.411 \pm 0.017^g$  | $0.077 \pm 0.024^{gf}$  | $0.068 \pm 0.014^e$  |
| P - value | 0.0001                                                                                    | 0.0001               | 0.0001                  | 0.0001               |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> Abs/min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 6 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH               | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (U/mg protein) <sup>*1</sup> |                               |                                |                               |
|------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                  | ตับ                                                           | กระเพาะ                       | ลำไส้ส่วนบน                    | ลำไส้ส่วนปลาย                 |
| 2                | 67.153 ± 10.355 <sup>a</sup>                                  | 35.149 ± 5.106 <sup>a</sup>   | 32.655 ± 7.739 <sup>a</sup>    | 25.412 ± 4.123 <sup>a</sup>   |
| 3                | 23.528 ± 1.765 <sup>c</sup>                                   | 9.497 ± 1.684 <sup>cd</sup>   | 8.637 ± 1.443 <sup>c</sup>     | 3.976 ± 2.694 <sup>c</sup>    |
| 4                | 34.015 ± 4.163 <sup>cde</sup>                                 | 30.792 ± 17.344 <sup>ab</sup> | 14.579 ± 0.939 <sup>bc</sup>   | 13.769 ± 2.037 <sup>bcd</sup> |
| 5                | 42.785 ± 1.322 <sup>bcd</sup>                                 | 16.341 ± 8.464 <sup>bcd</sup> | 19.501 ± 4.904 <sup>bc</sup>   | 18.489 ± 5.681 <sup>abc</sup> |
| 6                | 26.366 ± 2.578 <sup>de</sup>                                  | 18.038 ± 0.032 <sup>bcd</sup> | 13.899 ± 3.215 <sup>bc</sup>   | 11.510 ± 0.871 <sup>cde</sup> |
| 7                | 43.930 ± 2.329 <sup>bc</sup>                                  | 23.201 ± 1.513 <sup>abc</sup> | 21.478 ± 10.344 <sup>abc</sup> | 20.243 ± 8.147 <sup>abc</sup> |
| 8                | 52.732 ± 7.042 <sup>ab</sup>                                  | 31.260 ± 5.149 <sup>ab</sup>  | 25.816 ± 4.056 <sup>ab</sup>   | 21.450 ± 0.579 <sup>ab</sup>  |
| 9                | 44.144 ± 17.865 <sup>bc</sup>                                 | 25.320 ± 4.317 <sup>ab</sup>  | 23.174 ± 0.427 <sup>ab</sup>   | 20.137 ± 2.808 <sup>abc</sup> |
| 10               | 47.796 ± 7.582 <sup>bc</sup>                                  | 27.121 ± 7.015 <sup>ab</sup>  | 24.822 ± 2.620 <sup>ab</sup>   | 20.076 ± 2.722 <sup>abc</sup> |
| 11               | 53.537 ± 7.636 <sup>ab</sup>                                  | 27.543 ± 0.490 <sup>ab</sup>  | 24.984 ± 1.994 <sup>ab</sup>   | 20.460 ± 1.764 <sup>abc</sup> |
| 12               | 55.820 ± 2.451 <sup>ab</sup>                                  | 23.420 ± 1.268 <sup>abc</sup> | 16.994 ± 5.958 <sup>bc</sup>   | 22.173 ± 3.915 <sup>ab</sup>  |
| 13               | 41.034 ± 3.827 <sup>bcd</sup>                                 | 4.393 ± 0.564 <sup>d</sup>    | 8.497 ± 8.885 <sup>c</sup>     | 7.316 ± 2.415 <sup>cd</sup>   |
| <i>P</i> - value | 0.0028                                                        | 0.0124                        | 0.0165                         | 0.0021                        |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup>  $\mu\text{g of glucose/min/mg protein} = \text{U/mg protein}$

ตารางผนวกที่ 7 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 5.7 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH        | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                             |                             |                            |
|-----------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|           | ตับ                                                                | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนบน                 | ลำไส้ส่วนปลาย              |
| 2         | 0.767 ± 0.010 <sup>hi</sup>                                        | 0.596 ± 0.000 <sup>e</sup>  | 0.284 ± 0.096 <sup>f</sup>  | 0.245 ± 0.014 <sup>f</sup> |
| 3         | 0.171 ± 0.010 <sup>i</sup>                                         | 0.172 ± 0.000 <sup>e</sup>  | 0.550 ± 0.07 <sup>f</sup>   | 0.181 ± 0.002 <sup>f</sup> |
| 4         | 0.173 ± 0.016 <sup>i</sup>                                         | 0.797 ± 0.009 <sup>de</sup> | 3.084 ± 0.082 <sup>f</sup>  | 3.021 ± 0.099 <sup>d</sup> |
| 5         | 1.527 ± 0.258 <sup>g</sup>                                         | 2.678 ± 0.189 <sup>c</sup>  | 4.230 ± 0.121 <sup>f</sup>  | 3.152 ± 0.041 <sup>d</sup> |
| 6         | 2.810 ± 0.065 <sup>f</sup>                                         | 1.835 ± 0.016 <sup>cd</sup> | 7.187 ± 0.357 <sup>de</sup> | 7.956 ± 1.028 <sup>b</sup> |
| 7         | 7.667 ± 0.188 <sup>e</sup>                                         | 1.752 ± 0.185 <sup>cd</sup> | 9.074 ± 0.510 <sup>c</sup>  | 9.767 ± 0.938 <sup>a</sup> |
| 8         | 12.957 ± 0.142 <sup>b</sup>                                        | 6.831 ± 1.318 <sup>a</sup>  | 17.033 ± 0.492 <sup>a</sup> | 9.265 ± 0.311 <sup>a</sup> |
| 9         | 9.085 ± 0.400 <sup>d</sup>                                         | 0.908 ± 0.127 <sup>de</sup> | 7.996 ± 1.045 <sup>cd</sup> | 3.759 ± 0.539 <sup>d</sup> |
| 10        | 15.100 ± 0.923 <sup>a</sup>                                        | 4.007 ± 0.384 <sup>b</sup>  | 15.685 ± 1.216 <sup>b</sup> | 6.392 ± 0.016 <sup>c</sup> |
| 11        | 11.035 ± 0.132 <sup>c</sup>                                        | 0.370 ± 0.078 <sup>e</sup>  | 6.744 ± 0.519 <sup>de</sup> | 1.493 ± 0.175 <sup>e</sup> |
| 12        | 13.070 ± 0.213 <sup>b</sup>                                        | 4.029 ± 0.515 <sup>b</sup>  | 6.102 ± 0.829 <sup>e</sup>  | 1.558 ± 0.043 <sup>e</sup> |
| 13        | 1.226 ± 0.154 <sup>hg</sup>                                        | -                           | 4.154 ± 0.553 <sup>f</sup>  | -                          |
| P - value | 0.0001                                                             | 0.0001                      | 0.0001                      | 0.0001                     |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> mg/mL of n- nitrophenol /min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 8 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 35.8 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH               | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/min/mg protein) <sup>*1</sup> |                             |                             |                             |
|------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                  | ตับ                                                                | กระเพาะ                     | ลำไส้ส่วนบน                 | ลำไส้ส่วนปลาย               |
| 2                | 0.718 ± 0.038 <sup>g</sup>                                         | 0.084 ± 0.003 <sup>e</sup>  | 0.389 ± 0.084 <sup>d</sup>  | 0.420 ± 0.040 <sup>e</sup>  |
| 3                | 0.192 ± 0.070 <sup>g</sup>                                         | 0.072 ± 0.007 <sup>e</sup>  | 0.908 ± 0.056 <sup>d</sup>  | 1.111 ± 0.106 <sup>e</sup>  |
| 4                | 0.711 ± 0.187 <sup>g</sup>                                         | 0.162 ± 0.000 <sup>e</sup>  | 0.978 ± 0.109 <sup>d</sup>  | 0.640 ± 0.098 <sup>e</sup>  |
| 5                | 1.004 ± 0.144 <sup>g</sup>                                         | 1.586 ± 0.110 <sup>c</sup>  | 4.720 ± 0.235 <sup>c</sup>  | 4.113 ± 0.201 <sup>d</sup>  |
| 6                | 2.921 ± 0.519 <sup>f</sup>                                         | 1.964 ± 0.395 <sup>c</sup>  | 6.892 ± 0.710 <sup>c</sup>  | 9.385 ± 0.803 <sup>ab</sup> |
| 7                | 7.382 ± 0.024 <sup>e</sup>                                         | 2.060 ± 0.124 <sup>c</sup>  | 20.248 ± 0.421 <sup>a</sup> | 9.872 ± 1.123 <sup>a</sup>  |
| 8                | 8.705 ± 0.074 <sup>d</sup>                                         | 4.383 ± 0.238 <sup>a</sup>  | 18.784 ± 0.355 <sup>a</sup> | 8.611 ± 0.913 <sup>ab</sup> |
| 9                | 8.007 ± 0.100 <sup>de</sup>                                        | 1.465 ± 0.559 <sup>c</sup>  | 13.181 ± 0.408 <sup>b</sup> | 4.225 ± 0.781 <sup>d</sup>  |
| 10               | 13.684 ± 0.111 <sup>a</sup>                                        | 0.784 ± 0.167 <sup>d</sup>  | 15.150 ± 1.272 <sup>b</sup> | 1.301 ± 0.719 <sup>e</sup>  |
| 11               | 9.800 ± 0.112 <sup>c</sup>                                         | 4.020 ± 0.467 <sup>a</sup>  | 5.378 ± 2.652 <sup>c</sup>  | 3.330 ± 0.403 <sup>d</sup>  |
| 12               | 11.374 ± 1.598 <sup>b</sup>                                        | 2.800 ± 0.167 <sup>b</sup>  | 6.791 ± 0.976 <sup>c</sup>  | 6.440 ± 0.023 <sup>c</sup>  |
| 13               | 10.152 ± 0.317 <sup>c</sup>                                        | 0.480 ± 0.056 <sup>de</sup> | 0.066 ± 0.000 <sup>d</sup>  | 7.995 ± 1.242 <sup>b</sup>  |
| <i>P</i> - value | 0.0001                                                             | 0.0001                      | 0.0001                      | 0.0001                      |

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>\*1</sup> mg/mL of n- nitrophenol /min/mg protein = U/mg protein

ตารางผนวกที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม ที่ pH และ อวัยวะต่างๆ

| pH               | กิจกรรมของเอนไซม์ที่อวัยวะต่าง ๆ (mU/min/mg protein) * <sup>1</sup> |                              |                             |                              |
|------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                  | ตับ                                                                 | กระเพาะ                      | ลำไส้ส่วนบน                 | ลำไส้ส่วนปลาย                |
| 2                | 0.433 ± 0.034 <sup>d</sup>                                          | 2.613 ± 0.628 <sup>bcd</sup> | 1.839 ± 0.123 <sup>e</sup>  | 2.677 ± 0.133 <sup>bc</sup>  |
| 3                | 0.023 ± 0.007 <sup>e</sup>                                          | 1.570 ± 0.748 <sup>ed</sup>  | 1.527 ± 0.069 <sup>e</sup>  | 1.418 ± 0.032 <sup>def</sup> |
| 4                | 0.358 ± 0.089 <sup>d</sup>                                          | 3.572 ± 0.974 <sup>b</sup>   | 3.607 ± 0.878 <sup>bc</sup> | 3.320 ± 0.371 <sup>ab</sup>  |
| 5                | 0.399 ± 0.131 <sup>d</sup>                                          | 3.023 ± 0.173 <sup>bc</sup>  | 2.294 ± 0.552 <sup>de</sup> | 2.207 ± 0.181 <sup>cd</sup>  |
| 6                | 0.290 ± 0.135 <sup>d</sup>                                          | 2.084 ± 0.411 <sup>cde</sup> | 1.426 ± 0.028 <sup>e</sup>  | 0.607 ± 0.055 <sup>f</sup>   |
| 7                | 0.989 ± 0.161 <sup>c</sup>                                          | 1.053 ± 0.433 <sup>e</sup>   | 1.534 ± 0.048 <sup>e</sup>  | 1.504 ± 0.356 <sup>de</sup>  |
| 8                | 1.501 ± 0.125 <sup>a</sup>                                          | 3.693 ± 0.243 <sup>b</sup>   | 5.010 ± 0.342 <sup>a</sup>  | 1.986 ± 0.463 <sup>cd</sup>  |
| 9                | 1.021 ± 0.093 <sup>bc</sup>                                         | 1.858 ± 0.376 <sup>ced</sup> | 3.246 ± 0.927 <sup>cd</sup> | 4.107 ± 0.962 <sup>a</sup>   |
| 10               | 0.017 ± 0.020 <sup>d</sup>                                          | 5.598 ± 0.066 <sup>a</sup>   | 4.550 ± 0.980 <sup>ab</sup> | 1.061 ± 0.021 <sup>ef</sup>  |
| 11               | 1.218 ± 0.004 <sup>b</sup>                                          | 1.827 ± 0.376 <sup>ed</sup>  | 2.124 ± 0.494 <sup>de</sup> | 1.670 ± 0.199 <sup>de</sup>  |
| 12               | 0.488 ± 0.098 <sup>d</sup>                                          | 1.605 ± 0.195 <sup>ed</sup>  | 1.835 ± 0.181 <sup>e</sup>  | 1.585 ± 0.222 <sup>de</sup>  |
| 13               | -                                                                   | -                            | -                           | -                            |
| <i>P</i> - value | 0.0001                                                              | 0.0001                       | 0.0003                      | 0.0001                       |

ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*<sup>1</sup> mg/mL of n- nitrophenol /min/mg protein = U/mg protein

### ประวัติการศึกษา และการทำงาน

|                                |                                                                      |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ –นามสกุล                  | นางสาวรุ่งกานต์ กล้าหาญ                                              |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด           | 17 พฤษภาคม 2521                                                      |
| สถานที่เกิด                    | เพชรบุรี                                                             |
| ประวัติการศึกษา                | วิทยาศาสตรบัณฑิต (ประมง)<br>วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) |
| ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน   | -                                                                    |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน           | -                                                                    |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | -                                                                    |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ           | ทุนพัฒนาอาจารย์มหาวิทยาลัยนเรศวร<br>ทุนสนับสนุนวิทยานิพนธ์           |