



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสวาย

Pangasianodon hypophthalmus Sauvage, 1878

Digestive Enzyme Activities, Apparent Digestibility Coefficient and Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in Striped Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878

นามผู้วิจัย นางวรรณภา รังสินธุ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์นนทวิทย์ อารีชัน, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรืองวิชญ์ ยืนพันธ์, D.Tech.Sc.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์เชษฐา พิษิตกุล, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริม
เอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสวาย *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage,
1878

Digestive Enzyme Activities, Apparent Digestibility Coefficient and Effect of Enzyme
Supplement on Feed Utilization in Striped Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage,
1878

โดย

นางวรรณภา รังสินธุ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ.2555

วรรณภา รังสินธุ์ 2555: กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวย *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 ปรินญาปรัชญาคุณุภินันท์ (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ ดร. อาริย์ชน, Ph.D. 125 หน้า

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในปลาสาวยระยะต่าง ๆ พบว่า ลูกปลา มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease และ lipase ตั้งแต่แรกฟัก ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ amylase พบเมื่อลูกปลา อายุ 1 วัน ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease พบเมื่อลูกปลา มีอายุ 3 วัน การพัฒนาเอนไซม์ทั้ง สามชนิดมีรูปแบบคล้ายกันคือช่วงสองสัปดาห์แรกมีค่าขึ้นลงไม่มีรูปแบบที่แน่นอน หลังจากนั้นกิจกรรมของ เอนไซม์จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุของลูกปลา กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 30 กรัม มีค่าสูงกว่าปลาสาวย วัยรุ่นขนาด 10 กรัม กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 10 กรัม มี ค่าสูงสุดที่ พีเอช 3, 7 และ 9 ตามลำดับ ส่วนปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 30 กรัม มีค่าสูงสุดที่พีเอช 3, 7 และ 12 ตามลำดับ การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารแบบ *in vitro* ในวัตถุดิบต่าง ๆ พบว่า ปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 30 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่นสูงกว่าปลาขนาด 10 กรัม ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจาก พืชได้แก่ กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน กากคาโนล่า และ distillers dried grains soluble (DDGS) ของปลา ทั้งสองขนาดไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) การศึกษาผลของการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ protease จาก แบคทีเรีย *Bacillus* sp. และการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวย พบว่า ปัจจัยทั้งสองไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการ ใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวย ทั้งค่าการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร องค์ประกอบ ทางเคมีของเนื้อปลา ค่า hepatosomatic index และกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลาสาวย ($P > 0.05$) และ เมื่อทดสอบอิทธิพลของแต่ละปัจจัยพบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease ไม่ทำให้ค่าการใช้ประโยชน์ ของอาหารของปลาแตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ มีผล ทำให้ค่าการใช้ประโยชน์ของอาหารมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีน จากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการใช้ประโยชน์ของอาหารไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับ กลุ่มที่ไม่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม)

จากผลการศึกษาจึงสามารถสรุปได้ว่า ในการเลี้ยงปลาสาวยขนาด 20 กรัมสามารถใช้อาหารทดแทน โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่มีต้นทุนลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ อาหารกลุ่มควบคุมจึงจัดเป็นสูตรอาหารที่มีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

Wannapa Rangsin 2012: Digestive Enzyme Activities, Apparent Digestibility Coefficient and Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in Striped Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878. Doctor of Philosophy (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Nontawith Areechon, Ph.D. 125 pages.

Activity of digestive enzymes, protease, amylase and lipase, in different stages of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 was investigated. For the larval stage, activity of acid protease and lipase was detected at hatching while amylase and alkaline protease were detected at 1 and 3 days after hatching (DAH), respectively. Development pattern of these enzymes in the larval stage were similar in which the activity were fluctuated during the first two weeks and then steadily increased onwards. Protease, amylase and lipase activity in stomach, anterior intestine, posterior intestine and liver of 30 g striped catfish were significantly higher than 10 g fish ($P < 0.05$). The highest activity of protease, amylase and lipase of 10 g striped catfish were detected at pH 3, 7 and 9, respectively and pH 3, 7 and 12, respectively for the 30 g fish. Apparent digestibility coefficient in different protein sources revealed the better digestion of fish meal in 30 g fish than the 10 g fish ($P < 0.05$). While there were no significant differences of digestibility coefficient of plant protein sources including soybean, canola, sunflower meal and distillers dried grains with soluble (DDGS) between the two sizes of fish ($P > 0.05$). Replacement of fish meal by soybean meal at 0, 50, 75 and 100% with supplementation of protease from *Bacillus* sp. was studied in 20 g striped catfish. After 12 weeks of feeding trial, it was found that supplementation of bacterial protease in normal feed or replacement feed did not cause any significant differences of growth performances, feed utilization and protease activity ($P > 0.05$). Replacement of fishmeal with soybean meal at 0 and 50% did not cause any significant impact on growth, feed utilization and protease activity ($P > 0.05$) while 75 and 100% replacement caused negative impact on these values when compared with the control ($P < 0.05$). This result indicated the possibility to formulate the cost effective diet for 20 g striped catfish by replacing fishmeal at 50% with soybean meal without any negative impact on growth rate.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.นนทวิทย์ อารีรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย และการแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรืองวิทย์ ชื่นพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.อรพินท์ จินตสถาพร ประธานการสอบ และ ดร.อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่ให้ทุนการศึกษา แก่บุคลากรด้านการวิจัยการเกษตร ประจำปี 2548 ขอขอบพระคุณกรมประมงที่อนุมัติให้ลาศึกษาต่อ ขอขอบพระคุณศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดปทุมธานีที่ให้ความอนุเคราะห์ลูกปลาสาวย

ขอขอบคุณ ผศ.วิกรม รังสินธุ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยโดยเฉพาะในการศึกษาด้านเนื้อเยื่อวิทยาของปลาสาวย รวมทั้งขอขอบคุณ คุณรุ่งกานต์ กล้าหาญ น้อง ๆ ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์น้ำ เจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืดทุกท่าน รวมทั้งเพื่อน ๆ และน้องทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณแม่ และครอบครัวที่ให้อำลังใจ และสนับสนุนในทุกๆด้าน

วรรณภา รังสินธุ์

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	23
ผลและวิจารณ์	39
ผล	39
วิจารณ์	74
สรุปและข้อเสนอแนะ	99
สรุป	99
ข้อเสนอแนะ	101
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	103
ภาคผนวก	118
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	125

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของอาหาร และ คุณภาพทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง	35
2	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยขนาด 10 กรัมและ 30 กรัม	50
3	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยวัยรุ่น ขนาด 10 และ 30 กรัม	54
4	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ($\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม	58
5	ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบแบบ <i>in vitro</i> ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก กระเพาะอาหารปลาสาวยขนาด 10 และ 30 กรัม	60
6	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชของ เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ปริมาณเอนไซม์ 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 และ 0.40 unit ต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบ 1 กรัม	61
7	น้ำหนักเริ่มต้นและอัตราการรอดของปลาสาวยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจาก ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมี ปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	62
8	การเจริญเติบโตของปลาสาวยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกาก ถั่วเหลือง , 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
9	ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	65
10	เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง (skin fillet) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และค่า hepatosomatic index (HSI) ของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ Protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	67
11	กิจกรรมของเอนไซม์ protease ของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	69
ตารางผนวกที่		
1	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสวาย 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	119
2	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสวาย 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	120
3	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสวาย 10 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12	121
4	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสวาย 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	122

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส $\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 10 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12	123
6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส $\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 30 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12	124

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การผสมเทียมปลาซวาย โดยที่ (A) ริดไข่ปลา (B) ริดน้ำเชื้อผสมกับไข่ (C) ใช้เชือกพลาสติกเป็นวัสดุให้ไข่ปลาติด (D) นำไข่ปลาฟักในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 1.5 ตัน	24
2 น้ำหนักและความยาวเฉลี่ยของปลาซวายวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนอายุ 21 วัน	39
3 วิวัฒนาการของปลาซวายวัยอ่อน	41
4 ลูกปลาอายุ 3 วันแสดงพฤติกรรมการกินกันเอง	42
5 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ของลูกปลาซวายวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน	42
6 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ของลูกปลาซวายวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน	43
7 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ของลูกปลาซวายวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน	44
8 ลักษณะภายนอกของปลาซวายวัยรุ่น (A) ปลาขนาด 10 กรัม (B) ปลาขนาด 30 กรัม	45
9 อวัยวะในระบบย่อยอาหารของปลาซวาย (A) ตำแหน่งของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารในช่องท้องของปลาซวาย (B) ดับ (C) ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลายและถุงน้ำดี (D) กระเพาะอาหาร	46
10 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ดับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลายของปลาซวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	48
11 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ดับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาซวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	49
12 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และดับ ของปลาซวายวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม	51
13 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ดับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาซวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	52
14 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ดับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาซวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	53
15 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ ดับของปลาซวายวัยขนาด 10 และ 30 กรัม	54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้- ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	56
17	กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้- ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12	57
18	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม	58
19	ลักษณะตับปลาสร้อยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์	70
20	ลักษณะตับปลาสร้อยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % และเสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย	71
21	ลักษณะของลำไส้ปลายสร้อยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์	72
22	ลักษณะของลำไส้ปลายสร้อยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % และเสริมเอนไซม์ protease จาก แบคทีเรีย	73

กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และ
ผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสวาย

Pangasianodon hypophthalmus Sauvage, 1878

Digestive Enzyme Activities, Apparent Digestibility Coefficient and
Effect of Enzyme Supplement on Feed Utilization in Striped Catfish,

Pangasianodon hypophthalmus Sauvage, 1878

คำนำ

ปลาสวาย *Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878 เป็นปลาที่มีการเลี้ยงกันแพร่หลายในทวีปเอเชีย โดยมีการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย อินเดีย พม่า และเวียดนาม เนื่องจากเป็นปลาที่เจริญเติบโตเร็ว ทนต่อโรค และสามารถเลี้ยงแบบหนาแน่นได้ทั้งในกระชังและในบ่อ (Rahman *et al.*, 2006; Paripatananont, 2002) นอกจากนี้ปลาสวายยังมีปริมาณเนื้อมาก (high dress-out weight percentage) เหมาะสำหรับการแปรรูปเพื่อจำหน่าย (Paripatananont, 2002) ปัจจุบันตลาดโลกมีความต้องการบริโภคปลาสวาย และปลาแพะ (*Pangasius bocourti*) มากขึ้น จะเห็นได้จากผลผลิตของประเทศเวียดนามซึ่งเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่ส่งออกปลาทั้ง 2 ชนิดในรูปของเนื้อปลา Pangas มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี (รพีพร, 2548) โดยผลผลิตในปี พ.ศ. 2548 เป็น 400,000 ตัน ในปี พ.ศ. 2549 เพิ่มขึ้น 2 เท่าเป็น 825,000 ตัน และในปี พ.ศ. 2550 ผลผลิตเป็น 1,000,000 ตัน (Corsin, 2008) โดยส่งออกไปสหภาพยุโรป 50 เปอร์เซ็นต์ และสหรัฐอเมริกา 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ส่วนที่เหลือจากอุตสาหกรรมแปรรูปยังนำมาผลิตเป็นน้ำมันปลา เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ทดแทนการนำเข้าน้ำมันถั่วเหลืองซึ่งมีราคาสูง (Anonymous, 2007) การเลี้ยงปลาทั้ง 2 ชนิดในเวียดนามประสบปัญหาในเรื่องต้นทุนราคาอาหารซึ่งคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนทั้งหมด (Ridmontri, 2002)

ประเทศไทยมีการเลี้ยงปลาสวายมานาน โดยมีการเลี้ยงทั้งในบ่อและในกระชัง ปริมาณการผลิตปลาสวายตั้งแต่ปี 2543-2552 มีแนวโน้มสูงขึ้น ผลผลิตและมูลค่าของปลาสวายจัดเป็นอันดับที่ 6 ของปลาน้ำจืด โดยผลผลิตในปีพ.ศ. 2552 เป็น 30,200 ตัน และมีมูลค่า 821.87 ล้านบาท (กรมประมง, 2554) ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศและมีการแปรรูปเป็นปลารมควันและ

ปลาแซ่แข็งเพื่อส่งออกจำนวนเล็กน้อย ส่วนลูกปลาวัยอ่อนและปลาวัยรุ่นส่งออกเป็นปลาสวยงามไปขายทั่วโลกในชื่อทางการค้าว่า iridescent shark หรือ silver shark (Payoocha, 2002) แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงปลาสวายในประเทศไทยยังคงประสบปัญหาที่สำคัญหลายประการ เช่น ลักษณะการกินกันเองในช่วงลูกปลาอายุ 2-3 วันทำให้อัตรารอดของลูกปลาดำ เกษตรแก้ปัญหานี้โดยปล่อยลูกปลาลงบ่อคืนตั้งแต่วันแรก ๆ รวมทั้งในการอนุบาลลูกปลายังคงต้องพึ่งพาอาหารธรรมชาติซึ่งมักจะประสบปัญหาทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ รวมทั้งต้องใช้ค่าใช้จ่ายในการจัดการที่สูง นอกจากนี้ในการเลี้ยงปลาสวายยังพบปัญหาเรื่องราคาของปลาในประเทศไทยซึ่งต่ำมากประมาณ 11-25 บาทต่อกิโลกรัม เนื่องจากคุณภาพเนื้อของปลาสวายที่มีไขมันมากและกลิ่นโคลน (off-flavor) ซึ่งอาจมาจากการที่ปลาสวายเป็นปลาที่กินทั้งเนื้อและพืช (omnivorous) สามารถกินอาหารได้หลายชนิด อีกทั้งราคาปลาสวายไม่สูงนัก ทำให้เกษตรกรเลือกใช้อาหารที่มีราคาถูกเพื่อลดต้นทุน อาหารพวกนี้มีคาร์โบไฮเดรตและไขมันสูง เช่น รำ ปลาขี้ขาว เศษขนมปังจากโรงงาน เศษอาหารเหลือจากครัวเรือน เป็นสาเหตุให้มีการสะสมไขมันในตัวปลา (วิมล, 2535) รวมทั้งยังมีผลกระทบทางอ้อมต่อคุณภาพน้ำทำให้เกิดจุลินทรีย์ และสาหร่ายที่ผลิตสารที่ทำให้เกิดกลิ่นโคลน เช่น geosmin และ MIB (2-methylisoborneol)

เมื่อพิจารณาข้อมูลต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า ปลาสวายมีศักยภาพการผลิตเพื่อการบริโภคทั้งภายในประเทศ และ ส่งออก แต่จำเป็นต้องมีการปรับปรุงด้านต่าง ๆ เช่น ระบบการเลี้ยง การแปรรูป และการส่งออก เพื่อให้สามารถแข่งขันกับประเทศอื่น ๆ ได้ทั้งในด้านต้นทุน และคุณภาพสินค้า ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่อต้นทุนการผลิต และคุณภาพของเนื้อปลาสวายได้แก่ อาหาร โดยค่าอาหารคิดเป็น 60 – 80 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด การใช้อาหารมีชีวิต และ การใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักในสูตรอาหารจะทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้นนักวิจัยด้านอาหารสัตว์น้ำจึงมีการศึกษาเพื่อพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับลูกปลาวัยอ่อน และหาแหล่งโปรตีนอื่น ๆ โดยเฉพาะโปรตีนจากพืชมาทดแทนปลาป่น ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ก่อนจะนำมาใช้ในสูตรอาหาร จำเป็นต้องมีการคัดเลือกว่า ปลาสามารถย่อยและดูดซึมวัตถุดิบนั้น ๆ ไปใช้ประโยชน์ได้หรือไม่ ความสามารถในการย่อยวัตถุดิบต่าง ๆ จะขึ้นอยู่กับเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาแต่ละชนิด ในปัจจุบันจึงมีความสนใจในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบโดยวิธี *in vitro* เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกวัตถุดิบมาใช้ทดแทนปลาป่น รวมทั้งมีศึกษาการเสริมเอนไซม์ในสูตรอาหารเพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของวัตถุดิบมากขึ้น แต่เนื่องจากปลาแต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยและดูดซึมวัตถุดิบไปใช้ประโยชน์ได้ต่างกัน ดังนั้นปลาสวายจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาอาหารสำหรับการเลี้ยงปลาสวายแบบพัฒนา ในการวิจัย

นี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และ ผลของการเสริมเอนไซม์สังเคราะห์ ต่อการใช้ประโยชน์ได้ของปลาซวาย เพื่อพัฒนาสูตรอาหารที่มีราคาที่เหมาะสม โดยใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดี และปลาซวายสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งมีราคาไม่แพง และหาได้ง่าย ซึ่งจะเป็นการเพิ่มศักยภาพการผลิตปลาซวายของประเทศไทยให้สามารถแข่งขันกับประเทศคู่แข่งได้



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ของปลาสร้อยขนาดต่าง ๆ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบต่าง ๆ ของเอนไซม์จากปลาสร้อย และเอนไซม์จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. โดยวิธี *in vitro* digestibility
3. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์สังเคราะห์ต่อการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารของปลาสร้อย

การตรวจเอกสาร

1. ปลาสวาย

1.1 ลักษณะทั่วไปของปลาสวาย

ปลาสวายมีกระเพาะอาหารเป็นรูปตัวยู ลำไส้ยาวเป็น 3.5 เท่าของความยาวลำตัว ปลาไว้อ่อนกินแพลงก์ตอน ส่วนปลาวัยรุ่นและปลาโตเต็มวัยชอบกินอาหารตามพื้นก้นบ่อ โดยกินทั้งสัตว์และพืชแต่ชอบกินสัตว์มากกว่า สัตว์ที่กินอาจมีชีวิตรอดหรือตายแล้ว (สมปอง, 2523)

วินัส (2505) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณอาหารในกระเพาะและลำไส้ปลาสวาย พบว่าในกระเพาะอาหารปลาสวาย พบสัตว์ 73 % พืช 21.17 % และอาหารอื่น ๆ 5.428 % ส่วนในลำไส้พบสัตว์ 25.90 % พืช 24.74 % และอาหารอื่น ๆ 49.36 % โดยสัตว์ที่พบในกระเพาะอาหารส่วนใหญ่จะเป็นปลา รองลงมาได้แก่ แมลง กุ้ง หอย หนอน และปู

1.2 การเพาะพันธุ์ปลาสวาย

การเพาะพันธุ์ปลาสวายโดยวิธีฉีดฮอร์โมนประสบความสำเร็จครั้งแรกในพ.ศ. 2509 นับจากนั้นมาเกษตรกรก็ได้นำวิธีการไปใช้อย่างแพร่หลาย การเพาะพันธุ์ปลาสวายจะเริ่มได้ในเดือนเมษายนจนถึงเดือนตุลาคม โดยคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาที่มีความสมบูรณ์ทางเพศมาฉีดฮอร์โมน หลังจากนั้นจะทำการผสมเทียมแบบแห้งเนื่องจากไข่ปลาสวายเป็นไข่แบบจมติด จากนั้นนำไข่ที่ผสมกับน้ำเชื้อแล้วไปโรยในกระชังฟักไข่ (อุทัยรัตน์, 2531) ไข่ปลาจะฟักเป็นตัวในระยะเวลา 27 - 32 ชั่วโมง หลังจากวางไข่ ลูกปลาที่ฟักออกเป็นตัวจะมีความยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร มีลักษณะใสและโปร่งแสง และยังไม่ว่ายน้ำ คงพักตัวอยู่เฉย ๆ ประมาณ 1-2 ชั่วโมง จนลูกปลาแข็งแรงขึ้นจึงเริ่มเคลื่อนไหว โดยว่ายน้ำขึ้นลงในทางดิ่งเป็นเวลา 3 วัน (กรมประมง, ม.ป.ป.)

1.3 การอนุบาลลูกปลาสวาย

เกษตรกรจะย้ายลูกปลาสวายที่ฟักออกเป็นตัว ออกจากกระชังฟักไปอนุบาลในบ่อคอนกรีตหรือกระชังอนุบาลประมาณ 4 วัน เพื่อให้ลูกปลาแข็งแรงขึ้น โดยอาหารที่ใช้ในการอนุบาลเป็นไข่แดงต้มบดละเอียด และไรแดง หลังจากนั้นปล่อยลูกปลาลงบ่อดิน เพื่อป้องกันลูกปลากินกันเอง ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการอนุบาลลูกปลาสวาย (อุทัยรัตน์, 2531) โดยปล่อยลูกปลาในอัตรา

300 - 400 ตัวต่อตารางเมตร ให้ไข่แดงคัมบะเลียดแล้วสาดท่วบ่อ ให้ทำวันละหลาย ๆ ครั้งคอยสังเกตดูว่าเพียงพอหรือไม่ หลังจากนั้น 5-7 วัน ลูกปลาจะขึ้นสู่ผิวน้ำซึ่งระยะนี้จะต้องให้อาหารประเภทปลาบดในอัตรา 55 - 60 กก./ไร่ หรือ ต่อลูกปลาประมาณ 300,000 ตัว เมื่ออนุบาลเป็นเวลา 4-5 สัปดาห์ ลูกปลาจะมีความยาว 2- 5 เซนติเมตร (กรมประมง, ม.ป.ป.)

เวียง (2542) กล่าวว่า การพัฒนาระบบน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของปลาสวายวัยอ่อน น่าจะเกิดขึ้นทันทีที่ลูกปลาฟักเป็นตัว จึงทำให้การอนุบาลลูกปลาสวายด้วยไข่แดงตั้งแต่อายุ 1 วัน ได้ผลดี จึงควรมีการปรับแผนการให้อาหารในช่วงแรกของการอนุบาลโดยเริ่มให้อาหารทันทีเมื่อลูกปลาฟักเป็นตัว และควรพัฒนาอาหารขนาดเล็กสำหรับใช้ออนุบาลปลาสวายวัยอ่อนแทนอาหารมีชีวิตด้วย เนื่องจากอาหารมีชีวิตมีข้อจำกัดทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ

1.4 การเลี้ยงปลาสวาย

ประเทศไทยมีการเลี้ยงปลาสวายกันมากในเขตภาคกลาง เช่น จังหวัดนครสวรรค์ ปทุมธานี ฉะเชิงเทรา และนครปฐม การเลี้ยงปลาสวายมีหลายรูปแบบตั้งแต่เลี้ยงแบบพัฒนาสำหรับการผลิตเพื่อการค้า และการเลี้ยงแบบไม่พัฒนาที่ใช้เพื่อบริโภคในครัวเรือน ปลาสวายมีการเลี้ยงทั้งในกระชังและในบ่อ วิธีการเลี้ยง อัตราการปล่อย และอาหารที่ใช้เลี้ยงจะมีความหลากหลาย

1.4.1 การเลี้ยงปลาสวายในบ่อดิน

บ่อเลี้ยงปลาสวายมีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 600 - 2,000 ตารางเมตร และลึกประมาณ 2-3 เมตร โดยปล่อยลูกปลาน้ำหนักประมาณ 50 กรัม ที่ความหนาแน่น 2-3 ตัวต่อตารางเมตร อาหารที่ใช้เลี้ยงในช่วง 2 เดือนแรกได้แก่ รำข้าว เกษตรกรบางคนจะผสมรำข้าว กับปลายข้าวและปลาป่น หลังจากนั้นเลี้ยงด้วยอาหารที่ทำได้ง่าย ในแหล่งนั้น ๆ เช่น เศษผัก ของเหลือจากบ้านเรือน โรงงาน ปลาป่น และเครื่องในปลา อัตราการให้อาหารในระยะลูกปลางถึงปลานิ้ว (fingering) ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เมื่อเป็นปลาวัยรุ่นหรือปลาโตเต็มวัยอัตราการให้อาหารลดลงเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ ความถี่ในการให้อาหารเป็น 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8-12 เดือน ปลาจะมีขนาด 1-1.5 กิโลกรัม ผลผลิต 9.5-14 ตัน/ ไร่ อัตราแลกเนื้ออยู่ระหว่าง 4 - 6 (Paripatananont , 2002)

วิลล (2535) กล่าวว่า อาหารจำพวก รำ ปลายข้าว กากมะพร้าว เศษผัก และของเหลือจากครัวเรือน มีค่าพลังงานย่อยได้ต่อโปรตีนมากกว่า 20 กิโลแคลอรี/กรัม ซึ่งสูงกว่าอาหารธรรมชาติและอาหารสำเร็จรูปที่มีค่าดังกล่าวเพียง 5-6 และ 8-10 กิโลแคลอรี/กรัม ดังนั้นอาหารเหล่านี้จึงมีพลังงานสูงเกินไปจึงทำให้เกิดการสะสมไขมันในตับปลาอันเป็นสาเหตุทำให้เนื้อปลาและ และมึกลิ้นหิ้นได้ง่ายระหว่างแช่แข็ง

เวียง (2542) กล่าวว่า เนื่องจากปลาสาวยมีราคาถูก เกษตรกรจึงนิยมทำอาหารเอง โดยวัตถุดิบที่ใช้ประกอบด้วย ปลาแปดผสมกับรำข้าวหรือปลายข้าว สาหร่ายหรือวัชพืชน้ำอื่น ๆ และ เศษเหลือจากครัวเรือน และเกษตรกรบางรายลดต้นทุนการผลิตโดยไม่ใช้ปลาแปด ส่วนผสมเหล่านี้เกษตรกรจะต้มให้สุก แล้วบด และอัดเป็นเส้น อาหารดังกล่าวจึงมีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ และแตกยุ่ยในน้ำได้ง่าย ทำให้ปลาโตช้าต้องใช้เวลาในการเลี้ยงนาน คุณภาพน้ำในบ่อเน่าเสียง่าย และเนื้อปลามีคุณภาพต่ำโดยเฉพาะมีไขมันมากและกลิ่นโคลน การใช้อาหารราคาถูกแต่คุณภาพดีจะช่วยลดต้นทุนการผลิตและเนื้อปลาที่มีคุณภาพดี ซึ่งจะส่งผลให้ปลาสาวยมีราคาสูงขึ้น

1.4.2 การเลี้ยงปลาสาวยในกระชัง

Paripatananont (2002) รายงานว่า มีการเลี้ยงปลาสาวยในกระชังทั้งในทะเลสาบและแม่น้ำ โดยกระชังมีขนาดตั้งแต่ 20 ถึง 900 ตารางเมตร ปล่อยลูกปลาน้ำจืด 75-100 กรัม ในอัตรา 50-130 ตัว/ตารางเมตร เลี้ยงด้วยปลาแปดและให้อาหารเม็ดเสริมบ้าง หลังจากเลี้ยง 7-12 เดือนจะได้ผลผลิตประมาณ 35-65 กิโลกรัม/ตารางเมตร ในขณะที่กรมประมง (มปป.) แนะนำให้ ปล่อยปลาน้ำจืด 10-12 ซม. ในอัตรา 100-200 ตัวต่อตารางเมตรซึ่งขึ้นกับอาหารที่ให้ โดยทั่วไป ถ้าเลี้ยงปลาในกระชังขนาด 10 ตารางเมตร ลึก 1.25 เมตร ปล่อยปลา 150 -200 ตัวต่อตารางเมตรเป็นเวลา 1 ปีจะได้ผลผลิต 1,500 กิโลกรัมต่อกระชัง

1.5 ความต้องการสารอาหารของปลาสาวย

ปัจจุบันมีการวิจัยเกี่ยวกับความต้องการสารอาหารของปลาสาวยน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิล หรือ ปลาชนิดอื่น ๆ ทั้ง ๆ ที่ปลาสาวยจัดว่าเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทั้งนี้เนื่องจาก ปลาสาวยเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) จึงมีความเข้าใจว่าปลาสาวยสามารถกินอาหารได้หลากหลาย แต่จากการศึกษาปลาสาวยในแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่ากินปลาชนิดต่าง ๆ เป็นส่วนใหญ่ (วินัส, 2505 และ Hung, et al. 2003)

1.5.2 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานของอาหารสัตว์น้ำที่มีราคาถูก แต่ปริมาณการใช้จะจำกัดเนื่องจากปลาแต่ละชนิดจะสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ต่างกัน การใช้คาร์โบไฮเดรตจะช่วยลดต้นทุนอาหารให้ต่ำลง ปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าความต้องการจะนำไปโปรตีนและไขมันที่สะสมในร่างกายมาเผาผลาญเป็นพลังงาน ทำให้ปลามีน้ำหนักลดลง หรือนำโปรตีนในอาหารไปใช้เป็นแหล่งของพลังงานแทนที่จะใช้ในการเจริญเติบโตอย่างเดียว ทำให้ปลาเจริญเติบโตช้าลง สำหรับปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตเกินความต้องการจะทำให้ปลาย่อยคาร์โบไฮเดรตได้น้อยลง และอาจนำไปสะสมในตับในรูปของไกลโคเจน ซึ่งปลาอาจนำมาสลายพลังงานเมื่อขาดอาหาร หรืออาจเปลี่ยนรูปเป็นไขมันสะสมในเนื้อเยื่อของร่างกาย (วีรพงษ์, 2536) ทำให้ปลาอ้วนขึ้น แต่ถ้าปลามีการสะสมไกลโคเจนในตับเกิน 12 % ของน้ำหนักตับ ปลาจะมีอาการเป็นโรคตับ และถ้ามีมากถึง 16 % ปลาจะตาย (ประเสริฐ และคณะ, 2525)

การศึกษาเกี่ยวกับความต้องการคาร์โบไฮเดรตของปลาสาวยั้น มีเพียงงานวิจัยของ Hung *et. al.* (2003) ซึ่งได้ทดลองการใช้ประโยชน์ของคาร์โบไฮเดรตในปลาโมงและปลาสาวยัยรุ่นขนาด 4.7 และ 4.4 กรัมตามลำดับ โดยกำหนดให้ปลาทดลองได้รับโปรตีน 15 กรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม/วัน ผลการทดลองพบว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ปลาโมงและปลาสาวยกินแล้วไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตได้แก่ 30 และ 10 กรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม/วัน หรือ อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนผสม 60 และ 20 % ตามลำดับ แสดงว่าปลาสาวยมีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตได้ต่ำซึ่งจะคล้ายกับปลา channel catfish

1.5.3 ไขมัน

ไขมันเป็นสารที่ให้พลังงานและความร้อนแก่ร่างกาย และเป็นพลังงานที่ร่างกายสะสม นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ช่วยป้องกันการกระทบกระเทือนของอวัยวะภายใน ช่วยละลายและดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน และเป็นแหล่งของให้กรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย รวมทั้งเป็นองค์ประกอบของฮอร์โมนบางชนิด

โดยทั่วไปแล้วปลามีความต้องการไขมันน้อย นอกจากนี้ระดับไขมันในอาหารธรรมชาติและอาหารสำเร็จรูปก็มีมากเพียงพอต่อความต้องการของปลา ในกรณีที่ปลาได้รับไขมันน้อยเกินไปก็จะนำไปโปรตีนหรือคาร์โบไฮเดรต (ไกลโคเจน) ที่สะสมในร่างกายมาเผาผลาญให้

เกิดพลังงาน และทำให้ปลาพองลง หรือ อาจนำไปโปรตีนในอาหารมาใช้เป็นแหล่งของพลังงานทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาลดลง ในทางตรงกันข้ามถ้าปลาได้รับไขมันมากเกินไป ก็จะนำไขมันส่วนที่เหลือใช้ไปสะสมในเนื้อเยื่อ และทำให้ปลาอ้วน เนื่องจากไขมันจะสะสมบริเวณภายในช่องท้อง หรือรอบ ๆ อวัยวะภายใน ซึ่งอาจมีผลต่อคุณภาพซาก (carcass quality) หรือความนิยมบริโภคเนื้อปลา (วีระพงษ์, 2536) กรดไขมันที่จำเป็นที่ปลาต้องการได้แก่ กรดไลโนเลอิก (18:2 n-6) และไลโนเลนิก(18:3 n-3) เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์กรดทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ ทำให้ต้องได้ลงไปในการอาหาร ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาความต้องการไขมันของปลาสาวย

1.5.4 วิตามิน และแร่ธาตุ

วิตามินเป็นโภชนาการที่สิ่งมีชีวิตต้องการเป็นปริมาณน้อยมาก แต่เป็นสิ่งที่จำเป็นต่อร่างกาย เป็นตัวทำให้ปฏิกิริยาทางเคมี และสรีระของร่างกายเป็นไปอย่างปกติ วิตามินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ วิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ ดี อี และ เค ซึ่งจะพบในน้ำมันและไขมันธรรมชาติ และ วิตามินที่ละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินบีทุกชนิด และ ซี พบในผัก ผลไม้ ธัญพืช (ประเสริฐและคณะ, 2525)

แร่ธาตุเป็นสารอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อการดำรงชีวิตของปลา ความต้องการแร่ธาตุของปลาเพื่อใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อต่าง ๆ นำไปเป็นโครงสร้างของร่างกายตลอดจนนำไปใช้ในการจัดสมดุลของของเหลวในตัวปลากับน้ำที่ล้อมรอบตัวปลา ปลาสามารถดูดซึมแร่ธาตุหลายชนิดในน้ำเข้าสู่ตัวปลาโดยทางเหงือก แต่ปริมาณที่ปลาได้รับจากน้ำนั้นอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการของปลา แร่ธาตุที่ปลาต้องการอาจแยกได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่ แร่ธาตุหลัก (micro mineral) คือ แร่ธาตุที่ปลาต้องการในปริมาณที่มาก เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม คลอไรด์ โพแทสเซียม ซัลเฟอร์ และ แมกนีเซียม และ แร่ธาตุรอง (trace mineral) คือ แร่ธาตุที่ปลาต้องการในปริมาณน้อย เช่น เหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ ซีลีเนียม (ประเสริฐ และคณะ, 2525)

ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับความต้องการวิตามินและแร่ธาตุ ในปลาสาวย

2.ระบบการย่อยอาหารของปลา

ระบบการย่อยอาหารของปลาแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันทางด้านกายวิภาคหรือสรีรวิทยา แต่อย่างไรก็ตามระบบการย่อยอาหารจะประกอบด้วยส่วนที่สำคัญเหมือนกัน ได้แก่ ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract) อวัยวะช่วยย่อยอาหาร (accessory gland) ซึ่งได้แก่ ตับ ตับอ่อน และถุงน้ำดี และเอนไซม์ย่อยอาหาร (digestive enzyme) (วีรพงษ์, 2536)

2.1. ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract)

สัตว์มีกระดูกสันหลังส่วนใหญ่มีท่อทางเดินอาหารประกอบด้วย ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ และเรคตัม (rectum) ปลาวัยอ่อนที่เพิ่งฟักออกจากไข่จะมีระบบท่อทางเดินอาหารที่ยังไม่สมบูรณ์ เมื่อปลามีขนาดโตขึ้นจะมีการพัฒนาการท่อทางเดินอาหารสมบูรณ์ขึ้น ปลา มี ท่อทางเดินอาหารที่สำคัญได้แก่

2.1.1. กระเพาะอาหาร (stomach)

กระเพาะอาหารทำหน้าที่ในการย่อยและดูดซึมอาหาร ปลาแต่ละชนิดมีกระเพาะอาหารที่มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันขึ้นกับพฤติกรรมการกินอาหาร โดยแบ่งออกได้เป็น 4 แบบ ได้แก่ กระเพาะอาหารที่เป็นท่อตรง (Straight stomach) รูปตัวยูหรือเจ (U or J shaped stomach) รูปตัววาย (Y shaped stomach) และไม่มีกระเพาะอาหาร (absence of stomach) (Clements and Raubenheimer, 2006)

เซลล์บุผนังกระเพาะอาหารประกอบด้วยเซลล์ที่เรียกว่า oxyntic cell ซึ่งสามารถผลิต เปปซิน (Pepsin) และกรดเกลือ (HCl) ออกมาทำหน้าที่ย่อยอาหารและมีผลทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดเมื่อมีการย่อยอาหาร เช่น เมื่อปลาหมอเทศ และปลานิลกินอาหารจะมีพีเอชในกระเพาะอาหารเป็น 1.25-1.5 และ 1.4-1.6 ตามลำดับ และเมื่อเสร็จสิ้นการย่อยพีเอชในกระเพาะอาหารจะมีสภาพเป็นกลาง ในขณะเดียวกันผนังกระเพาะอาหารก็มีเซลล์ผลิตเมือก (mucous cell) ซึ่งผลิตสารพวก sialomucins หรือ sulfomucins ออกมาทำหน้าที่เคลือบผนังกระเพาะอาหารเพื่อป้องกันการย่อยโดยน้ำย่อย (วีรพงษ์, 2536)

2.1.2. ลำไส้ (Gut)

ลำไส้ของปลาแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนได้แก่ midgut และ hindgut ซึ่งจะมีลักษณะทางกายวิภาคใกล้เคียงกัน โดยจะเป็นท่อยาวไปตลอดความยาวช่องท้องไปเปิดออกบริเวณช่องทวาร ลำไส้ของปลาชนิดที่มีลักษณะเป็นท่อขดไปมา มีความยาวหลายเท่าของความยาวตัว แต่ลำไส้ของปลาชนิดที่มีลักษณะเป็นท่อตรงมีความยาวสั้นกว่าความยาวลำตัว เซลล์บุผนังลำไส้ประกอบด้วยเซลล์หลั่งน้ำย่อยและเซลล์ผลิตเมือก โดยเซลล์หลั่งน้ำย่อยทำหน้าที่หลั่งน้ำย่อยหรือเอนไซม์ออกมาย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ส่วนเซลล์ผลิตเมือกทำหน้าที่ผลิตสารจำพวก mucopoly-saccharide ออกมาเคลือบลำไส้เพื่อป้องกันการย่อยโดยน้ำย่อย ลำไส้ส่วน midgut มีทั้งเซลล์หลั่งน้ำย่อย (Secretory cell) และเซลล์ผลิตเมือก ในขณะที่ hindgut มีเฉพาะเซลล์ผลิตเมือก ปลาส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกรอยต่อของ midgut และ hindgut ด้วยตาเปล่า แต่ปลาบางชนิดอาจมี ileocecal valve ที่สามารถแยกความแตกต่างกันได้ชัดเจน เช่น ปลา Channel catfish เป็นต้น (วีรพงษ์, 2536)

2.2. อวัยวะช่วยย่อยอาหาร (accessory gland)

อวัยวะที่ช่วยในการย่อยอาหารได้แก่ตับ (liver) ตับอ่อน (pancreas) และถุงน้ำดี (gall bladder) อวัยวะเหล่านี้มีบทบาทในการช่วยย่อยอาหารให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

โดยทั่วไปตับปลาจะอยู่ติดกับกระเพาะอาหาร ตับปลาส่วนใหญ่จะแบ่งเป็น 2 ส่วน (lobe) มีปลาบางชนิดที่พบ 1 หรือ 3 ส่วน ตับมีหน้าที่สะสมอาหารในรูปของไกลโคเจน และหลั่งน้ำดี รวมทั้งมีหน้าที่หลายอย่างเกี่ยวกับขบวนการทางชีวเคมี

ปลาแต่ละชนิดจะพบตับอ่อนในตำแหน่งที่แตกต่างกันไป เช่น ที่บริเวณตับ เนื้อเยื่อรอบลำไส้ pyloric caeca ม้าม หรือ ถุงน้ำดี ตับอ่อนมีหน้าที่ในการหลั่งเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต

ถุงน้ำดีอยู่ระหว่างตับด้านขวา และลำไส้ ในถุงน้ำดีมีน้ำดีซึ่งมีสีเขียวปนเหลือง รสขม และมีฤทธิ์เป็นด่าง ในน้ำดีไม่มีเอนไซม์ย่อยอาหาร แต่มีเกลือทำหน้าที่เป็น emulsifying agent ช่วยทำให้ไขมันอยู่ในรูปสารแขวนลอย เพื่อให้ย่อยได้ง่ายขึ้น ท่อตับอ่อนและท่อน้ำดีของปลาทุกชนิดจะมารวมกันเป็น common bile duct เปิดเข้าไปที่บริเวณลำไส้ส่วนต้น จึงมีทำให้อาหารที่มีฟิเอช

เป็นกรดเมื่ออยู่ในกระเพาะอาหาร กลายสภาพเป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อยเมื่อผ่านเข้ามาในลำไส้ (วีรพงษ์, 2536)

2.3 การย่อยอาหาร

การย่อยอาหารของปลาส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่กระเพาะอาหาร หรือลำไส้เท่านั้น เนื่องจากมีเอนไซม์ย่อยอาหารอยู่หลายชนิด แต่ปลาบางชนิดมีการย่อยที่ปากและคอกอหอย การย่อยอาหารเป็นกระบวนการที่อาหารในท่อทางเดินอาหาร ถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง เพื่อดูดซึมเข้าผนังทางเดินอาหารเข้าไปในเลือด โดยโปรตีนจะถูกย่อยเป็นกรดอะมิโน ส่วนไขมันจะถูกย่อยเป็นกรดไขมัน และกลีเซอริน และคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยเป็นน้ำตาล กระบวนการเหล่านี้จำเป็นต้องมีเอนไซม์ย่อยอาหาร หรือน้ำย่อยมาทำหน้าที่ย่อยอาหารให้มีขนาดเล็กลง เพื่อนำไปเผาผลาญ ให้ได้พลังงานต่อไป

เอนไซม์ย่อยอาหารหรือน้ำย่อยที่พบทั่วไปได้แก่เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteinases) เอนไซม์ย่อยไขมัน (lipase) และเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต (carbohydrases) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ (digestive enzyme activity) เหล่านี้จะมีประสิทธิภาพแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด ปลาจะมีการหลั่งเอนไซม์มากขึ้น รวมทั้งมีประสิทธิผลการทำงานดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากร่างกายมีกระบวนการเผาผลาญอาหารสูงขึ้น

2.3.1. การย่อยโปรตีน

เอนไซม์ย่อยโปรตีนพบได้ทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้ เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบในกระเพาะอาหารของปลา ได้แก่ pepsin ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนได้ดีในสภาพที่เป็นกรด เมื่อปลากินอาหาร กระเพาะอาหารจะหลั่งกรดเกลือ เพื่อให้พีเอชของกระเพาะอาหารปลา มีสภาพเป็นกรด โดยกรดเกลือกระตุ้นให้ pepsinogen เปลี่ยนเป็น pepsin จากนั้นทั้งกรดเกลือและ pepsin จะทำหน้าที่ย่อยโปรตีนให้มีขนาดเล็กลง โดยแยกพันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโนทำให้กลายเป็นสายกรดอะมิโนที่มีขนาดสั้นลงเรียกว่า proteose และถูกส่งไปย่อยต่อที่ลำไส้ (เวียง, 2542) สำหรับปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารจะไม่มีกรดออกมามาแต่จะมีการย่อยโปรตีนเกิดขึ้นในลำไส้เท่านั้น เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบในลำไส้ส่วนใหญ่มาจากการหลั่งของผนังลำไส้และตับอ่อน และส่วนน้อยได้จากการหลั่งของตับ ม้าม ถุงน้ำดี และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณลำไส้ เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบในลำไส้มีหลายชนิดเช่น trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase และ elastase

เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สร้างจากตับอ่อนได้แก่ trypsinogen และ chymotrypsinogen ซึ่งจะอยู่ในสภาพที่ยังไม่สามารถย่อยโปรตีนได้ จนกว่าจะถูกกระตุ้นจากเอนไซม์ enterokinase ซึ่งจะเปลี่ยน trypsinogen ให้เป็น trypsin จากนั้น trypsin จะทำหน้าที่เปลี่ยน chymotrypsinogen ไปเป็น chymotrypsin โดยทั้ง trypsin และ chymotrypsin ทำหน้าที่ย่อย protease ซึ่งถูกส่งมาจากกระเพาะอาหารให้เป็นโมเลกุลที่มีสายเปปไทด์สั้นลง เรียกว่า เปปโตน(peptone) และโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ตามลำดับ จากนั้นเอนไซม์ในกลุ่ม aminopeptidase จากผนังลำไส้จะย่อยเปปโตนให้เป็น โพลีเปปไทด์ ซึ่งมีขนาดเล็กกลง และโพลีเปปไทด์ถูกย่อยต่อไปเป็นไตรเปปไทด์ (tripeptide) จนในที่สุดเหลือเป็นโมเลกุลของกรดอะมิโน (เวียง ,2542)

2.3.2. การย่อยคาร์โบไฮเดรต

เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นเอนไซม์ที่ได้รับความสนใจศึกษากันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากปลาแต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตต่างกันมาก เวียง (2542) กล่าวว่า การย่อยคาร์โบไฮเดรตในสัตว์น้ำเกิดขึ้นในลำไส้ เมื่ออาหารเหลว (chyme) ซึ่งเกิดจากคลุกเคล้าระหว่างอาหารกับเมือกและน้ำย่อยในกระเพาะอาหารถูกส่งผ่านไปที่ลำไส้ตอนต้น อาหารเหลวเหล่านี้จะกระตุ้นให้ต่อมในผนังเยื่อเมือกของลำไส้ผลิตฮอร์โมนกระตุ้นให้ตับอ่อนและลำไส้ผลิตเอนไซม์

เอนไซม์จากตับอ่อนคือ amylase ซึ่งจะทำหน้าที่ย่อยแป้ง และไกลโคเจนในลำไส้ให้เป็น monosaccharide maltotriose และ maltose ส่วนเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตจากลำไส้คือ เอนไซม์กลุ่ม disaccharides ได้แก่ Sucrase, lactase, Maltase และ isomaltase ซึ่งจะทำหน้าที่ย่อย disaccharide ให้เป็น monosaccharide ได้แก่ glucose, fructose และ galactose วีรพงษ์ (2536) กล่าวว่า alpha amylase เป็นเอนไซม์สำคัญในการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็น กลูโคส และมอลโตส ซึ่งในปลากินพืชและปลากินพืชและเนื้อส่วนใหญ่ จะได้มาจากการหลั่งของทั้งผนังลำไส้ ผนังกระเพาะอาหาร ตับ ตับอ่อน และ pyloric caeca ในขณะที่ปลากินเนื้อส่วนใหญ่ จะได้มาจากการหลั่งของตับอ่อนแหล่งเดียวเท่านั้น ทำให้ปลากินเนื้อมีประสิทธิภาพในการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่ดี ปลากินเนื้อจึงกินคาร์โบไฮเดรตได้ในปริมาณจำกัด

2.3.3. การย่อยไขมัน

การย่อยไขมันในสัตว์น้ำเกิดขึ้นในลำไส้ โดยไขมันจะผสมคลุกเคล้ากับน้ำดี จากตับทำให้ไขมันละลายโดยแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ เกิดเป็นสารละลาย emulsion ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของไขมันให้สัมผัสกับเอนไซม์ให้มากขึ้น จากนั้นเอนไซม์ lipase จากตับอ่อนและจากผนังลำไส้ จะย่อยให้ไขมันที่อยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์แตกตัวเป็นไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ กลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ ซึ่งร่างกายจะสามารถดูดซึมได้ (วีรพงศ์, 2536; เวียง, 2542)

3. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์จะทำให้เข้าใจสรีรวิทยาทางโภชนาการ (nutritive physiology) ของปลาชัดเจนมากขึ้น เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประเมินความสามารถในการย่อยและสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับปลาแต่ละชนิด ซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาด้าน โภชนาการบางอย่างได้ ทำให้สามารถสร้างอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะกับปลาเช่น การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease และ amylase จะแสดงให้เห็นความสามารถของปลาแต่ละชนิดในการใช้ประโยชน์โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (Hidalgo *et al.*, 1999) ในปัจจุบันจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เช่น

จันทกานต์ (2550) ได้ศึกษากิจกรรมของ amylase, protease, lipase, trypsin, chymotrypsin และ cellulase ในปลาสาวยหนู (*Helicophagus leiorhynchus*) ในสภาวะการเปลี่ยนแปลงพีเอช และอุณหภูมิ พบว่า เอนไซม์ย่อยอาหารมีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามอายุของปลาที่เพิ่มขึ้น เอนไซม์ amylase แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่พีเอช 6-7 และที่ อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส เอนไซม์ acid และ alkaline protease แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่พีเอช 4 และ 9-10 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วนเอนไซม์ lipase แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่พีเอช 7-8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยเอนไซม์ทุกชนิดแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดใน hepatopancreas รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ

Klahan *et al.* (2009) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในปลานิล ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่า protease มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 12, 9 และ 9 ตามลำดับ amylase มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 6, 7 และ 2 ตามลำดับ และ lipase มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 8, 7 และ 8 ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับขนาดของปลาโดยพบว่า ปลานขนาดกลางมีกิจกรรมของ

เอนไซม์ protease และ lipase สูงที่สุด ในขณะที่ปลาขนาดใหญ่จะมีกิจกรรมจำเพาะของ amylase สูงที่สุด ในปลาทุกขนาดพบว่า amylase มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในระดับสูงสุด ในขณะที่ protease มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนปลายสูงสุด

งานวิจัยเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในปลาหลายชนิดพบว่า protease ในกระเพาะอาหารมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดในสภาวะที่ฟิเอชเป็นกรด เช่น protease ที่พบในกระเพาะอาหารของปลา gilthead seabream (*Sparus aurata*) และ European eel (*Anguilla anguilla*) (Hidalgo *et al.*, 1999) ปลาอะโรวานา (Natalia *et al.*, 2004) ปลา red fish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) และ turbot (*Scophthalmus maximus*) (Munilla-Moran and Saborio-Rey, 1996) ปลา discus (Chong *et al.*, 2002b) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ในปลาที่มีกระเพาะแท้จริง (Jonas *et al.*, 1983) ส่วน protease ในลำไส้ของปลาส่วนใหญ่จะมีกิจกรรมสูงสุดในสภาวะที่เป็นด่างเช่นปลา red fish, seabream และ turbot (Munilla-Moran and Saborio-Rey, 1996), dover sole (*Solea solea* L.) (Clark *et al.*, 1985) ปลาไนและ tench (*Tinca tinca*) (Hidalgo *et al.*, 1999) ในขณะที่ protease ในลำไส้ของปลาอะโรวานาสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ทั้งสภาวะเป็นกรด (ฟิเอช 2-3) และสภาวะเป็นด่าง (ฟิเอช 12) (Natalia *et al.*, 2004)

การวิจัยเกี่ยวกับเอนไซม์ amylase ในปลาหลายชนิดพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้จะขึ้นกับนิสัยการกินอาหารตามธรรมชาติของปลาโดยปลาที่กินพืช และปลาที่กินทั้งเนื้อและพืช จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงกว่าปลากินเนื้อ เช่น ปลา European eel มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงกว่า rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Hidalgo *et al.*, 1999) เอนไซม์ amylase พบมากในระดับอ่อน และทำงานได้ดีในสภาวะเป็นกลาง เช่น การศึกษาของ Fernández *et al.* (2001) ซึ่งศึกษากิจกรรมของ amylase ในปลาในกลุ่ม sparidae 5 ชนิด พบว่า amylase มีกิจกรรมสูงสุดที่ฟิเอชเป็นกลางหรือใกล้เคียงกับฟิเอช 7

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลาชนิดต่าง ๆ มีน้อยมาก Borlongan (1990) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของ lipase ในปลานวลจันทร์ทะเล (*Chanos chanos*) พบว่า lipase ที่พบในลำไส้มีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และที่ฟิเอช 6.8 และ 8 ส่วน lipase ที่พบในระดับอ่อนพบว่ามีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และที่ฟิเอช 6.4 และ 8 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลากินเนื้อจะสูงกว่าปลากินพืชและปลากินทั้งพืชและเนื้อ เช่น จากการศึกษาของ Furné *et al.* (2005) พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในปลา rainbow trout มีค่าสูงกว่า sturgeon 2 เท่า

4. ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (Digestibility)

การสร้างสูตรอาหารให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้สูงสุดนั้น การพิจารณาเฉพาะความต้องการด้านโภชนาการของสัตว์อย่างเดียวนั้นไม่เพียงพอ เนื่องจากอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมจะเป็นอาหารที่ดีได้ก็ต่อเมื่ออาหารนั้นจะต้องถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย การที่อาหารจะย่อยได้ง่ายหรือยากขึ้นกับ ลักษณะและชนิดของส่วนประกอบที่ผสมในอาหาร รวมทั้ง ลักษณะทางกายภาพของเม็ดอาหาร ดังนั้นในการสร้างสูตรอาหารจึงจำเป็นต้องคำนึงถึง วัตถุดิบที่ใช้ว่า ปลาสามารถย่อยได้หรือไม่ด้วย (De Silva and Anderson, 1995)

การหาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร มีการศึกษาทั้งการทดลองกับตัวสัตว์โดยตรง (*in vivo* method) และวิธีในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* method)

4.1 การศึกษาในตัวสัตว์ทดลอง (*in vivo* method)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาโดยวิธี *in vivo* ที่นิยมมี 2 วิธีได้แก่

4.1.1 Direct method

วิธีนี้ในปัจจุบันไม่นิยมใช้ เนื่องจากต้องทำการทดลอง metabolic chamber ซึ่งจะต้องขังปลา และ บังคับให้ปลากินอาหาร ซึ่งจะทำให้ปลาเครียด และต้องใช้เวลานานในการรวบรวมมูล ปัสสาวะ และ แอมโมเนียทางเหงือก (วีรพงศ์, 2536) และในทางปฏิบัติไม่สามารถวัดปริมาณอาหารที่สัตว์กินได้โดยตรง รวมทั้งปริมาณมูลที่ปลาขับถ่ายออกมา เนื่องจากเมื่อมูลสัมผัสกับน้ำจะมีการละลายบางส่วนไปกับน้ำ

4.1.2 Indirect method

วิธีนี้นิยมใช้ในปัจจุบันโดยการผสมสาร indicator เข้าไปในอาหารหรือวัตถุดิบ แล้วนำไปให้สัตว์กิน จากนั้นก็เก็บตัวอย่างมูลมาวัดปริมาณสาร indicator และสารอาหาร สาร indicator ที่ใช้ต้องมีคุณสมบัติดังนี้ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอาหารในทางเดินอาหาร ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึม ไม่มีผลกระทบต่อระบบการย่อยอาหาร เคลื่อนที่ไปตามทางเดินอาหารในอัตราเดียวกับอาหาร และไม่เป็นพิษต่อสัตว์ สาร indicator ที่นิยมใช้กันมีดังนี้ chromic oxide, silicon dioxide

และ polyethylene แต่ที่นิยมกันแพร่หลายทั้งในสัตว์บกและสัตว์น้ำคือ chromic oxide ซึ่งจะผสมในอาหารในอัตรา 0.5-1 เปอร์เซ็นต์

การคำนวณประสิทธิภาพการย่อยอาหารทางอ้อม

ก. ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (%) (apparent dry matter digestibility)

$$= 100 - 100 \times \left(\frac{\% \text{ indicator ในอาหาร}}{\% \text{ indicator ในมูล}} \right)$$

ข. ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร (%) (apparent nutrient digestibility)

$$= 100 - \left(100 \times \frac{\% \text{ indicator ในอาหาร}}{\% \text{ indicator ในมูล}} \times \frac{\% \text{ สารอาหารในมูล}}{\% \text{ สารอาหารในอาหาร}} \right)$$

สารอาหารหมายถึงสารอาหารใด ๆ ก็ได้เช่น โปรตีน หรือไขมัน

4.2. การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* method)

การหาประสิทธิภาพการย่อยอาหารโดยวิธี *in vivo* ต้องเลี้ยงสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลานาน ต้องอาศัยสถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ ซึ่งต้องใช้แรงงานและค่าใช้จ่ายสูง จึงมีการพัฒนาการวัดประสิทธิภาพการย่อยอาหารในห้องทดลอง โดยจำลองปฏิกิริยาให้เหมือนกับสภาวะที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร ซึ่งการประเมินประสิทธิภาพการย่อยโดยวิธี *in vitro* เป็นวิธีที่รวดเร็ว น่าเชื่อถือ และค่าใช้จ่ายไม่สูง และยังเป็นวิธีที่สังเกตการเปลี่ยนแปลงของการแตกตัวของโปรตีนโดยใช้วัตถุบิเพียงเล็กน้อยเหมาะสำหรับการตรวจวัดวัตถุดิบก่อนนำไปใช้ (Eid and Matty, 1989; Chong, *et al.*, 2002a; Ai *et al.*, 2007) การวัดการย่อยได้ของวัตถุดิบด้วยวิธี *in vitro* มีหลายแบบ เช่น การบ่มวัตถุดิบกับเอนไซม์เพื่อตรวจสอบปริมาณสารอาหารที่เหลือเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารในอาหารหรือวัตถุดิบ การวัดค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการบ่มวัตถุดิบกับเอนไซม์ หรือเรียกว่า pH stat ซึ่งเป็นการประเมินค่าพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ protease (Chong, *et al.*, 2002a)

Eid and Matty (1989) กล่าวว่า การวิเคราะห์แบบ *in vitro* ต้องมีปริมาณวัตถุดิบและเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ถูกต้องในสภาวะการย่อยที่เหมาะสมทั้งพีเอช อุณหภูมิ และเวลา ซึ่งเทคนิคเหล่านี้รวมถึงการเตรียมสภาวะที่เหมาะสมซึ่งวัตถุดิบหรืออาหารจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวหรือหลายชนิด เอนไซม์ทางการค้าของสัตว์บกและมีแหล่งจากแบคทีเรียที่มีการใช้กันเช่น trypsin chymotrypsin และ pepsin รวมทั้งการใช้เอนไซม์จากปลาที่ต้องการทดลอง

Eid and Matty (1989) ได้พัฒนาการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยในห้องปฏิบัติการ (*in vitro* digestibility) โดยบ่มอาหารทดลองกับเอนไซม์ที่สกัดจากปลาไน (*Cyprinus carpio*) ในบัฟเฟอร์พีเอช 9.5 ในหลอดทดลอง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน พบว่า อาหารที่มีปลาป่นเป็นส่วนผสมและมีโปรตีน 14 และ 21 % มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเป็น 90.2 และ 93.0 % อาหารที่มี casein เป็นส่วนผสมและมีโปรตีน 18 และ 36 % มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเป็น 91.5 และ 83.2 % อาหารที่มีถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมและมีโปรตีนเป็น 10 และ 20 % มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเป็น 84.2 และ 85.3 % อาหารที่มีเมล็ดทานตะวันเป็นส่วนผสมและมีโปรตีนเป็น 8 และ 16 % มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเป็น 64.2 และ 66.1 % และอาหารที่มีถั่วเหลืองกับปลาป่นเป็นส่วนผสมและมีโปรตีนเป็น 18 % มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเป็น 86.2 % ผลของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยวิธี *in vivo* และ *in vitro* มีค่าความสัมพันธ์ (r^2) เป็น 0.99

Carter *et al.* (1999) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารและโปรตีนโดยวิธี *in vitro* เพื่อใช้ในการทดสอบอาหารและวัตถุดิบสำหรับปลา bluefin tuna โดยใช้เอนไซม์ 3 แบบ ได้แก่ เอนไซม์ทางการค้า (เช่น trypsin, chymotrypsin และ protease) เอนไซม์สกัดจาก pyloric caeca ของปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) และ bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) โดยบ่มตัวอย่างอาหารและเอนไซม์ในบัฟเฟอร์พีเอช 8 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นหาประสิทธิภาพการย่อยอาหารและโปรตีน พบว่า เอนไซม์ทั้ง 3 แบบมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และ ประสิทธิภาพการย่อยมีค่าสูงสุดเมื่อใช้เอนไซม์ทางการค้า รองลงมาเป็นเอนไซม์จากปลา Atlantic salmon และ bluefin tuna ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ทั้ง 3 แบบมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน ในปัจจุบันมีการใช้วิธี *in vitro* ในการหาประสิทธิภาพการย่อยเพื่อทดสอบอาหารและวัตถุดิบก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลองเป็นอาหารของปลา bluefin tuna

Chong *et al.* (2002a) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของวัตถุดิบจากสัตว์ได้แก่ ปลาป่น และ beef hart และวัตถุดิบจากพืชได้แก่ กากถั่วเหลือง และข้าวสาลีโดยวิธี *in vitro* กับวิธี *in vivo* ในปลา discus โดยวิธี *in vitro* ใช้เอนไซม์ 4 แบบได้แก่ Lazo single enzyme, Hsu multi-enzyme, Saterlee mutienzyme และเอนไซม์จากปลา discus โดยบ่มวัตถุดิบกับเอนไซม์ต่าง ๆ ในบัฟเฟอร์พีเอช 7.5 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ พบว่า วัตถุดิบจากสัตว์ย่อยได้ง่ายกว่าวัตถุดิบที่เป็นพืช และ ความสัมพันธ์ระหว่างวิธี *in vivo* กับ Saterlee mutienzyme มีค่ามากที่สุด ($r^2 = 0.85-0.9$) รองลงมาเป็นเอนไซม์จากปลา Discus ($r^2 = 0.72-0.87$) และ Lazo single enzyme มีค่าความสัมพันธ์กับวิธี *in vivo* น้อยที่สุด

ปรเมษฐ์ (2550) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบด้วยวิธี *in vitro* โดยใช้เอนไซม์ที่สกัดจากปลากดเหลืองมาบ่มกับวัตถุดิบเป็นเวลา 12 ชม. ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสที่พีเอช 3 พบว่า ปลาป่นมีค่าระดับการย่อยสูงสุดรองลงมาได้แก่ กากถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ โดยมีระดับการย่อยสลายโปรตีนเป็น 10.21 ± 0.42 , 9.08 ± 0.79 , 7.76 ± 0.77 และ 5.63 ± 0.82 % ตามลำดับ

5. การเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารโดยการเสริมเอนไซม์

วัตถุดิบสำคัญที่เป็นแหล่งโปรตีนของสัตว์น้ำได้แก่ ปลาป่น ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีการใช้ปลาป่นเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ แต่ผลผลิตปลาป่นกลับลดลงทำให้ปริมาณของปลาป่นกลายเป็นข้อจำกัดในอาหารสัตว์น้ำ จึงมีงานวิจัยทางด้านอาหารสัตว์น้ำเพื่อหาวัตถุดิบทดแทนปลาป่น วัตถุดิบที่ได้รับความสนใจได้แก่โปรตีนจากพืช (Yilmaz and Ikiz, 2006) โดยที่ผ่านมามีงานวิจัยส่วนใหญ่เน้นการศึกษาเรื่องคุณค่าทางอาหารของวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนของพืช เช่น กากถั่วเหลือง canola ถั่วต่าง ๆ lupin และ flax (Drew *et al.*, 2005) แต่โดยทั่วไปปลาป่นมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของพืชเหล่านี้ต่ำกว่าปลาป่น ดังนั้นจึงต้องมีการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของแหล่งโปรตีนจากพืชเช่น การผ่านขบวนการ ให้ความร้อนสูง การแยกส่วนต่าง ๆ ของธัญพืชเพื่อลดสารต้านโภชนาการ และเพิ่มปริมาณโปรตีน และลดชนิดของแหล่งโปรตีนจากพืชในสูตรอาหารเพื่อลดสารต้านโภชนาการที่มาจากวัตถุดิบแต่ละชนิด แต่อย่างไรก็ตามการย่อยได้ของวัตถุดิบเหล่านี้ก็ยังต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่น (Drew *et al.*, 2005 และ Lin *et al.*, 2007)

ในปัจจุบันการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เพื่อเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ได้รับความสนใจจากโรงงานผลิตอาหารสัตว์และจากผู้ผลิตสัตว์เพื่อปรับปรุงสมรรถภาพของสัตว์ และประสิทธิภาพการ

ย่อย มีการเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์ทั่วโลก การใช้ protease เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยมีการศึกษามากในสัตว์ปีก หมู และวัว ซึ่งการศึกษาเหล่านี้แนะนำว่า การเสริมเอนไซม์เป็นประโยชน์ต่อสัตว์โดยมีผลทำให้การย่อยของสัตว์ และผลผลิตดีขึ้น (Lin *et al.*, 2007) ส่วนในสัตว์น้ำมีการศึกษาน้อย เช่น

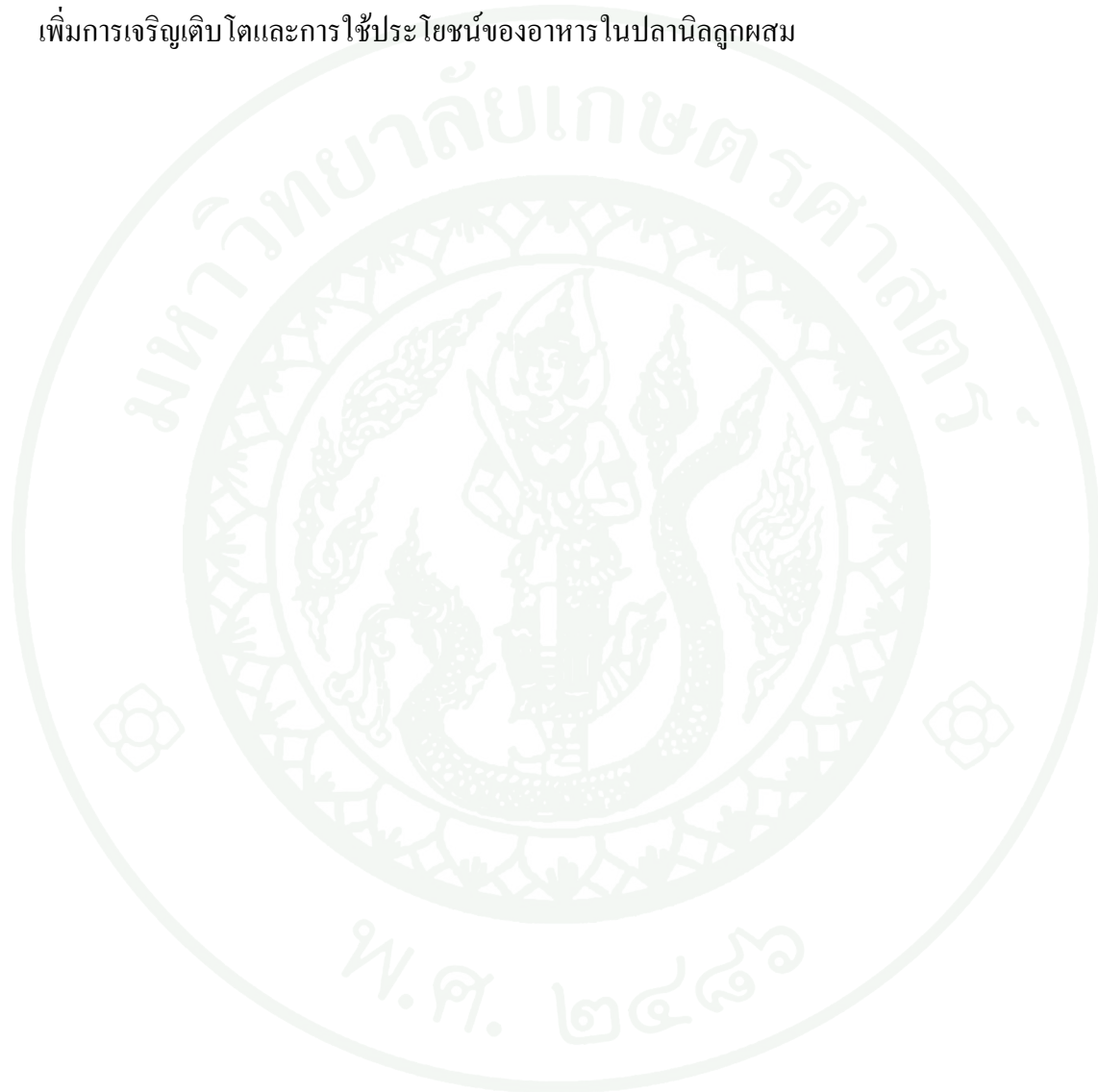
Yilmaz and Ikiz (2006) ได้ศึกษาผลของเอนไซม์ในอาหารปลา sea bream ที่มีกากถั่วเหลือง 40 % ต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของเนื้อปลาโดยมี อาหารทดลอง 2 สูตร ได้แก่อาหารควบคุมไม่เติมเอนไซม์ และอาหารที่เติมเอนไซม์ (galaktosidase, amylase, cellulose, protease และ xylanase) ทำการทดลอง 14 สัปดาห์ พบว่า การเจริญเติบโตและคุณภาพเนื้อไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งผู้วิจัยสรุปว่า อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ทดลองเป็น 20.61 ± 2.92 องศาเซลเซียส อาจเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งผู้วิจัยเสนอว่าอาจต้องมีการทดลองใหม่ในระดับของเอนไซม์และอุณหภูมิที่แตกต่างจากนี้

Drew *et al.* (2005) ได้ศึกษาผลของการเสริม protease ในอาหารปลา rainbow trout พบว่าการเติม protease 250 กรัม/ตันในอาหารที่มีส่วนผสมของ canola และถั่ว ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โปรตีน ไขมัน และพลังงาน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่การเติม protease ในอาหารที่มีส่วนผสมของ flax และถั่วไม่ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยเพิ่มขึ้น ดังนั้นการใช้ protease เพื่อเสริมประสิทธิภาพการย่อยจำเป็นต้องมีการทดสอบกับวัตถุดิบแต่ละชนิดที่จะใช้

Farhangi and Carter (2007) ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ในอาหารที่มี dehulled lupin ต่อการเจริญเติบโตของปลา rainbow trout โดยมีอาหารควบคุม 2 สูตร ได้แก่ อาหารที่มีปลาป่นเป็นหลักโดยไม่มีโปรตีนจากพืช และ อาหารที่มี dehulled lupin 50 % และมีอาหารทดลอง 4 สูตรซึ่งมี dehulled lupin 50 % โดยใช้เอนไซม์ต่าง ๆ ดังนี้ สูตรที่ 1 ใส่ energex (hemicellulase) 3,000 ppm สูตรที่ 2 ใส่ bio-feed (protease) 300 ppm สูตรที่ 3 ใส่ galactosidase 1,800 ppm และ สูตรที่ 4 ใส่เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด 5,100 ppm พบว่าการอาหารที่เสริมเอนไซม์ทั้ง 4 สูตรไม่ทำให้น้ำหนักปลาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการผสมเอนไซม์ทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง อาหารที่ผสม Energex ทำให้ปลามีประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โปรตีน และพลังงาน สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน และการเสริมเอนไซม์ไม่มีผลต่อคุณภาพซาก

Lin *et al.* (2007) ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ neutral protease, β glucanase และ xylanase ต่อการเจริญเติบโตของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*) โดยเติมเอนไซม์ในอาหาร 0, 1.0 และ 1.5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน และพลังงาน และคุณภาพซาก ของทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณเอนไซม์ 1.5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารสูงสุด ไขมันในตับลดลงเมื่อปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น กิจกรรมของ protease และ amylase เพิ่มขึ้นตามปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาสามารถบอกได้ว่าการเสริมเอนไซม์สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิลลูกผสม



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ และการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vitro*

- 1.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 1.2 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator)
- 1.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง แบบควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (centrifuge)
- 1.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
- 1.5 เครื่องชั่ง
- 1.6 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
- 1.7 ที่บดเนื้อเยื่อ (homogenizer)

2. อุปกรณ์ในการเลี้ยงปลาซวาย

- 2.1 บ่อซีเมนต์ขนาด 1.35 x 1.35 เมตรและเครื่องให้อากาพร้อมอุปกรณ์
- 2.2 ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1.5 ตันและเครื่องให้อากาพร้อมอุปกรณ์

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาซวาย

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาซวาย โดยศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในปลาซวาย 2 ระยะ คือ ระยะวัยอ่อนตั้งแต่ปลาแรกฟักจนถึงอายุ 21 วัน และ ระยะวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

1.1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาทรายวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงอายุ 21 วัน

ศึกษาการพัฒนาของกิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในปลาทรายวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนถึงอายุ 21 วัน

1.1.1 สัตว์ทดลอง

นำไข่ปลาทรายที่ได้จากการผสมเทียมที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดปทุมธานีมาฟักในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1.5 ตัน ดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อลูกปลาฟักนำไปอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 250 ลิตร ให้อาร์ทีเมียวันละ 3 ครั้ง ตั้งแต่ลูกปลาอายุ 3 วัน จนกระทั่งลูกปลามีอายุ 21 วัน

การศึกษากิจกรรมเจริญเติบโตและการพัฒนาของลูกปลาดำเนินการโดยสุ่มลูกปลาทุกวัน ๆ ละ 20 ตัวเพื่อชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของลูกปลา และศึกษาการพัฒนาของลูกปลาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 1 การผสมเทียมปลาทราย โดยที่ (A) รีดไข่ปลา (B) รีดน้ำเชื้อผสมกับไข่ (C) ใช้เชือกพลาสติกเป็นวัสดุให้ไข่ปลาคิด (D) นำไข่ปลาฟักในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1.5 ตัน

1.1.2 การสกัดเอนไซม์

สุ่มตัวอย่างลูกปลาเวลาประมาณ 8.00 น.ก่อนให้อาหารมื้อเช้า เพื่อป้องกันเอนไซม์จากอาหารมีชีวิตที่ยังคงเหลือในกระเพาะอาหาร โดยเก็บตัวอย่างลูกปลาอายุ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15, 17, 19 และ 21 วัน จำนวนลูกปลาสุ่มตัวอย่างมีรายละเอียดดังนี้ ลูกปลาฟักวันแรกจนถึงลูกปลาอายุ 2 วันจำนวน 400 ตัว ลูกปลาอายุ 3 – 4 วันจำนวน 200 ตัว ลูกปลาอายุ 5-6 วันจำนวน 100 ตัว ลูกปลาอายุ 7 – 9 วันจำนวน 50 ตัว และลูกปลาอายุ 11 – 21 วันจำนวน 20 ตัว การเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจะทำ 3 ซ้ำ สุ่มตัวอย่างลูกปลาใส่ในบีกเกอร์ปล่อยไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อให้อาหารในทางเดินอาหารถูกดูดซึมและขับถ่ายออกมา หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างลูกปลาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สกัดเอนไซม์โดยบดลูกปลาทั้งตัวด้วย glass homogenizer และเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7 ในอัตราส่วน 1: 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) การบดตัวอย่างลูกปลาทำในภาชนะใส่น้ำแข็ง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ $15,000 \times g$ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เก็บส่วนใสด้านบน (supernatant) หรือ crude enzyme extract ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์

1.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract ตามวิธีของ Lowry *et al.* (1951) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine serum albumin (BSA)

1.1.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Vega-Villasante *et al.* (1999) และ Hildalgo *et al.*, (1999) โดยใช้ azocaseine เป็น substrate บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ 0.1 M Citrate-phosphate Buffer พีเอช 3 (Stoll and Blanchard, 1990) และ 0.2 M Phosphate-NaOH Buffer พีเอช 11 (Dawson *et al.*, 1986) โดยพีเอช 3 และ 11 เป็นพีเอชที่เหมาะสมกับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease และ alkaline protease ที่ได้จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในปลาสาวยักษ์รุ่นขนาด 10 กรัม

เติมสารละลาย azocasein เข้มข้น 1 % (w/v ในน้ำกลั่น) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับ 0.1 M Citrate-phosphate Buffer (pH 3) และ 0.2 M Phosphate-NaOH Buffer (pH 11) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม crude enzyme extract จากข้อ 1.1.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 20 % (w/v) ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นดูดส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร ตัวอย่างที่เป็น blank และตัวอย่างควบคุม (control) จะวิเคราะห์เช่นเดียวกัน แต่ blank จะเติมบัฟเฟอร์แทน crude enzyme extract ส่วนตัวอย่างควบคุมเติม crude enzyme extract หลังจากเติม TCA วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (Triplicate) นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ protease ตามสมการ

กิจกรรมของเอนไซม์ protease 1 ยูนิต (U) =

$$\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ (ตัวอย่าง - ตัวอย่างควบคุม)}}{\text{เวลาในการบ่ม (นาที) x ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract (มิลลิกรัม) x 0.001}}$$

โดยกิจกรรมของเอนไซม์ protease 1 ยูนิต (U) หมายถึงความสามารถของเอนไซม์ในการทำให้ azocasein สลายตัว (hydrolysis) และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง 0.001 หน่วยต่อนาที ต่อมิลลิกรัมโปรตีน⁻¹ ของเอนไซม์ที่สกัด (Δ absorbance min⁻¹ mg protein⁻¹) ภายใต้สภาวะการทดลองที่กำหนด

1.1.5 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ amylase

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ amylase โดยดัดแปลงจากวิธีของ Vega-Villasante *et al.* (1999) และ Natalia *et al.* (2004) ซึ่งมีแบ่งเป็น substrate บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer พีเอช 7 (Stoll and Blanchard, 1990) โดยพีเอช 7 เป็นพีเอชที่เหมาะสมกับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ได้จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัม

เติมน้ำแข็งเข้มข้น 1 % ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer พีเอช 7 ปริมาตร 490 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม crude enzyme extract จากข้อ 1.1.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็นนาน 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปลี่ยนเป็นปริมาณของมอลโตสที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาล maltose ตัวอย่างที่เป็น blank และตัวอย่างควบคุม (control) จะวิเคราะห์เช่นเดียวกัน แต่ blank จะเติมบัฟเฟอร์แทน crude enzyme extract ส่วนตัวอย่างควบคุมเติม crude enzyme extract หลังจากเติม DNS วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (Triplicate) จากนั้นนำปริมาณมอลโตสที่ได้มาคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ดังสมการ

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ amylase 1 ยูนิต (U)} = \frac{\text{ปริมาณ maltose } (\mu\text{Mol})}{\text{เวลาในการบ่ม(นาที)} \times \text{ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract (มิลลิกรัม)}}$$

โดยกิจกรรมของเอนไซม์ amylase 1 ยูนิต (U) หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ในการทำให้แป้งสลายตัว (hydrolysis) และมีผลทำให้เกิด maltose (μMol) ต่อนาที ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน⁻¹ ของเอนไซม์ที่สกัดภายใต้สภาวะการทดลองที่กำหนด

1.1.6 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ lipase

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ lipase โดยดัดแปลงจากวิธีของ Katsivela *et al.* (1995) และ Dosanjh and Kaur (2002) ซึ่งใช้ *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) เป็น substrate บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer พีเอช 9 (Stoll and Blanchard, 1990)

ใส่สารละลาย *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (ใน Isopropanol) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer พีเอช 9 ปริมาตร 800 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม crude enzyme extract จากข้อ 1.1.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที หยุด

ปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 x g นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปลี่ยนเป็นปริมาณของ p-Nitrophenol ที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับ กราฟมาตรฐานของ p-Nitrophenol ตัวอย่างที่เป็น blank และตัวอย่างควบคุม (control) จะวิเคราะห์เช่นเดียวกัน แต่ blank เติมบัฟเฟอร์แทน crude enzyme extract ส่วนตัวอย่างควบคุมเติม crude enzyme extract หลังจากเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ (Triplicate) และนำปริมาณของ p-Nitrophenol ที่เกิดขึ้น มาคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ตามสมการ

กิจกรรมของเอนไซม์ lipase 1 ยูนิต =

$$\frac{\text{ปริมาณ p-Nitrophenol } (\mu\text{Mol})}{\text{เวลาในการบ่ม(นาทิต) x ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract (มิลลิกรัม)}}$$

โดยกิจกรรมของเอนไซม์ lipase หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ในการทำให้ *p*-nitrophenyl palmitate สลายตัว (hydrolysis) และมีผลทำให้เกิด p-Nitrophenol (μMol) ต่อ นาที ต่อมิลลิกรัมโปรตีน⁻¹ของเอนไซม์ที่สกัดภายใต้สภาวะการทดลองที่กำหนด

1.1.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลกิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ของปลาสาวยวัยอ่อนแต่ละช่วงอายุมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละช่วงอายุโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

1.2 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ ตับของปลาสาวยขนาด 10 และ 30 กรัม โดยวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่พีเอช 2 – 12 ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิมาตรฐานในการวัดปริมาณเอนไซม์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและในปลาส่วนใหญ่ (Hidalgo *et al.*, 1999) และได้ทำการทดสอบเบื้องต้นแล้วว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์

1.2.1 สัตว์ทดลอง

นำปลาสร้อยขนาดประมาณ 10 กรัม และ 30 กรัมมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1.5 ตัน ประมาณ 1 สัปดาห์ ให้อาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนไม่น้อยกว่า 25 % วันละ 2 ครั้งโดยให้กินจนอิ่ม

1.2.2 การสกัดเอนไซม์

เตรียมตัวอย่างปลาสร้อยโดยคืให้อาหารปลาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ไม่หิวอาหารและมูอยู่ในระบบทางเดินอาหาร สุ่มตัวอย่างปลาขนาดละ 60 ตัว ทำให้สลบด้วยน้ำมันกานพลู ซึ่งน้ำหนักปลา จากนั้นผ่าตัดเพื่อเก็บ กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ซึ่งน้ำหนักของแต่ละอวัยวะแล้วนำไปสกัดเอนไซม์ โดยบดตัวอย่างด้วย homogenizer และเติมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ พีเอช 7 ในอัตราส่วน 1: 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) การบดตัวอย่างจะทำในภาชนะที่ใส่น้ำแข็ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ $15,000 \times g$ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วดูดส่วนที่เป็นไขมันด้านบนทิ้ง นำส่วนใสด้านบน (supernatant) ไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ที่ $15,000 \times g$ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วเก็บส่วนใส หรือ crude enzyme extract ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract ตามข้อ 1.1.3 และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่ระดับพีเอช ต่าง ๆ

1.2.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ตามข้อ 1.1.4, 1.1.5 และ 1.1.6 โดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ระดับพีเอช 2-12 บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ สารละลายบัฟเฟอร์ 0.2 M Glycine-HCl buffer (pH 2), 0.1 M Citrate-phosphate Buffer (pH 3-5), 0.2 M phosphate Buffer (pH 6-8), 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer (pH 9-10) ตามวิธีของ Stoll and Blanchard (1990) และ 0.2 M Phosphate-NaOH Buffer (pH 11) และ Hydroxide-chloride buffer (pH 12) ตามวิธีของ Dawson *et al.* (1986)

วิเคราะห์กิจกรรมของ protease ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Vega-Villasante *et al.* (1999) และ Hildalgo *et al.*, (1999) โดยใช้ azocaesine เป็น substrate บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ สารละลายบัฟเฟอร์ 0.2 M Glycine-HCl buffer (pH 2), 0.1 M Citrate-phosphate Buffer (pH 3-5), 0.2 M

phosphate Buffer (pH 6-8), 0.2 M Carbonate-Bicarbonate buffer (pH 9-10) ตามวิธีของ Stoll and Blanchard (1990) และ 0.2 M Phosphate-NaOH Buffer (pH 11) และ Hydroxide-chloride buffer (pH 12) ตามวิธีของ Dawson *et al.* (1986)

1.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลกิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ตับ ลำไส้ตอนต้น และลำไส้ตอนปลายของปลาซวาย ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ มา วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดที่ ระดับพีเอชต่าง ๆ โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เพื่อหา ระดับพีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ตอนต้น ลำไส้ตอนปลาย และตับ

การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ปลาซวายขนาด 10 และ 30 กรัม

ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* นี้ เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Fageer and Tinay (2004) โดยใช้เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (P 5860; Sigma – Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) และเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลา ซวายขนาด 10 กรัมและ 30 กรัม

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ใช้ในการศึกษานี้ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง-กระเพาะเปลือก (dehulled soybean meal) กากเมล็ดทานตะวัน กากคาโนล่า และ distillers dried grains with soluble (DDGS) มาบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาดตา 30 mesh (590 ไมครอน) แล้วนำไปอบให้แห้ง นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ AOAC. (1998)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาสวายขนาด 10 และ 30 กรัม

การเตรียมปลาทดลอง การสกัดเอนไซม์ protease จากกระเพาะอาหาร และการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ของปลาสวายขนาด 10 และ 30 กรัมเพื่อใช้ในการศึกษานี้ ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ชั่งวัตถุดิบให้มีปริมาณโปรตีน 0.2 กรัม เติมน้ำละลาย 0.1 M Citrate-phosphate Buffer พีเอช 3 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำที่สกัดจากปลาสวาย 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำละลาย trichoroacetic acid ความเข้มข้น 20 % ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 จากนั้นนำตัวอย่างไปอบให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนัก และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของวัตถุดิบที่ไม่ถูกย่อยตามวิธีของ AOAC (1998) และนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (apparent protein digestibility)

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

ชั่งวัตถุดิบให้มีปริมาณโปรตีน 0.2 กรัม เติมน้ำที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (กิจกรรมของเอนไซม์ protease เป็น 3.2 ± 0.460 U/ml) ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 และ 0.40 unit ต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบ 1 กรัม ใน 0.2 M phosphate Buffer พีเอช 7 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำละลาย trichoroacetic acid ความเข้มข้น 20 % ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 จากนั้นนำตัวอย่างไปอบให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนัก และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของวัตถุดิบที่ไม่ถูกย่อยตามวิธีของ AOAC (1998) และนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (apparent protein digestibility)

2.4 คำนวณประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (apparent protein digestibility) ดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน} = \left(\frac{\text{ปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้น} - \text{ปริมาณโปรตีนที่ไม่ถูกย่อย}}{\text{ปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของแต่ละวัตถุดิบใช้วิธี Duncan's New Multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 3 การเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวยัยรุ่น

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 4 แฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (2 x 4 factorial experiment in completely randomized design) ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยได้แก่ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองกระเทาะเปลือก (dehulled soybean meal) และการเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 8 กลุ่มการทดลอง (treatment combination) แต่ละกลุ่มการทดลองมี 3 ซ้ำ

3.1 สัตว์ทดลอง

เตรียมปลาทดลองโดยสุ่มปลาสาวยัยรุ่นจำนวน 480 ตัว (น้ำหนักเริ่มต้น 22.52 – 22.59 กรัม) ลงเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 1.35 x 1.35 เมตร ระดับน้ำ 0.55 เมตร จำนวน 24 บ่อโดยเลี้ยงปรับสภาพก่อนการทดลองด้วยอาหารกลุ่มควบคุม (S0) เป็นเวลาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยมีการจัดการน้ำระบบน้ำไหลผ่านในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อนาที และให้อาหาร ซึ่งน้ำหนักปลาทดลอง และสุ่มบ่อทดลอง เพื่อใช้ในการทดลองอาหาร 8 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ ก่อนเริ่มทดลองซึ่งน้ำหนักเริ่มต้นของปลา

3.2 อาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองสูตรอาหารที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0 %, 50 %, 75 % และ 100 % (S0, S50, S75 และ S100 ตามลำดับ) โดยกำหนดให้อาหารมีโปรตีน 30 % และพลังงาน 2,800 Kcal/kg รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 และเตรียมเอนไซม์ protease ที่ได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (P 5860; Sigma – Aldrich Inc. St. Louis, Missouri, USA) ที่ความเข้มข้น 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (ความเข้มข้นของเอนไซม์ protease จากแบคทีเรียที่น้อยที่สุด ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลืองไม่น้อยกว่า 50 % จากการทดลองที่ 2) แบ่งการทดลองออกเป็น 8 กลุ่มกลุ่มละ 3 ซ้ำดังนี้

กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0 % และไม่เสริมเอนไซม์ (S0+E0) (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50 % และไม่เสริมเอนไซม์ (S50+E0)

กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 75 % และไม่เสริมเอนไซม์ (S75+E0)

กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 100 % และไม่เสริมเอนไซม์ (S100+E0)

กลุ่มที่ 5 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0 % และเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.05 U /มิลลิกรัมโปรตีนถั่วเหลือง (S0 + E0.05)

กลุ่มที่ 6 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50 % และเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.05 U /มิลลิกรัมโปรตีนถั่วเหลือง (S50 + E0.05)

กลุ่มที่ 7 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 75 % และเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.05 U /มิลลิกรัมโปรตีนถั่วเหลือง (S75 + E0.05)

กลุ่มที่ 8 ได้รับอาหารสูตรที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 100% และเสริมเอนไซม์ protease ที่ระดับ 0.05 U /มิลลิกรัมโปรตีนถั่วเหลือง (S75 + E0.05)

การทำอาหารทดลอง นำวัตถุดิบที่ชั่งตามปริมาณที่ได้จากการคำนวณมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Hobart mixer แล้วเติมน้ำ 30 เปอร์เซ็นต์ ผสมให้เข้ากันดีแล้วจึงนำไปอัดเม็ดด้วย Hobart mincer จากนั้นนำอาหารมาอบแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 - 6 ชั่วโมง หรือจนกว่าอาหารมีความชื้นไม่เกิน 10 % นำอาหารมาหักเป็นท่อนสั้นขนาด 2- 3 มิลลิเมตร และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างอาหารมาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีได้แก่โปรตีน ไขมัน คาก ความชื้น แคลเซียม และฟอสฟอรัสตามวิธีของ AOAC (1998)

โดยอาหารสำหรับกลุ่มที่ 1- 4 จะพ่นด้วยน้ำในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จากนั้นคลุกด้วยอัลฟาสตาร์ทในปริมาณ 0.5 % ของน้ำหนักอาหาร ผึ่งลมให้แห้ง และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนอาหารสำหรับกลุ่ม 5- 8 นำเอนไซม์ protease ที่ได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในระดับ 0.05 U/กรัมโปรตีนของกากถั่วเหลือง ผสมในน้ำในอัตรา 20 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และไปพ่นในอาหารให้ทั่ว จากนั้นคลุกด้วยอัลฟาสตาร์ทในปริมาณ 0.5 % ของน้ำหนักอาหาร ผึ่งลมให้แห้ง และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเตรียมอาหารทำทุก 3 วัน

3.3 การจัดการระหว่างการทดลอง

ในระหว่างการทดลอง 12 สัปดาห์ ให้อาหาร 3 มื้อต่อวันในอัตรา 3-5 % ของน้ำหนักตัวโดยปรับปริมาณอาหารให้เหมาะสมกับการกินและขนาดของปลา บันทึกปริมาณอาหารที่ปลากิน คือดตะกอนที่พื้นบ่อทุกวันหลังจากให้อาหารเช้า ชั่งน้ำหนัก และนับจำนวนปลาทุก 2 สัปดาห์ จนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในระหว่างการชั่งวัดจะทำความสะอาดบ่อและเปลี่ยนถ่ายน้ำทั้งบ่อ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลา 10 ตัวจากแต่ละบ่อมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease ค่า Hepatosomatic index และ องค์ประกอบของเนื้อปลา ได้แก่โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า และสุ่มบ่อละ 2 ตัวมาเพื่อศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาในตับ และลำไส้ของปลาสาวย

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบ และคุณภาพทางเคมีของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร			
	S 0	S 50	S 75	S 100
ปลาป่น (โปรตีน 61.8 %)	20.00	10.00	5.00	0.00
กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก (โปรตีน 48.24 %)	30.00	42.65	48.98	55.30
รำละเอียด	10.00	11.00	12.00	13.00
ปลายข้าว	26.00	23.00	21.00	19.00
น้ำมันปลา	0.00	0.50	0.80	1.10
น้ำมันพืช	1.00	1.00	1.00	1.00
อัลฟาสตาร์ช	10.00	10.00	10.00	10.00
วิตามินรวม *	0.20	0.20	0.20	0.20
แร่ธาตุรวม **	0.10	0.10	0.10	0.10
เกลือ	2.70	1.55	0.92	0.30
คุณภาพทางเคมีในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)				
ความชื้น	9.83± 0.75	9.03±0.80	9.10± .47	9.55±0.90
โปรตีน	30.54±0.43	30.07± 0.40	30.18±0.69	29.99± 0.36
ไขมัน	3.68±0.10	3.44±0.05	3.38±0.06	3.44±0.15
เยื่อใย	5.63±0.19	5.82±0.24	6.14±0.35	6.59±0.33
เถ้า	8.52±0.14	7.40±0.16	7.03±0.44	6.37±0.05
NFE	52.63±0.14	53.27±0.67	53.27±0.66	52.61±0.52
แคลเซียม %	1.54±0.16	1.1±0.20	0.92±0.395	0.69±0.19
ฟอสฟอรัส %	1.08±0.17	0.92±0.14	0.7±0.28	0.61±0.18
พลังงานรวม (กิโลแคลอรี/100 กรัม)	419.22±0.62	420.99±0.68	421.04± 3.03	421.97±1.55
พลังงานย่อยได้ (กิโลแคลอรี/100 กรัม)	280.70±0.75	280.96±0.45	280.91± 2.02	281.52±1.09
ราคาอาหาร(บาท)/1 กิโลกรัม	18.13	16.51	15.71	14.90

หมายเหตุ * วิตามินรวม 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย วิตามินเอ 6,700,000 IU วิตามินดี 3 1,350,000 IU วิตามินอี 67 กรัม ไนอาซิน 53 กรัม กรดแพนโททินิก 26.5 กรัม วิตามินเค 3 3.4 กรัม วิตามินบี1 6.7 กรัม วิตามินบี2 10 กรัม วิตามินบี6 8 กรัม วิตามินบี12 13.5 มิลลิกรัม กรดโฟลิก 3.3 กรัม ไบโอติน 3.35 กรัม วิตามินซี 105 กรัม และอินโนซิทอล 135 กรัม

** แร่ธาตุรวม 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย คอปเปอร์ 8.3 กรัม เหล็ก 4.17 กรัม โคบอลต์ 0.042 กรัม แมงกานีส 8.3 กรัม ไอโอดีน 0.117 กรัม ซีลีเนียม 0.083 กรัม ฟอสฟอรัส 93.33 กรัม สังกะสี 41.6 กรัม และแมกนีเซียม 116.667 กรัม

3.4 การศึกษาการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหาร

นำข้อมูลน้ำหนักปลา จำนวนปลา มาคำนวณหาค่าต่างๆดังนี้

3.4.1 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (daily weight gain, กรัม/วัน)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยปลาเริ่มทดลอง}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

3.4.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate , เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

$$= \left[\frac{(\ln W_1 - \ln W_0)}{\text{ระยะเวลาทดลอง (วัน)}} \right] \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักเฉลี่ยปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

W_0 = น้ำหนักเฉลี่ยปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง

3.4.3 อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

3.4.4 ประสิทธิภาพของอาหาร (Feed efficiency, FE)

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

3.4.5 ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio, PER)

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

3.5 การศึกษาเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง (skin fillet) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนังและค่า Hepatosomatic index (HSI)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลา 10 ตัว ชั่งน้ำหนักปลาแต่ละตัว และผ่าแยกอวัยวะได้แก่ กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ชั่งน้ำหนักของแต่ละอวัยวะ ใช้มีดแล่นำส่วนเนื้อติดหนัง (skin fillet) ชั่งน้ำหนัก และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1998) และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าต่าง ๆ ดังนี้

3.5.1. ค่า Hepatosomatic index (HSI) (%)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของตับปลา}}{\text{น้ำหนักตัวปลา}} \times 100$$

3.5.2. เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง (%)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของส่วนเนื้อติดหนัง}}{\text{น้ำหนักตัวปลา}} \times 100$$

3.6 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ใน กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำอวัยวะของปลาได้แก่กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับที่ได้จากข้อ 3.4 ไปทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ protease เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหารใช้เฉพาะบัฟเฟอร์พีเอช 3 สำหรับลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับใช้เฉพาะบัฟเฟอร์พีเอช 12

3.7 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยาในตับและลำไส้ของปลาสาวย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาบ่อละ 2 ตัว มาเก็บ ลำไส้ และตับ และนำมารักษาสภาพในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินอย่างน้อย 24 ชั่วโมง โดยให้น้ำยามีปริมาตร 20 เท่าของอวัยวะ ก่อนนำไปผ่านวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อตามวิธีของ Humason (1979) โดยนำตับ และลำไส้บรรจุใน Embedding cassette แล้วนำไปผ่าน ขั้นตอนการดึงน้ำออก (Dehydration) และ Infiltration ด้วยเครื่อง Automatic tissue processor จากนั้นนำไปฝังในพาราฟิน (Embedding) และนำไปตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Microtome) ให้มีความหนาประมาณ 4-5 ไมโครเมตร นำไปย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin จากนั้นทำเป็นสไลด์ถาวร แล้วนำไปศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

นำข้อมูลค่าเฉลี่ยของการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวยัยรุ่นทั้งในด้านการเจริญเติบโต อัตรารอด ค่า HSI เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง และองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา และกิจกรรมของเอนไซม์ protease ของปลาสาวยัยมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกสองทาง (Two-way ANOVA) เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลัก และอิทธิพลของปัจจัยหลัก และเปรียบเทียบหาความแตกต่างแบบ multiple comparisons ของการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวยัย ด้วย Turkey's multiple comparisons method ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สถานที่วิจัย

1. ตัวอย่างปลาสาวยัยจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดปทุมธานี
2. การเลี้ยงปลาสาวยัย และการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร ดำเนินการที่ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด กรมประมง

ระยะเวลาการวิจัย

3 ตุลาคม 2550 – มิถุนายน 2554

ผลและวิจารณ์

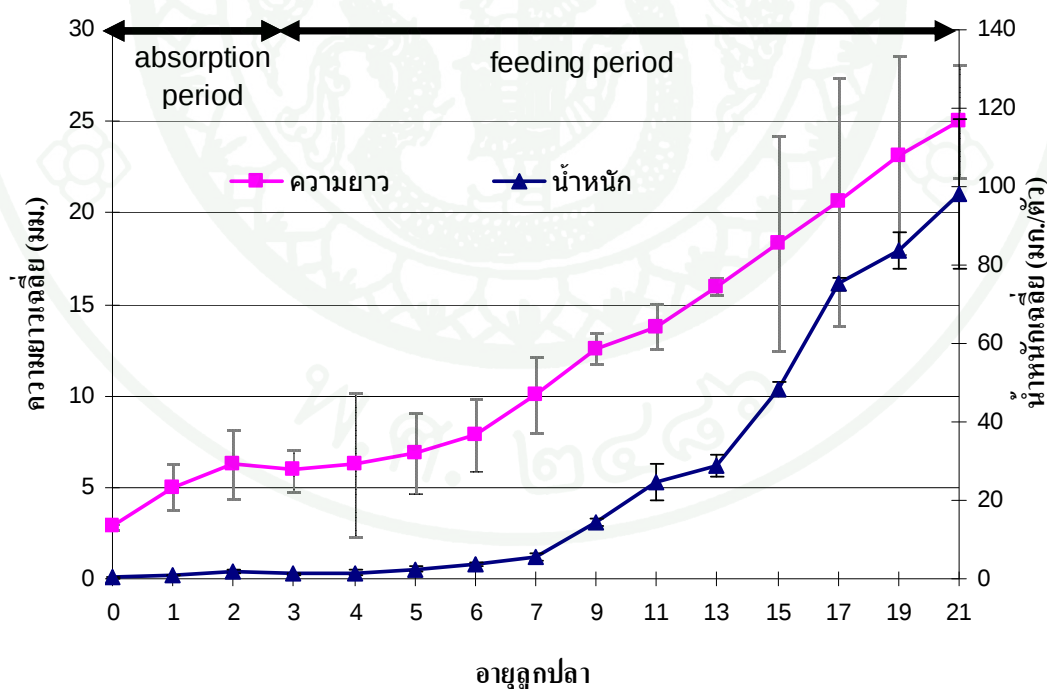
ผล

การทดลองที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวาย

1.1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายวัยอ่อน

1.1.1. การพัฒนาของปลาสวายวัยอ่อน

ไข่ของปลาสวายมีลักษณะเป็นไข่ติด มีรูปร่างกลมและมีสีน้ำตาลอมเขียว ปลาสวายจะฟักออกจากไข่ภายใน 24 ชั่วโมง ปลาสวายที่เพิ่งฟักมีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยเป็น 0.25 ± 0.10 กรัม และ 2.88 ± 0.15 มิลลิเมตรตามลำดับ เมื่อลูกปลาที่มีอายุครบ 21 วันจะมีน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยเป็น 98.25 ± 19.02 กรัม และ 25.03 ± 3.07 มิลลิเมตรตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2

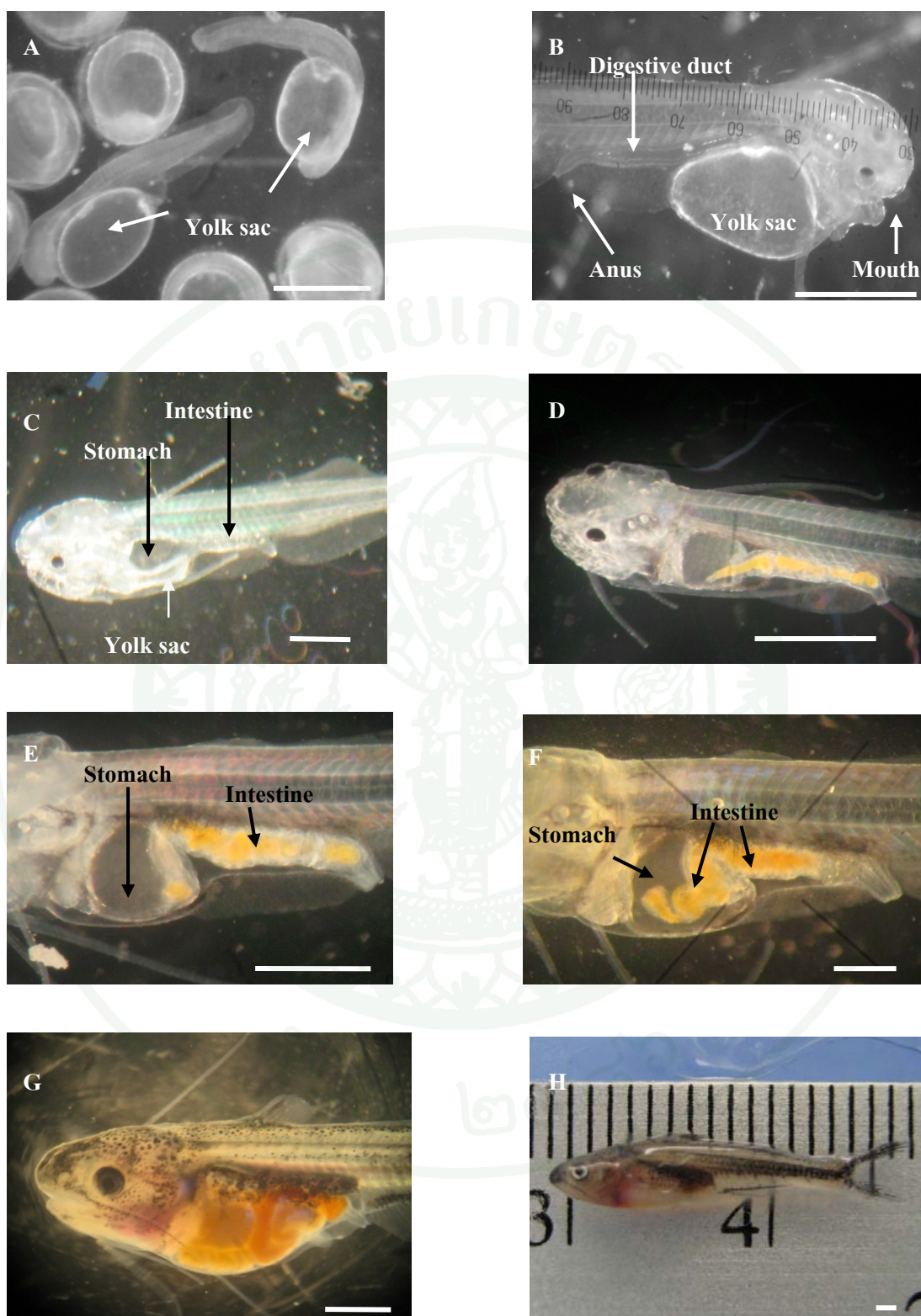


ภาพที่ 2 น้ำหนักและความยาวเฉลี่ยของปลาสวายวัยอ่อนตั้งแต่แรกฟักจนอายุ 21 วัน

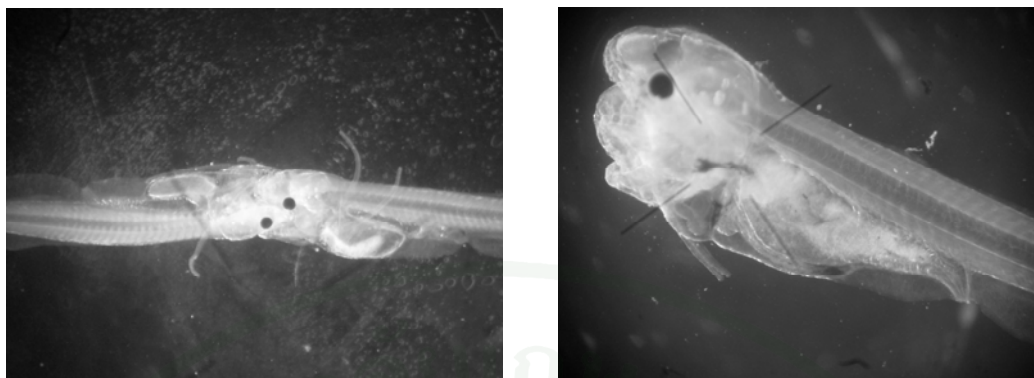
ลักษณะที่สำคัญของการเจริญพัฒนาของลูกปลาสวายวัยอ่อนดังแสดงในภาพที่ 3 โดย ลูกปลาแรกฟักมีลำตัวโปร่งใส (transparency) มีถุงอาหารสำรอง (yolk sac) ขนาดใหญ่อยู่ด้านท้อง ส่วนของปากยังไม่ปรากฏ (ภาพที่ 3 A) เมื่อลูกปลาอายุ 1 วัน ปากจะเปิด ถุงอาหารสำรองมีขนาดลดลง ท่อทางเดินอาหาร และช่องเปิดทวารเชื่อมกันเป็นเส้นตรง (ภาพที่ 3 B) ลูกปลาอายุ 2 วัน ถุงอาหารสำรองลดขนาดลงมาก กระเพาะอาหารเริ่มมีลักษณะเป็นถุงแตกต่างจากลำไส้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 3 C) ในระยะนี้พบว่าลูกปลามีการกินกันเอง ดังแสดงในภาพที่ 4 ลูกปลาอายุ 3 วัน จะไม่พบถุงอาหารสำรอง (ภาพที่ 3 D) ลูกปลาอายุ 4-7 วัน มีกระเพาะอาหารขนาดใหญ่กว่าลำไส้ ลำไส้ขดม้วนรอบกระเพาะอาหาร (ภาพที่ 3 E และ F) ลูกปลาอายุ 9 วัน ลำตัวจะทึบแสง (ภาพที่ 3 G) และเมื่อลูกปลามีอายุ 15 วันจะมีอวัยวะต่างๆ ครบถ้วนเหมือนปลาโตเต็มวัย (ภาพที่ 3 H)

1.1.2 กิจกรรมของเอนไซม์ protease

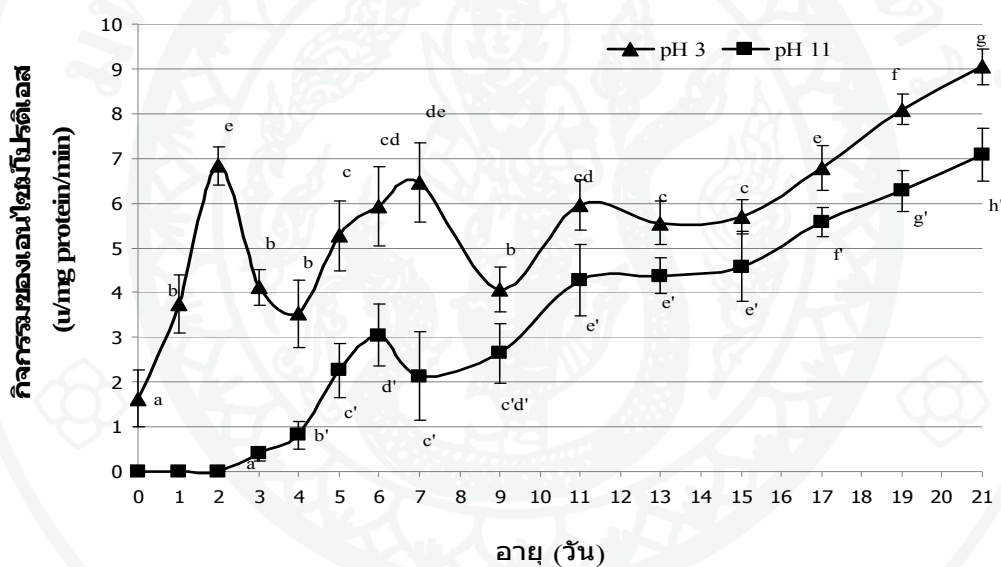
การพัฒนาของกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease ดังแสดงในภาพที่ 5 ลูกปลาแรกฟักมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 1.635 ± 0.644 U/mg protein/min จากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จนเป็น 6.870 ± 0.410 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 2 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 3.503 ± 0.7514 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 4 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งจนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 6.453 ± 0.881 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 7 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น 4.078 ± 0.496 U/mg protein/min เมื่อลูกปลาอายุ 9 วัน จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 5.953 ± 0.5576 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 11 วัน หลังจากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในลูกปลามีค่าคงที่โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในลูกปลาอายุ 13 และ 14 วันมีค่าไม่แตกต่างกับลูกปลาอายุ 11 วัน ($P > 0.05$) จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดเป็น 9.043 ± 0.400 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 21 วัน



ภาพที่ 3 วิวัฒนาการของปลาซาวีอ้อน (A) แรกฟัก; (B) อายุ 1 วัน; (C) อายุ 2 วัน (D) 3 วัน; (E) 4 วัน; (F) 7 วัน; (G) 9 วัน; (H) 15 วัน. (— = 1 มิลลิเมตร)



ภาพที่ 4 ลูกปลาอายุ 3 วันแสดงพฤติกรรมการกินกันเอง



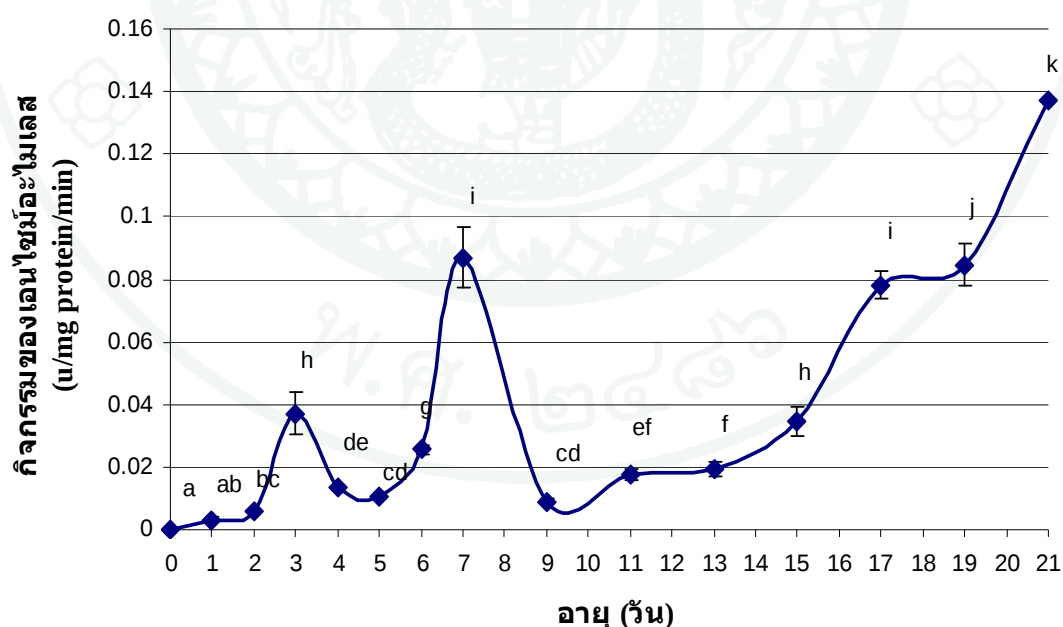
ภาพที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ของลูกปลาซาวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การพัฒนาของกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ดังแสดงในภาพที่ 5 กิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease พบเมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 0.399 ± 0.157 U/mg protein/min จากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จนเป็น 3.048 ± 0.686 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 6 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 2.137 ± 0.667 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 7 วัน หลังจาก

นั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 4.286 ± 0.794 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 11 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์จะมีค่าคงที่โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในลูกปลาอายุ 13 และ 14 วันมีค่าไม่แตกต่างกับลูกปลาอายุ 11 วัน ($P > 0.05$) จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดเป็น 7.079 ± 0.600 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 21 วัน

1.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase

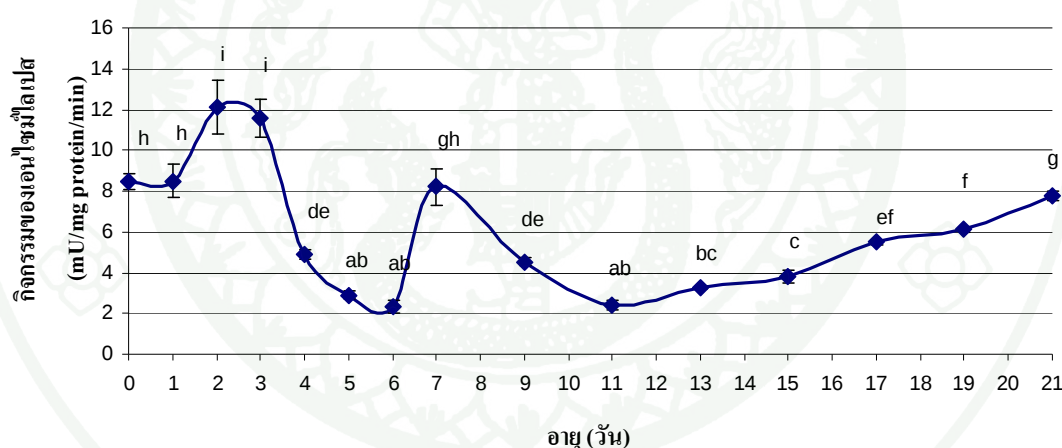
การพัฒนาของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ดังแสดงในภาพที่ 6 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase พบเมื่อลูกปลามีอายุ 1 วัน โดยมีค่าเป็น 0.003 ± 0.001 U/mg protein/min จากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จนเป็น 0.037 ± 0.006 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 0.011 ± 0.001 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 5 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 0.086 ± 0.009 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 7 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น 0.009 ± 0.001 U/mg protein/min เมื่อลูกปลาอายุ 9 วัน จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดเป็น 0.137 ± 0.001 U/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 21 วัน



ภาพที่ 6 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ของลูกปลาสวายวัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

1.1.4 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase

การพัฒนาของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ดังแสดงในภาพที่ 7 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase พบตั้งแต่ลูกปลาเพิ่งฟัก โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เป็น 8.460 ± 0.363 mU /mg protein/min จากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จนมีค่าสูงสุดเป็น 12.105 ± 1.323 และ 11.563 ± 0.921 mU /mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 2 และ 3 วันตามลำดับ ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 2.360 ± 0.309 mU/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 6 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งจนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 8.222 ± 0.897 mU /mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 7 วัน ต่อมากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเป็น 2.410 ± 0.247 mU/mg protein/min เมื่อลูกปลาอายุ 11 วัน จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เป็น 7.767 ± 0.255 mU/mg protein/min เมื่อลูกปลามีอายุ 21 วัน



ภาพที่ 7 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ของลูกปลาสาวยัยอ่อนตั้งแต่เริ่มฟักจนถึงอายุ 21 วัน
ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

1.2 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในปลาสวายวัยรุ่น

ปลาสวายที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นปลาสวายวัยรุ่น มีน้ำหนักเฉลี่ย 10.60 ± 3.39 กรัม และ 30.09 ± 5.56 กรัม ตามลำดับ บริเวณลำตัวมีแถบสีดำตามความยาวลำตัว 3 แถบ ดังแสดงในภาพที่ 8

จากการศึกษาอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยอาหารปลาสวายพบว่า กระเพาะอาหารมีลักษณะเป็นรูปตัวยู (U shaped stomach) ลำไส้มีลักษณะเป็นท่อขดยาวอยู่ในช่องท้องโดยลำไส้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ลำไส้ส่วนปลายจะเป็นท่อที่มีลักษณะผนังบางกว่าลำไส้ส่วนต้น ถูมน้ำดีมีลักษณะเป็นถุงใสภายในมีน้ำดีซึ่งมีสีเขียวปนเหลืองและมีท่อมาเปิดออกบริเวณลำไส้ส่วนต้น ตับมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดงแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือตับด้านซ้ายและด้านขวา ดังแสดงในภาพที่ 9

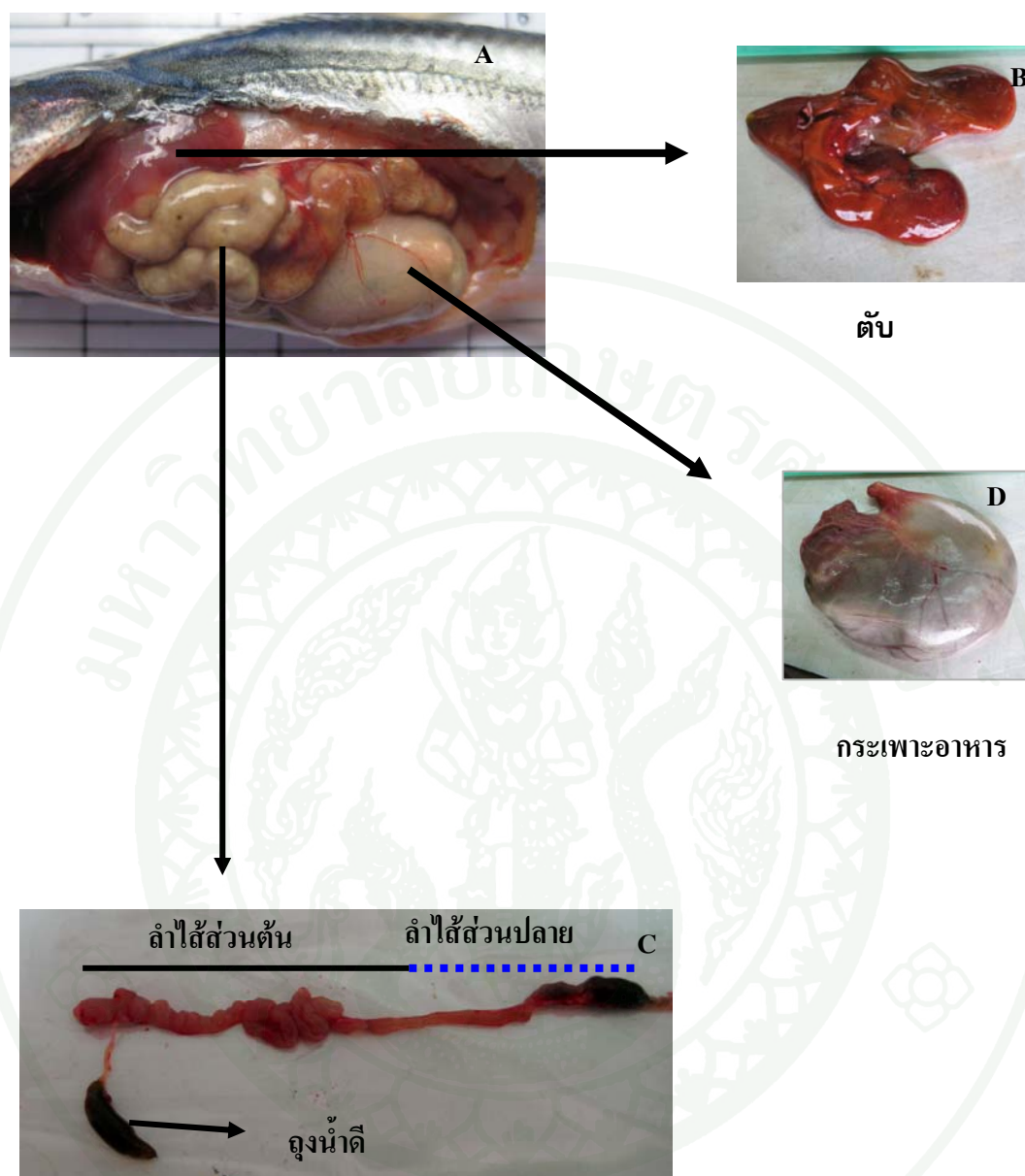


ภาพที่ 8 ลักษณะภายนอกของปลาสวายวัยรุ่น

(A) ปลานขนาด 10 กรัม

(B) ปลาสวายขนาด 30 กรัม

— หมายถึง 1 เซนติเมตร



ภาพที่ 9 อวัยวะในระบบย่อยอาหารของปลาสวาย

- (A) ตำแหน่งของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารในช่องท้องของปลาสวาย
- (B) ตับ
- (C) ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลายและถุงน้ำดี
- (D) กระเพาะอาหาร

1.2.1 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

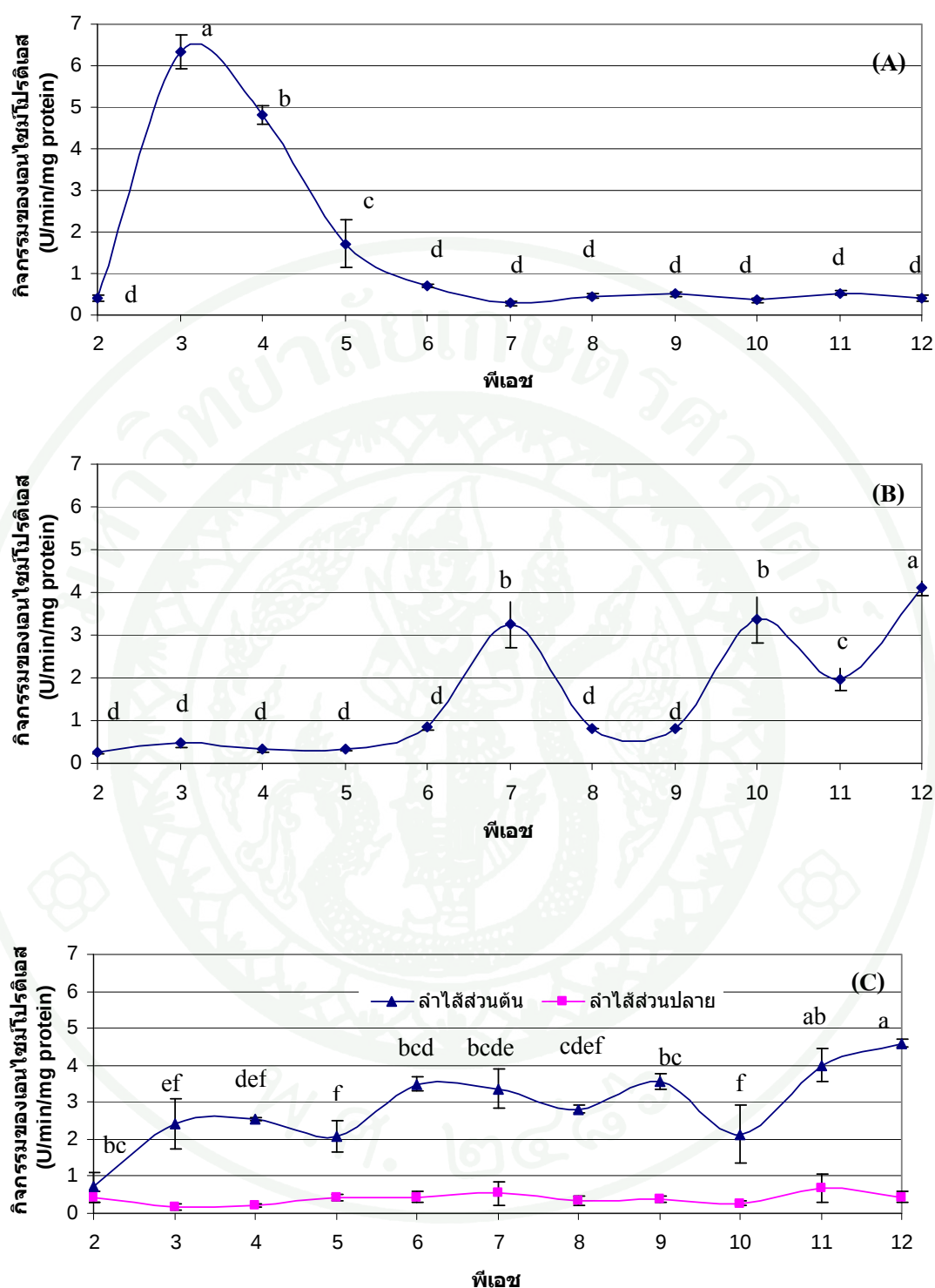
ผลจากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ พบว่า ระดับของพีเอช มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ดับ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางผนวกที่ 1 และตารางผนวกที่ 2

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุด (optimum pH) คือพีเอช 3 ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 10 (A) และ 11(A) ตามลำดับ

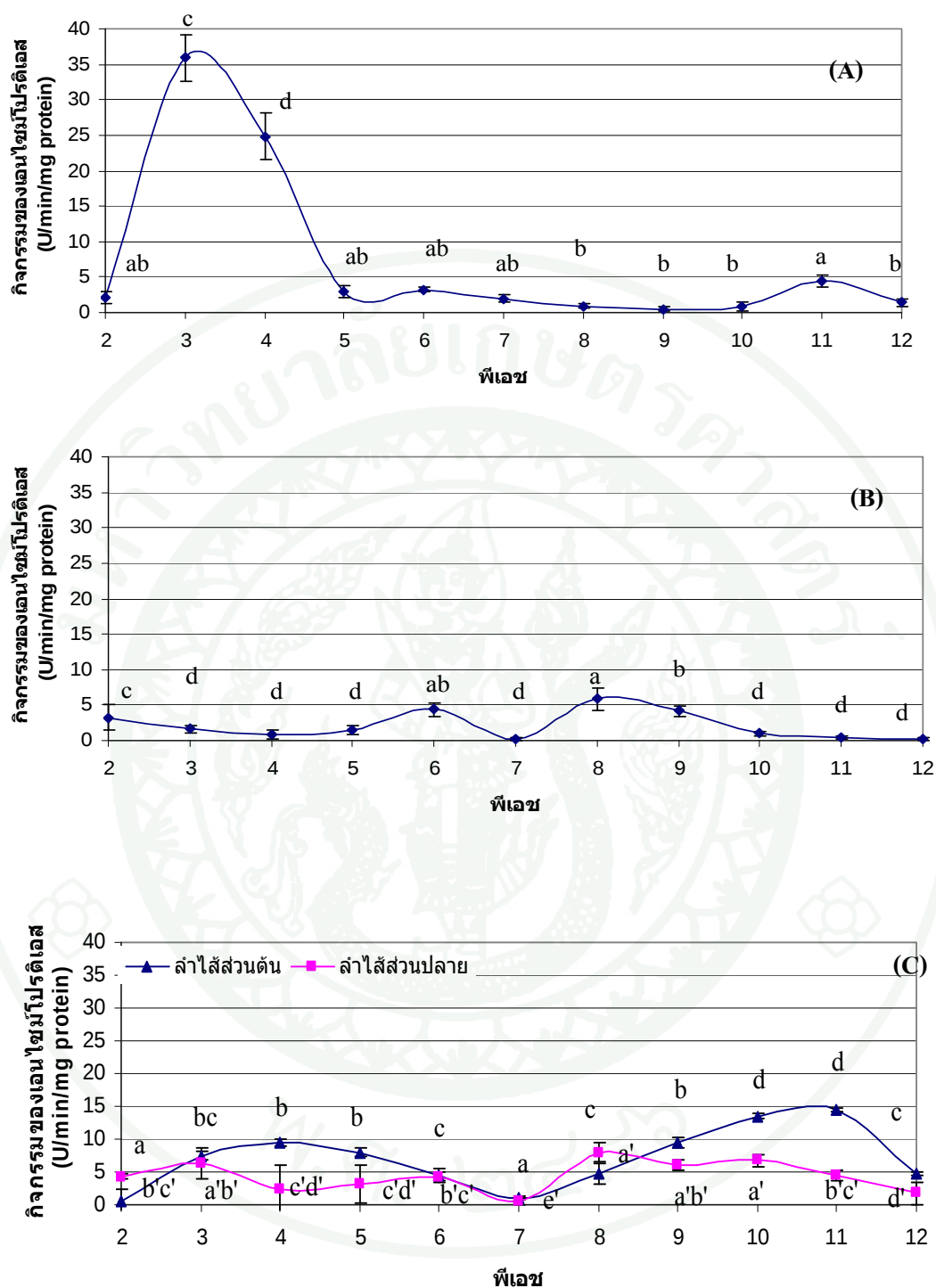
จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้นของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 12 แต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับพีเอช 11 ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 10(C) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้นของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัม พบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุด คือพีเอช 11 ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 11(C)

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนปลายของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ในทุกพีเอชมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 10 (C) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนปลายของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุด คือพีเอช 8 แต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับพีเอช 9 และ 10 ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 11(C)

จากการศึกษากิจกรรมของ protease ที่สกัดจากตับปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 12 ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 10 (B) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากตับปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุด คือพีเอช 8 แต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับพีเอช 6 ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 11 (B)



ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาช่อนวัยรุ่นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 11 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ปลาย ของปลาทรายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

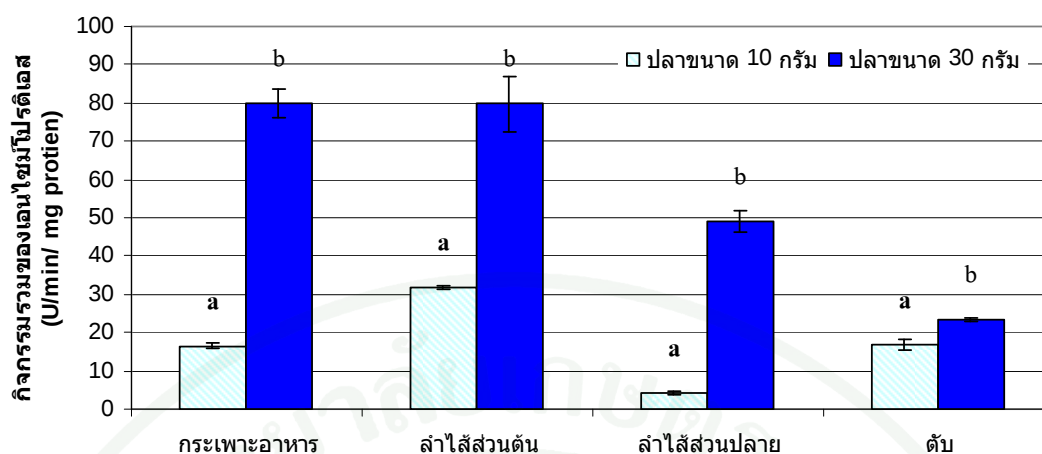
จากการศึกษาผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ได้จากการนำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่วัดได้จากพีเอช 2-12 มารวมกัน พบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากอวัยวะต่าง ๆ ของปลาสวายวัยรุ่น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยปลาสวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัมพบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้นมีค่ากิจกรรมสูงสุด รองลงมาเป็นตับซึ่งมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับกระเพาะอาหาร ($P > 0.05$) และลำไส้ส่วนปลายมีค่าน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2 สำหรับปลาสวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมพบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้นมีค่ากิจกรรมสูงสุดซึ่งมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับกระเพาะอาหาร ($P > 0.05$) รองลงมาเป็นลำไส้ส่วนปลาย และตับตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสวายวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

อวัยวะ	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease	
	ปลาสวายขนาด 10 กรัม	ปลาสวายขนาด 30 กรัม
กระเพาะอาหาร	16.516 ± 0.669^b	79.176 ± 3.774^a
ลำไส้ต้น	31.707 ± 0.408^a	79.763 ± 7.142^a
ลำไส้ส่วนปลาย	4.301 ± 0.386^c	48.904 ± 2.778^b
ตับ	16.763 ± 1.487^b	23.422 ± 0.594^c
<i>P</i> -value	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

เมื่อเปรียบเทียบผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนปลาย ลำไส้ส่วนต้น และตับของปลาสวายขนาด 10 กรัมกับปลาสวายขนาด 30 กรัมพบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากทุกอวัยวะของปลาสวายขนาด 30 กรัมมีค่าสูงกว่าปลาสวายขนาด 10 กรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 12



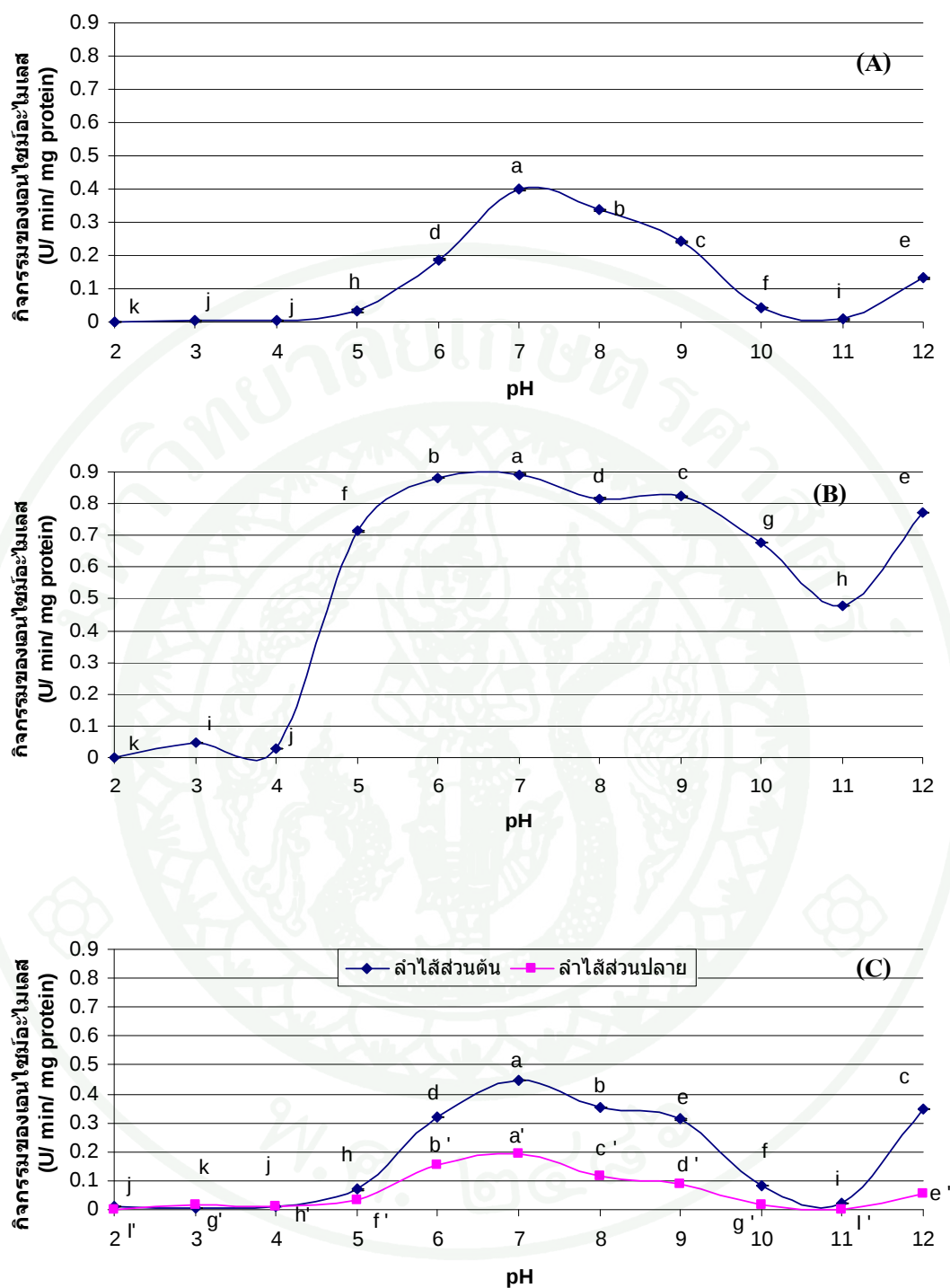
ภาพที่ 12 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และดับ ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

1.2.2 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

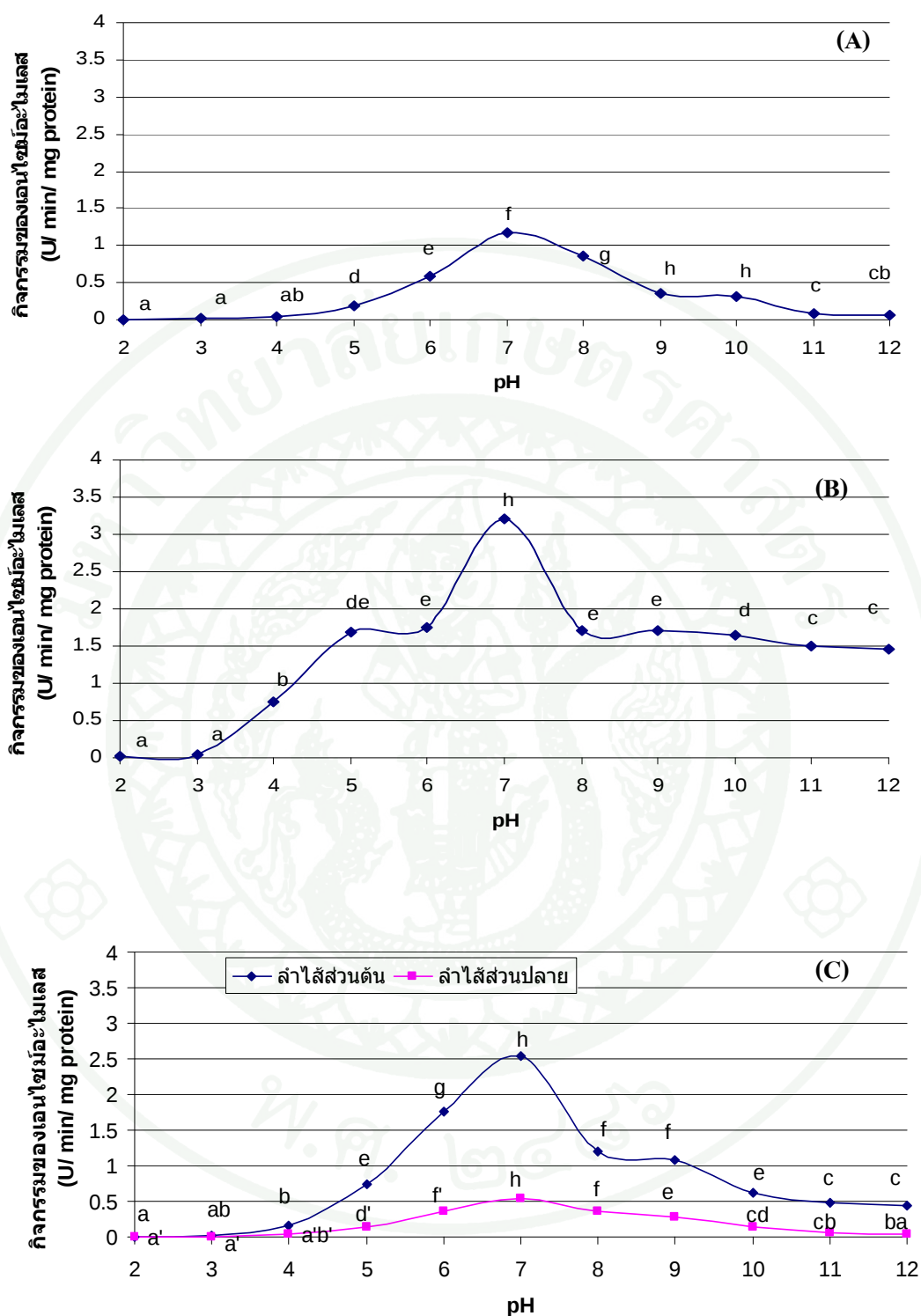
ผลจากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase พบว่า ระดับของพีเอชมีผลต่อ กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และดับ ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตาราง แผนภูมิที่ 3 และตารางแผนภูมิที่ 4 ตามลำดับ

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วน ต้น ลำไส้ส่วนปลาย และดับ ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มี กิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 7 ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 13 และภาพที่ 14 ตามลำดับ

จากการศึกษาผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ได้จากการนำค่ากิจกรรม ของเอนไซม์ที่วัดได้จากพีเอช 2-12 มารวมกัน พบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ สกัดจากอวัยวะต่าง ๆ ของปลาสร้อยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($P < 0.05$) โดย ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากตับมีค่ากิจกรรมสูงสุด รองลงมาเป็น ลำไส้ส่วนต้น กระเพาะอาหาร และ ลำไส้ส่วนปลาย ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3



ภาพที่ 13 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ปลาย ของปลาทรายวุ้นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วย ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



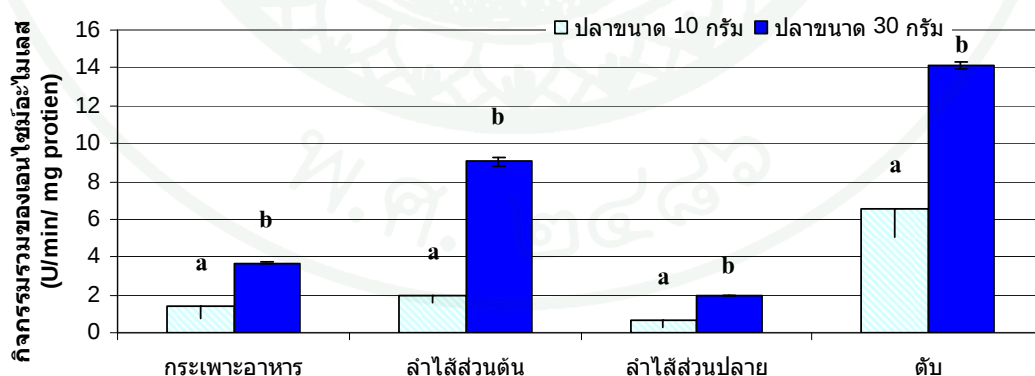
ภาพที่ 14 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ปลาย ของปลาสวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วย ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนปลาย ลำไส้ส่วนต้น และตับของปลาสาวยขนาด 10 และ 30 กรัม พบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากทุกอวัยวะของปลาสาวยขนาด 30 กรัมมีค่าสูงกว่าปลาสาวยขนาด 10 กรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 15

ตารางที่ 3 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

อวัยวะ	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase	
	ปลาสาวยขนาด 10 กรัม	ปลาสาวยขนาด 30 กรัม
กระเพาะอาหาร	1.386 ± 0.003^c	3.680 ± 0.027^c
ลำไส้ต้น	1.984 ± 0.001^b	9.0613 ± 0.245^b
ลำไส้ส่วนปลาย	0.682 ± 0.002^d	1.973 ± 0.031^d
ตับ	6.558 ± 0.003^a	14.126 ± 0.214^a
P-value	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 15 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ ตับของปลาสาวยวัยขนาด 10 และ 30 กรัม

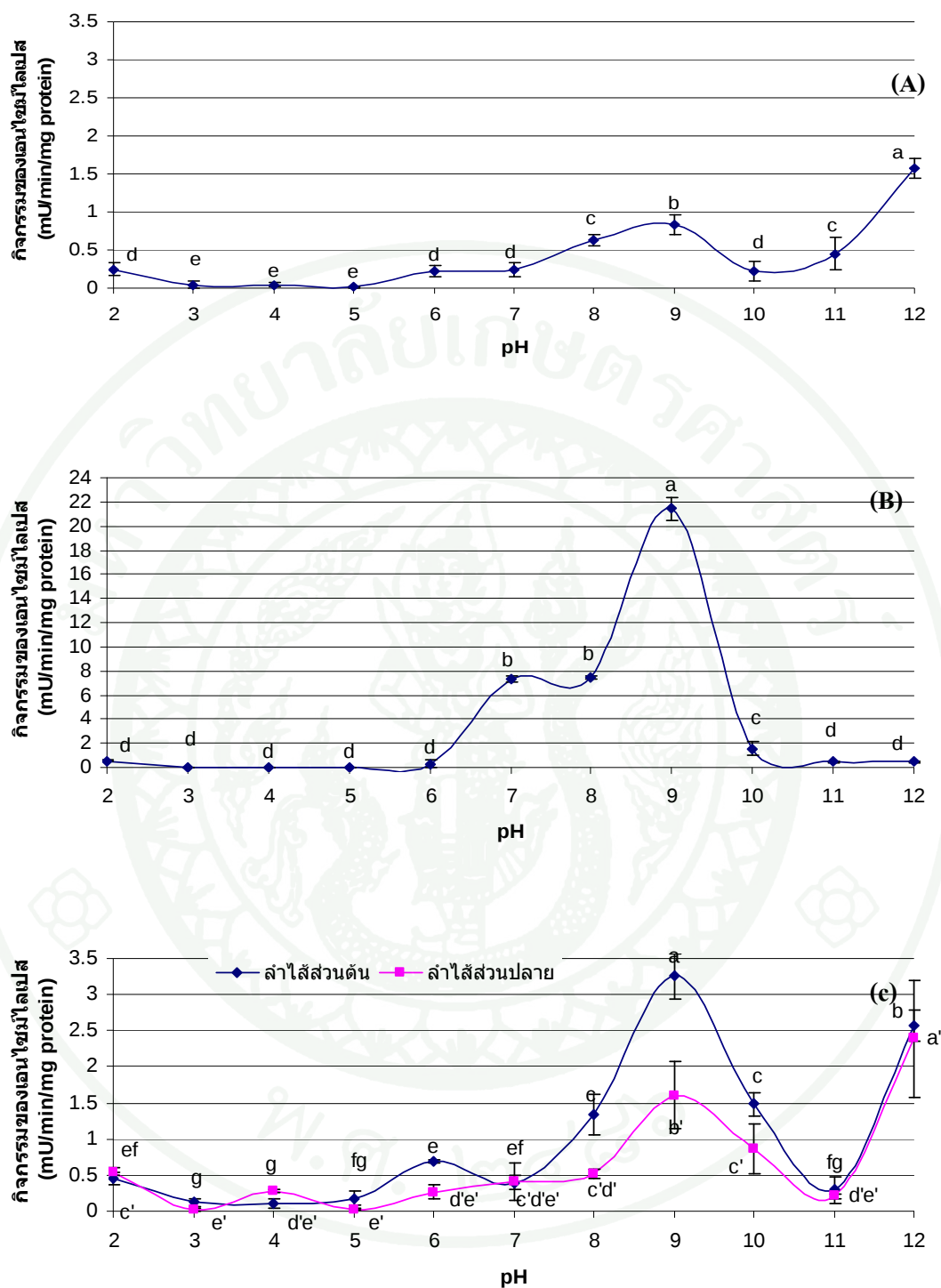
1.2.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

ผลจากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase พบว่า ระดับของพีเอชมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลา สวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัมและ 30 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางผนวกที่ 5 และตารางผนวกที่ 6 ตามลำดับ

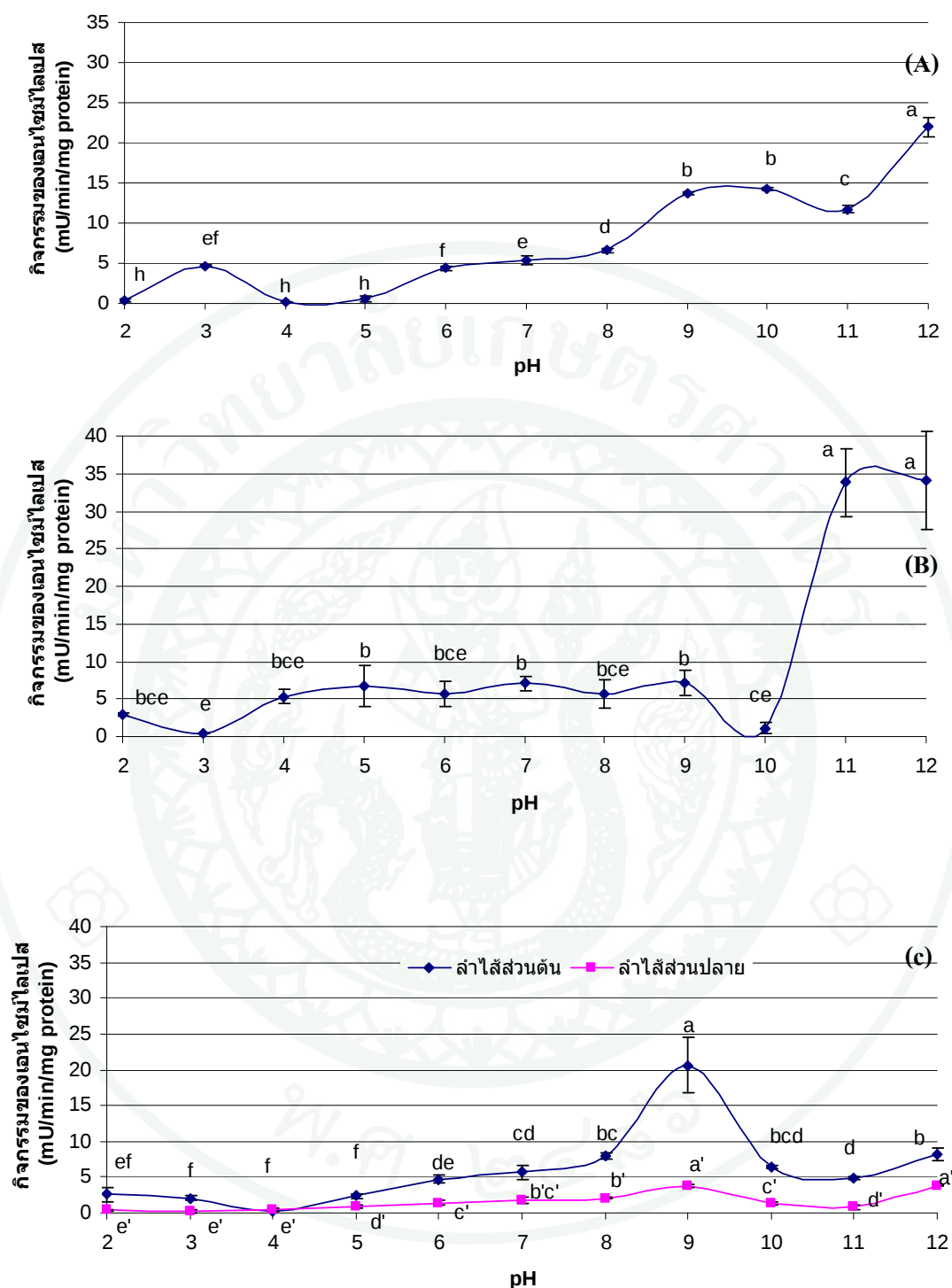
จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร และลำไส้ส่วนต้น ของปลา สวายวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม พบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 12 และ 9 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 16 (A) และ (C) และ ภาพที่ 17 (A) และ (C) ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับ และลำไส้ส่วนปลายของปลา สวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 9 และ พีเอช 12 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 16 (B) และ (C) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับของปลา สวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมพบว่า พีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือพีเอช 12 แต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับพีเอช 11 ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 17 (B) และกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากลำไส้ส่วนปลายพบพีเอชที่เอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุดคือ พีเอช 12 แต่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับพีเอช 9 ($P > 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 17 (C)

จากการศึกษาผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ได้จากการนำค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่วัดได้จากพีเอช 2-12 มารวมกัน พบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆของปลา สวายวัยรุ่นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยปลา สวายวัยรุ่นขนาด 10 กรัม มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับมีค่ากิจกรรมสูงสุด รองลงมาเป็นลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ กระเพาะอาหาร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 ส่วนปลา สวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัม มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับมีค่ากิจกรรมสูงสุด รองลงมาเป็น กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น และ ลำไส้ส่วนปลาย ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อเปรียบเทียบผลรวมกิจกรรมรวมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนปลาย ลำไส้ส่วนต้น และตับของปลา สวายขนาด 10 กรัมกับปลา สวายขนาด 30 กรัม พบว่า ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากทุกอวัยวะของปลา สวายขนาด 30 กรัมมีค่าของกิจกรรมสูงกว่าปลา สวายขนาด 10 กรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 18



ภาพที่ 16 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ปลาย ของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วย ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

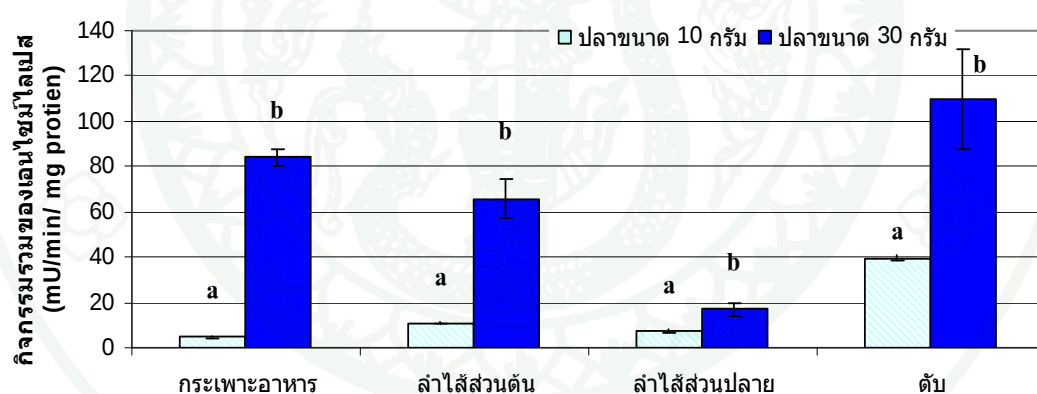


ภาพที่ 17 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก (A) กระเพาะอาหาร (B) ตับ และ (C) ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ปลาย ของปลาสร้อยวุ้นขนาด 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12 ค่าเฉลี่ยกำกับด้วย ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ($\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

อวัยวะ	ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase	
	ปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัม	ปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัม
กระเพาะอาหาร	4.526 ± 0.669^c	83.976 ± 3.995^b
ลำไส้ต้น	10.886 ± 0.458^b	65.840 ± 8.910^c
ลำไส้ส่วนปลาย	7.151 ± 0.719^d	16.805 ± 2.508^d
ตับ	39.659 ± 1.029^a	109.999 ± 22.016^a
P-value	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 18 ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม

การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสวายขนาด 10 และ 30 กรัม และที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

2.1 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาขนาด 10 และ 30 กรัม

เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาขนาด 10 และ 30 กรัมมีกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 7.938 ± 0.922 และ 12.753 ± 0.922 U min⁻¹ mg protein⁻¹ ตามลำดับ และเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาทั้งสองขนาดมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบทั้ง 5 ชนิดแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาขนาด 10 และ 30 กรัมในปลาป่นมีค่าสูงสุด (34.00 ± 0.86 และ 40.63 ± 0.78 %) รองลงมาได้แก่ กากเมล็ดทานตะวัน (31.63 ± 0.86 และ 32.75 ± 0.50 %) กากคาโนล่า (24.38 ± 0.93 และ 23.79 ± 0.65 %) กากถั่วเหลือง (22.56 ± 0.56 และ 22.17 ± 0.41 %) และ DDGS (15.53 ± 0.58 และ 14.91 ± 0.45 %) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาขนาดทั้ง 2 ขนาด พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่นของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาขนาด 30 กรัมสูงกว่าปลาขนาด 10 กรัม ($P < 0.05$) ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาขนาด 10 และ 30 กรัมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

2.2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 3.2 ± 0.460 U/ml

เอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่แต่ละระดับความเข้มข้นสามารถย่อยวัตถุดิบแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6 ทั้งนี้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีค่าผันแปรตามความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มากขึ้น โดย

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของกากถั่วเหลืองมีค่าอยู่ในช่วง $50.46 \pm 0.96 - 58.42 \pm 0.99$ % กากเมล็ดทานตะวันมีค่าอยู่ในช่วง $59.59 \pm 0.74 - 70.59 \pm 0.19$ % กากคาโนลามีค่าอยู่ในช่วง $49.66 \pm 0.73 - 59.49 \pm 0.97$ % และ DDGS มีค่าอยู่ในช่วง $27.93 \pm 0.91 - 34.44 \pm 0.71$ %

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแต่ละชนิดของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีความเข้มข้นเอนไซม์ต่าง ๆ กัน พบว่า ในทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากเมล็ดทานตะวันมีค่าสูงที่สุด และ DDGS มีค่าต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากคาโนลามีค่าสูงกว่ากากถั่วเหลืองที่เอนไซม์มีความเข้มข้น 0.10, 0.20 และ 0.30 U ต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบ 1 กรัม ($P < 0.05$) ส่วนที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.05 และ 0.40 U ต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบ 1 กรัม ประสิทธิภาพการย่อยของโปรตีนในกากคาโนล่า และในกากถั่วเหลืองมีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาขนาด 10 และ 30 กรัม

วัตถุดิบ	ปริมาณโปรตีน (% น้ำหนักแห้ง)	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของ เอนไซม์ protease ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร (%)		P-value
		ปลาขนาด 10 กรัม	ปลาขนาด 30 กรัม	
ปลาป่น	59.52	34.00 ± 0.86 ^{a η}	40.63 ± 0.78 ^{a ψ}	0.000
กากถั่วเหลือง	48.11	22.56 ± 0.56 ^{d η}	22.17 ± 0.41 ^{d η}	0.152
กากเมล็ดทานตะวัน	30.00	31.63 ± 0.86 ^{b η}	32.75 ± 0.50 ^{b η}	0.217
กากคาโนล่า	40.30	24.38 ± 0.93 ^{c η}	23.79 ± 0.65 ^{c η}	0.116
DDGS	27.48	15.53 ± 0.58 ^{e η}	14.91 ± 0.45 ^{e η}	0.107
P-value	0.000	0.000	0.000	

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวนั่ง และ ตัวอักษรภาษาไทยที่ต่างกันในแนวนอนหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ปริมาณเอนไซม์ 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 และ 0.40 unit ต่อปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบ 1 กรัม

ปริมาณ เอนไซม์ (U)	วัตถุดิบ				P-value
	กากถั่วเหลือง	กากเมล็ด ทานตะวัน	กากกลาโนล่า	DDGS	
0.05	50.46 ± 0.96 ^{c ๗}	59.59 ± 0.74 ^{d ๗}	49.66 ± 0.73 ^{c ๗}	27.93 ± 0.91 ^{d ๗}	0.000
0.1	50.81 ± 0.35 ^{d ๗}	63.65 ± 0.45 ^{c ๗}	52.96 ± 0.45 ^{d ๗}	30.10 ± 0.78 ^{c ๗}	0.000
0.2	52.20 ± 0.12 ^{c ๗}	67.88 ± 0.42 ^{b ๗}	55.60 ± 0.56 ^{c ๗}	32.59 ± 0.81 ^{b ๗}	0.000
0.3	54.74 ± 0.86 ^{b ๗}	68.43 ± 0.15 ^{b ๗}	57.14 ± 0.45 ^{b ๗}	33.33 ± 0.86 ^{ab ๗}	0.000
0.4	58.42 ± 0.99 ^{a ๗}	70.59 ± 0.19 ^{a ๗}	59.49 ± 0.97 ^{a ๗}	34.44 ± 0.71 ^{a ๗}	0.000
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000	

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละแถว และตัวอักษรภาษาไทยที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การทดลองที่ 3 การเสริมเอนไซม์สังเคราะห์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสายวัยรุ่น

3.1 การศึกษาการเจริญเติบโต และ อัตรารอด

การเจริญเติบโต และ อัตรารอดของปลาสายวัยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 0, 50, 75 และ 100 % โดยเสริม หรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 7 และ 8

ในระหว่างการทดลองไม่พบว่ามีปลาตาย ดังนั้นอัตรารอดของทุกกลุ่มทดลองเป็น 100 % ดังแสดงในตารางที่ 7

ผลการทดสอบอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลัก ได้แก่ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง และ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (S x E) พบว่า ปัจจัยทั้งสองไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อ น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และการ

เจริญเติบโตจำเพาะ โดย P-value มีค่า 0.635, 0.632, 0.646 และ 0.512 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 ดังนั้นจึงสามารถทดสอบอิทธิพลหลัก (ค่าเฉลี่ย) ของปัจจัยหลักได้

ตารางที่ 7 น้ำหนักเริ่มต้นและอัตราการรอดของปลาซวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	อัตราการรอด (%)
S0 + E0	22.59 ± 0.14	100 ± 0.00
S50 + E0	22.55 ± 0.18	100 ± 0.00
S75 + E0	22.52 ± 0.18	100 ± 0.00
S100 + E0	22.53 ± 0.12	100 ± 0.00
S0 + E0.05	22.54 ± 0.11	100 ± 0.00
S50 + E0.05	22.57 ± 0.22	100 ± 0.00
S75 + E0.05	22.57 ± 0.19	100 ± 0.00
S100 + E0.05	22.54 ± 0.17	100 ± 0.00

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (E0 และ E0.05) พบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาโดย P-value มีค่า 0.704, 0.704, 0.704 และ 0.468 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (S0, S50, S75 และ S100) พบว่า มีผลทำให้ ค่าการเจริญเติบโตได้น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และการเจริญเติบโตจำเพาะของปลามีความแตกต่างทางสถิติ (P-value = 0.000) โดยจะมีค่าการเจริญเติบโตลดลงเมื่อปริมาณโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสูงขึ้น เมื่อนำผลการทดลองไปหาความแตกต่างแบบพหุคูณ (multiple comparisons) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง กลุ่มควบคุม(กลุ่มที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 %) กับ กลุ่มที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ พบว่า ค่าการเจริญเติบโตของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 % ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม

($P > 0.05$) ส่วนปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75 และ 100 % มีค่าการเจริญเติบโตต่ำกว่า และแตกต่างกับปลากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตของปลาทรายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง , 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักเพิ่ม (กรัม)	น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (กรัม/วัน)	อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ (%/วัน)
S0 + E0	99.67 ± 10.65	77.08 ± 10.54	0.91 ± 0.12	1.76 ± 0.11
S50 + E0	78.97 ± 2.44	56.41 ± 2.51	0.67 ± 0.02	1.49 ± 0.04
S75 + E0	66.36 ± 5.94	43.84 ± 5.91	0.52 ± 0.07	1.28 ± 0.10
S100 + E0	50.09 ± 3.69	27.56 ± 3.79	0.32 ± 0.04	0.94 ± 0.09
S0 + E0.05	92.85 ± 23.62	70.31 ± 23.51	0.83 ± 0.27	1.65 ± 0.32
S50 + E0.05	77.27 ± 1.22	77.27 ± 1.22	0.65 ± 0.01	1.46 ± 0.02
S75 + E0.05	66.35 ± 15.72	54.70 ± 1.20	0.52 ± 0.18	1.23 ± 0.24
S100 + E0.05	43.64 ± 2.19	21.09 ± 2.29	0.25 ± 0.02	0.78 ± 0.06
S0	96.26 ± 16.80 ^a	73.70 ± 10.54 ^a	0.87 ± 0.03 ^a	1.70 ± 0.11 ^a
S50	78.12 ± 1.96 ^{ab}	55.55 ± 2.51 ^{ab}	0.66 ± 0.12 ^{ab}	1.47 ± 0.04 ^{ab}
S75	70.36 ± 11.50 ^b	47.84 ± 5.91 ^b	0.56 ± 0.07 ^b	1.34 ± 0.10 ^b
S100	46.87 ± 4.45 ^c	24.32 ± 0.01 ^c	0.28 ± 0.04 ^c	0.86 ± 0.09 ^c
E0	73.77 ± 19.71	51.22 ± 19.68	0.60 ± 0.23	1.37 ± 0.32
E0.05	67.64 ± 22.23	45.10 ± 22.20	0.53 ± 0.26	1.25 ± 0.38
Two-way ANOVA (<i>P</i> -value)				
E	0.704	0.704	0.704	0.468
S	0.000	0.000	0.000	0.000
S x E	0.635	0.632	0.646	0.512

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันของสูตรอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่างๆ (S0, S50, S75 และ S100) แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.2 ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร

ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารได้แก่ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหารของปลาซวายที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % โดยเสริม หรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 9

ผลการทดสอบอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง และ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (S x E) พบว่า ปัจจัยทั้งสองไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหาร โดย *P*-value มีค่า 0.112, 0.553 และ 0.710 (ตารางที่ 9) ดังนั้นจึงสามารถทดสอบอิทธิพลหลัก (ค่าเฉลี่ย) ของปัจจัยหลักได้

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (E0 และ E0.05) พบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ไม่มีอิทธิพลต่อ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหาร โดย *P*-value มีค่า 0.748, 0.131 และ 0.676 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (S0, S50, S75 และ S100) พบว่า มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหารของปลา มีค่าแตกต่างทางสถิติ โดย *P*-value มีค่า 0.000 ดังแสดงในตารางที่ 9 เมื่อนำผลการทดลองไปหาความแตกต่างแบบพหุคูณ (multiple comparisons) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง กลุ่มควบคุม กับ กลุ่มที่ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ พบว่า ค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหารของปลา กลุ่มที่ได้รับอาหารที่ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 % ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75 และ 100 % มีค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่า และแตกต่างกับปลา กลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) สำหรับประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร และ ประสิทธิภาพของอาหารจะมีค่าต่ำกว่า และแตกต่างกับปลาในกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาทรายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง	ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)	ประสิทธิภาพของอาหาร
S0 + E0	1.88 ± 0.12	1.74 ± 0.12	0.57 ± 0.04
S50 + E0	1.54 ± 0.10	2.01 ± 0.107	0.49 ± 0.02
S75 + E0	1.32 ± 0.16	2.51 ± 0.16	0.39 ± 0.02
S100 + E0	0.92 ± 0.28	3.61 ± 0.28	0.27 ± 0.02
S0 + E0.05	1.80 ± 0.57	1.90 ± 0.57	0.55 ± 0.14
S50 + E0.05	1.59 ± 0.03	2.09 ± 0.03	0.47 ± 0.01
S75 + E0.05	1.21 ± 0.46	2.90 ± 0.46	0.38 ± 0.08
S100 + E0.05	0.69 ± 0.37	4.38 ± 0.37	0.22 ± 0.02
S0	1.84 ± 0.14 ^a	1.82 ± 0.12 ^a	0.56 ± 0.04 ^a
S50	1.56 ± 0.16 ^{ab}	2.05 ± 0.10 ^{ab}	0.48 ± 0.02 ^{ab}
S75	1.38 ± 0.09 ^b	2.42 ± 0.16 ^b	0.41 ± 0.02 ^b
S100	0.81 ± 0.15 ^c	3.99 ± 0.28 ^c	0.25 ± 0.02 ^c
E0	1.41 ± 0.38	2.47 ± 0.76	0.43 ± 0.11
E0.05	1.29 ± 0.50	1.09 ± 1.09	0.39 ± 0.14
Two-way ANOVA (P-value)			
E	0.748	0.131	0.676
S	0.000	0.000	0.000
S x E	0.553	0.112	0.710

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันของสูตรอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ (S0, S50, S75 และ S100) แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง (skin fillet) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และค่า hepatosomatic index (HSI)

เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และ ค่า hepatosomatic index ของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % โดยเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 10

ผลการทดสอบอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลัก ได้แก่ระดับของการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (S x E) พบว่า ปัจจัยทั้งสองไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อ เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และ ค่า hepatosomatic index โดย P-value มีค่า 0.584, 0.517 0.685, 0.833 และ 0.615 ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (E0 และ E0.05) พบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ไม่มีอิทธิพลต่อ เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และ ค่า hepatosomatic index โดย P-value มีค่า 0.684, 0.071, 0.740, 0.863 และ 0.904 ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (S0, S50, S75 และ S100) พบว่า มีผลทำให้ ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง มีค่าแตกต่างทางสถิติโดย P-value มีค่า 0.003 ดังแสดงในตารางที่ 10 เมื่อนำผลการทดลองไปหาความแตกต่างแบบพหุคูณ (multiple comparisons) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง กลุ่มควบคุม กับ กลุ่มที่ใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆพบว่า ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง ของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 50 และ 75 % ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ส่วนปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 100 % มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนังต่ำกว่า และแตกต่างกับปลากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) แต่การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองไม่มีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และค่าเฉลี่ย Hepatosomatic index (HSI) ของทุกกลุ่มทดลองมีความแตกต่างทางสถิติโดย P-value มีค่า 0.379, 0.942, 0.326 และ 0.570 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง (skin fillet) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาติดหนัง และค่า hepatosomatic index (HSI) ของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ Protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง	HSI (กรัม)	Skin fillet (%)	คุณภาพทางเคมีของ skin fillet		
			โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)
S0 + E0	1.07 ± 0.24	54.22 ± 4.47	68.62 ± 7.47	26.60 ± 1.31	5.00 ± 0.28
S50 + E0	1.30 ± 0.26	52.12 ± 0.48	68.27 ± 2.25	26.31 ± 1.37	5.34 ± 0.62
S75 + E0	1.13 ± 0.04	50.56 ± 0.15	66.34 ± 2.88	28.19 ± 0.65	4.70 ± 0.12
S100 + E0	1.28 ± 0.13	49.43 ± 0.65	65.67 ± 1.13	28.64 ± 2.36	4.79 ± 0.60
S0 + E0.05	1.14 ± 0.17	51.62 ± 0.49	66.82 ± 1.71	26.20 ± 1.21	5.10 ± 0.58
S50 + E0.05	1.13 ± 0.13	50.89 ± 0.49	65.67 ± 1.13	27.43 ± 2.70	4.87 ± 0.54
S75 + E0.05	1.20 ± 0.001	50.14 ± 1.12	67.10 ± 3.63	27.61 ± 3.08	4.83 ± 0.48
S100 + E0.05	1.24 ± 0.06	47.57 ± 0.87	67.55 ± 0.33	27.98 ± 1.4	4.94 ± 0.20
S0	1.10 ± 0.24	52.92 ± 4.47 ^a	67.72 ± 7.47	26.40 ± 1.31	5.05 ± 0.28
S50	1.21 ± 0.26	51.50 ± 0.48 ^a	66.97 ± 2.25	26.87 ± 1.37	5.11 ± 0.02
S75	1.15 ± 0.04	50.71 ± 0.15 ^{ab}	66.62 ± 2.88	27.88 ± 0.65	4.77 ± 0.12
S100	1.26 ± 0.13	48.50 ± 0.65 ^b	66.61 ± 1.13	28.31 ± 2.36	4.86 ± 0.60
E0	1.20 ± 0.19	51.58 ± 2.70	67.23 ± 3.81	27.43 ± 1.68	4.96 ± 0.47
E0.05	1.19 ± 0.10	50.07 ± 1.77	66.52 ± 2.49	27.56 ± 2.04	4.90 ± 0.42
Two-way ANOVA (P-value)					
E	0.684	0.071	0.740	0.863	0.904
S	0.379	0.003	0.942	0.326	0.570
S x E	0.584	0.517	0.685	0.833	0.615

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันของสูตรอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ (S0, S50, S75 และ S100) แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.2 กิจกรรมของเอนไซม์ protease

กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาทรายที่รับประทานอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % โดยเสริม หรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 11

ผลการทดสอบอิทธิพลร่วมของปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับของการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง และ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (S x E) พบว่า ปัจจัยทั้งสองไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ โดย P-value มีค่า 0.996, 0.982, 0.497 และ 0.880 ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถทดสอบอิทธิพลหลัก (ค่าเฉลี่ย) ของปัจจัยหลักได้

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (E0 และ E0.05) พบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ไม่มีอิทธิพลต่อค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลา มีค่าแตกต่างทางสถิติ โดย P-value มีค่า 0.821, 0.912, 0.871 และ 0.292 ตามลำดับ

ผลการทดสอบปัจจัยหลัก ได้แก่ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (S0, S50, S75 และ S100) พบว่า มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลา มีค่าแตกต่างทางสถิติโดย P-value มีค่า 0.000 ดังแสดงในตารางที่ 11 เมื่อนำผลการทดลองไปเปรียบเทียบหาความแตกต่างแบบพหุคูณ (multiple comparisons) พบว่า ค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 0 และ 50 % ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 75 และ 100 % มีค่าเฉลี่ยกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในอวัยวะดังกล่าว ต่ำกว่าและแตกต่างจากปลากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$)

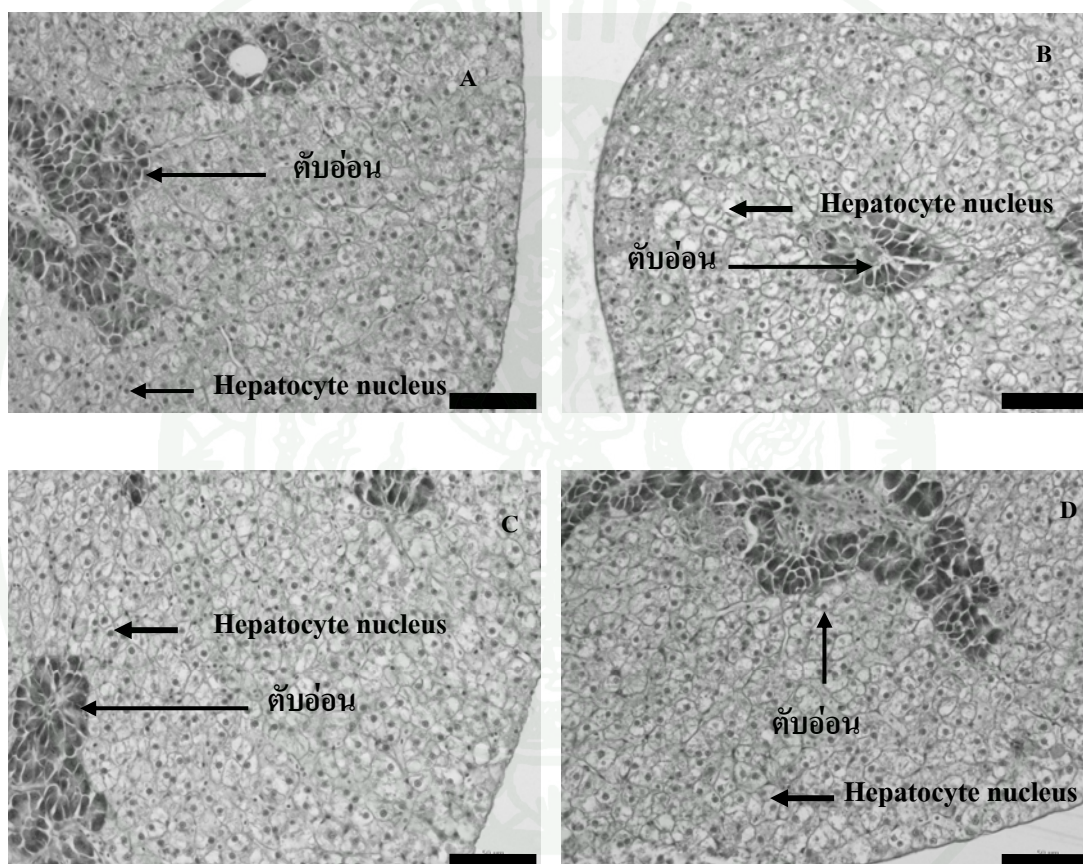
ตารางที่ 11 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ของปลาซวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0, 50, 75 และ 100 % (S0, S50, S75, S100) โดยมีปริมาณเอนไซม์ protease 0 หรือ 0.05 U/มิลลิกรัมโปรตีนจากกากถั่วเหลือง (E0 หรือ E0.05) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

กิจกรรมของเอนไซม์ protease U/มิลลิกรัมโปรตีน/นาทึ				
อาหารทดลอง	กระเพาะอาหาร (pH 3)	ลำไส้ส่วนต้น (pH 11)	ลำไส้ส่วนปลาย (pH 11)	ตับ (pH 11)
S0 + E0	43.73 ± 1.88	2.67 ± 0.33	1.92 ± 0.15	1.33 ± 0.13
S50 + E0	41.92 ± 0.48	2.35 ± 0.20	1.68 ± 0.08	1.15 ± 0.03
S75 + E0	39.48 ± 0.58	2.00 ± 0.04	1.40 ± 0.21	1.03 ± 0.18
S100 + E0	29.57 ± 1.16	1.05 ± 0.67	0.21 ± 0.01	0.34 ± 0.07
S0 + E0.05	43.26 ± 1.68	2.75 ± 0.78	1.80 ± 0.09	1.23 ± 0.12
S50 + E0.05	41.89 ± 2.36	2.44 ± 0.29	1.67 ± 0.10	1.14 ± 0.15
S75 + E0.05	37.51 ± 1.37	1.70 ± 0.03	1.18 ± 0.09	0.80 ± 0.14
S100 + E0.05	29.59 ± 2.46	1.02 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.24 ± 0.08
S0	43.50 ± 1.88 ^a	2.71 ± 0.33 ^a	1.86 ± 0.15 ^a	1.28 ± 0.28 ^a
S50	41.91 ± 3.29 ^{ab}	2.40 ± 0.20 ^{ab}	1.68 ± 0.87 ^a	1.15 ± 0.03 ^{ab}
S75	39.35 ± 0.58 ^b	1.97 ± 0.04 ^b	1.45 ± 0.21 ^b	1.02 ± 0.18 ^b
S100	29.58 ± 1.16 ^c	1.04 ± 0.67 ^c	0.21 ± 0.01 ^c	0.29 ± 0.07 ^c
E0	38.68 ± 5.96	2.02 ± 0.71	1.30 ± 0.69	0.96 ± 0.4
E0.05	36.70 ± 5.84	1.84 ± 0.77	1.08 ± 0.66	0.79 ± 0.42
Two-way ANOVA (P-value)				
E	0.821	0.912	0.871	0.292
S	0.000	0.000	0.000	0.000
S x E	0.996	0.982	0.497	0.880

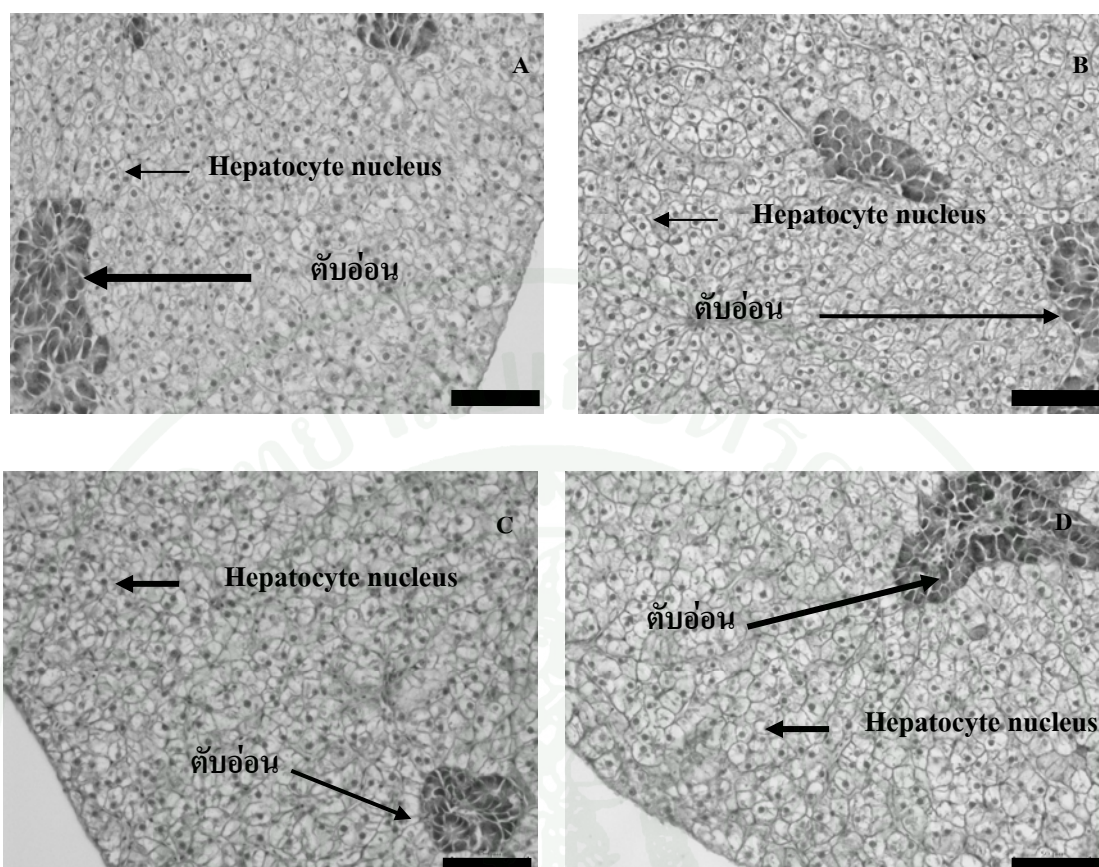
หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันของสูตรอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ (S0, S50, S75 และ S100) แสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

3.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยาของตับและลำไส้ของปลาสวาย

การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์พบว่าเนื้อเยื่อวิทยาของตับปลาสวายไม่พบลักษณะของเซลล์ที่ผิดปกติของทุกกลุ่มทดลองดังแสดงในภาพที่ 19 และ 20

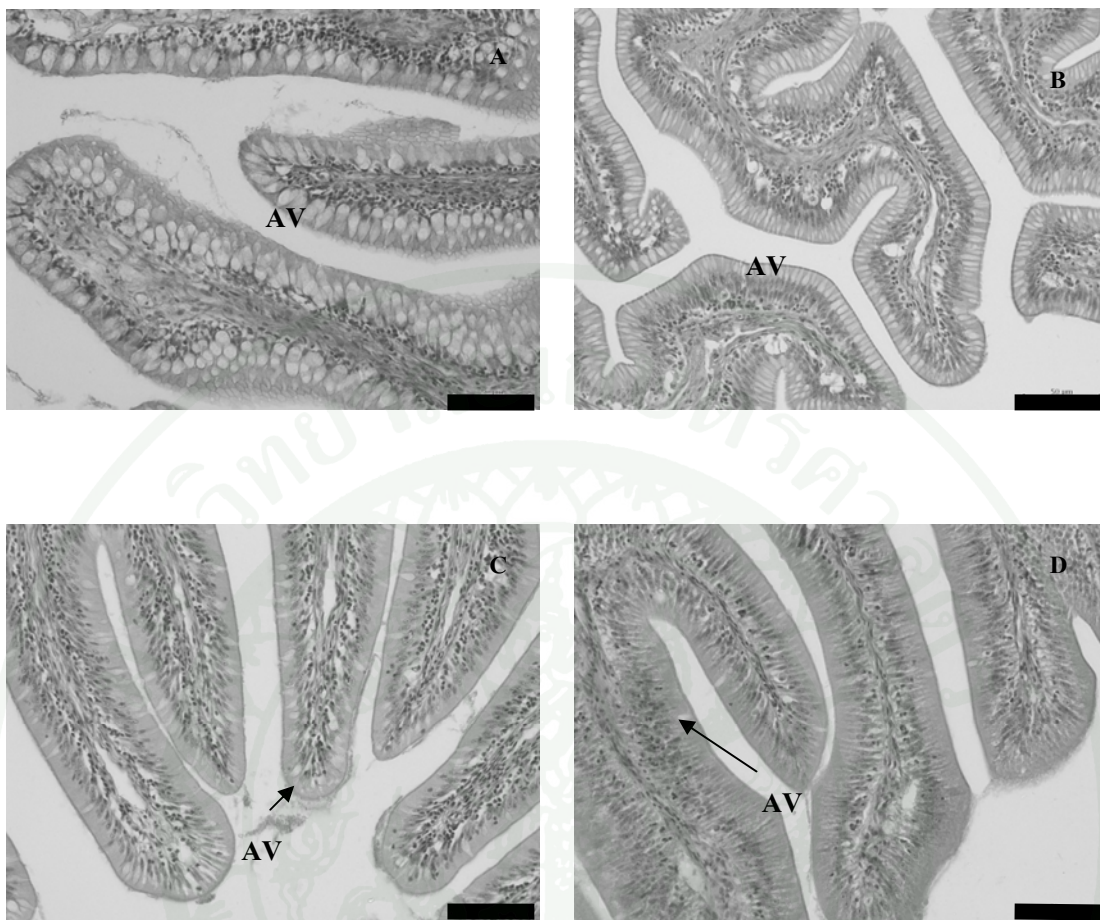


ภาพที่ 19 ลักษณะของตับปลาสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์ = 50 μm

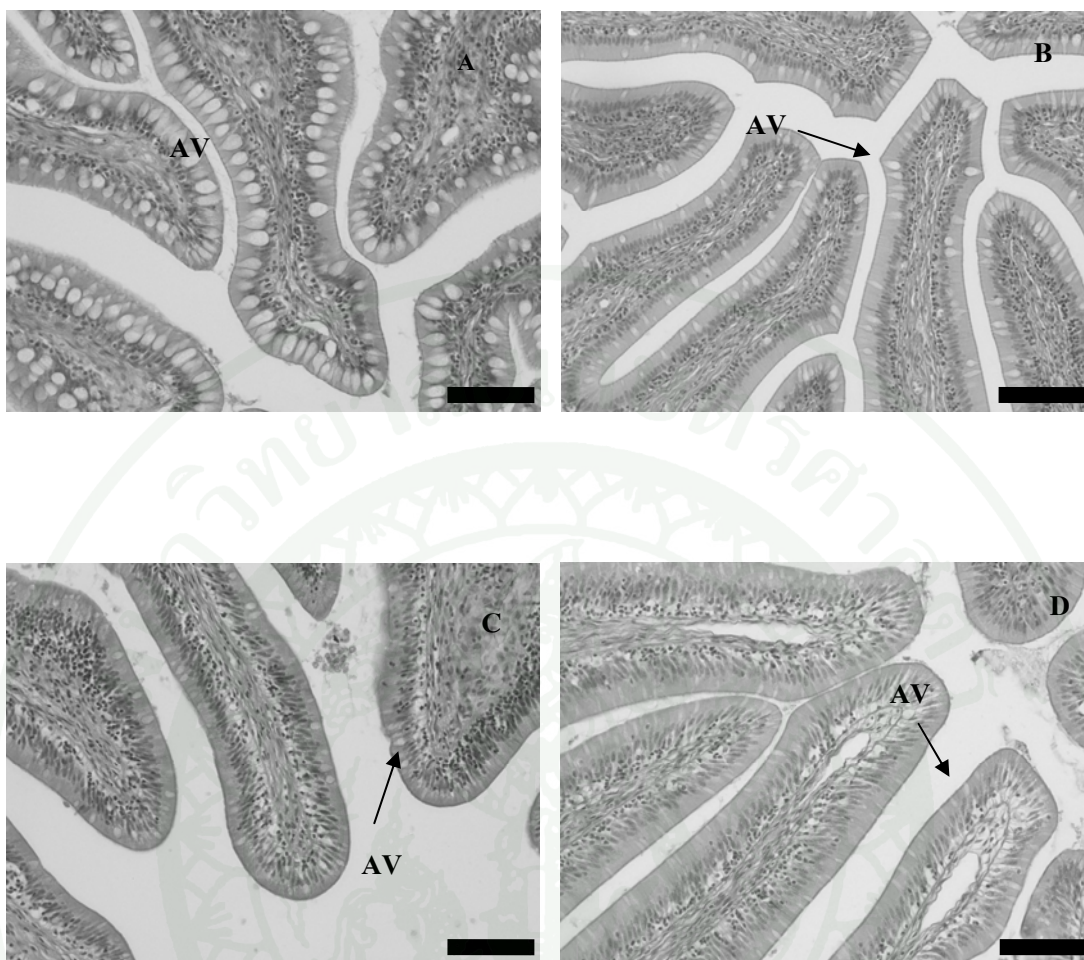


ภาพที่ 20 ลักษณะตับปลาซวยที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % และเสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย = 50 μm

สำหรับการศึกษาเนื้อเยื่อของลำไส้ปลาซวย พบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับเดียวกันโดยมีการเสริม หรือไม่เสริมเอนไซม์จากแบคทีเรียได้ทำให้ลักษณะของเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ต่างกันดังแสดงในภาพที่ 21 และ 22 ในขณะที่ปริมาณของกากถั่วเหลืองมีผลต่อลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้ไม่ว่าจะมีการเสริมเอนไซม์จากแบคทีเรียหรือไม่ โดยปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ 0 เปอร์เซ็นต์ จะมี absorption vacuole มีลักษณะเป็นช่องว่างขนาดใหญ่เป็นจำนวนมาก และมีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งเป็นลักษณะปกติของเซลล์ปกติ ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ 50 เปอร์เซ็นต์จะมี absorption vacuole จำนวนมาก และมีขนาดใกล้เคียงกัน แต่ขนาดของ vacuole จะเล็กกว่าปลาในกลุ่มแรก ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ 75 เปอร์เซ็นต์ พบ absorption vacuole น้อยกว่า 2 กลุ่มแรก และมีขนาดแตกต่างกัน และ ปลาในกลุ่มที่ได้รับกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 100 % จะพบ absorption vacuole น้อยที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 21 และ 22



ภาพที่ 21 ลักษณะของลำไส้ปลาทรายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % โดยไม่มีการเสริมเอนไซม์ โดยที่ (A) และ (B) มี AV (Absorption vacuoles) จำนวนมาก (C) มี Absorption vacuoles จำนวนน้อยลง (D) มี Absorption vacuoles จำนวนน้อยมาก = 50 μm



ภาพที่ 22 ลักษณะของลำไส้ปลายสวายที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง (A) 0 % (B) 50 % (C) 75 % และ (D) 100 % และเสริมเอนไซม์ protease จากโคชที่ (A) และ (B) มี AV (Absorption vacuoles) จำนวนมาก (C) มี Absorption vacuoles จำนวนน้อยลง (D) มี Absorption vacuoles จำนวนน้อยมาก = 50 μ m

วิจารณ์

การทดลองที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสาวย

1.1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสาวยวัยอ่อน

การเจริญเติบโตของลูกปลาสาวยจะเพิ่มขึ้นตามอายุของลูกปลา โดยในช่วงแรกการเจริญโตจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น แต่ช่วงหลังตั้งแต่ลูกปลามีอายุ 7 วันมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การเจริญเติบโต และการพัฒนาของลูกปลาสาวยในการทดลองนี้เป็นไปตามปกติ และสอดคล้องกับที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ (สมปอง, 2523; อภิชาติ, 2540 ; Islam, 2005; Baras *et al.*, 2010)

ในการศึกษานี้พบกิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ในลูกปลาสาวย ตั้งแต่ก่อนที่จะมีการให้อาหาร ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่พบในช่วงนี้จึงเกิดจากพัฒนาการตามปกติของลูกปลาไม่ได้เกิดจากการถูกกระตุ้นด้วยอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับที่ Chen *et al.* (2006) และ Lazo *et al.* (2007) ได้สรุปไว้ว่าในระยะแรกของการพัฒนาในลูกปลาวัยอ่อน กิจกรรมของเอนไซม์จะเกิดจากกลไกภายในของลูกปลามากกว่าการกระตุ้นจากอาหารที่ลูกปลาได้รับ

รูปแบบของกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสามชนิดมีลักษณะเหมือนกันคือ แบ่งออกเป็น 2 ระยะและมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร ในระยะแรกตั้งแต่ลูกปลาอายุ 0-13 วัน กิจกรรมของเอนไซม์ในระยะนี้มีค่าขึ้นลงไม่มีรูปแบบที่แน่นอน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบการย่อยอาหารอยู่ในช่วงของการพัฒนา ระยะที่สองตั้งแต่ลูกปลาอายุ 13-21 วัน กิจกรรมของเอนไซม์ในระยะนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุลูกปลา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระบบการย่อยอาหารของลูกปลามีการพัฒนามากขึ้นตามอายุของลูกปลาและทำหน้าที่ในการย่อยอาหาร ซึ่ง Chen *et al.* (2006) ได้ให้ข้อคิดเห็นว่ารูปแบบการพัฒนาของเอนไซม์ในลูกปลา yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) ที่มีค่าผันแปรในระยะแรกของการพัฒนาไปเป็นมีรูปแบบที่แน่นอนในระยะหลังของการพัฒนาอาจจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคและสรีรวิทยาของลูกปลาวัยอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับที่ Oozeki and Bailey (1995) รายงานว่าในช่วงหลังของการพัฒนาในลูกปลา walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของทางเดินอาหารให้มีการขดม้วน (loop formulation) อาหารจึงอยู่ในทางเดินอาหารนานขึ้น ทำให้อาหารคลุกเคล้ากับเอนไซม์ในท่อทางเดินอาหารมากขึ้น ดังนั้นในการศึกษาการพัฒนาของเอนไซม์ในลูกปลาวัยอ่อนจึงควรทำการศึกษาร่วมกันทั้งในด้านวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ การศึกษา

เนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหาร และ การย้อมสีพิเศษแบบ histochemistry เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนข้อคิดเห็นดังกล่าว

1.1.1 กิจกรรมของเอนไซม์ protease

ลูกปลาสวายวัยอ่อนจะพบกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease ตั้งแต่แรกฟัก เช่นเดียวกับ ปลา white seabream (*Diplodus sargus*) (Guerreiro *et al.*, 2010) ซึ่ง Guerreiro *et al.* (2010) และ López-Ramírez *et al.* (2011) ได้รายงานไว้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ acid protease ที่พบในระยะแรกของการพัฒนาของลูกปลาคือ กิจกรรมของเอนไซม์ cathepsins ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการย่อยอาหารสำรอง (yolk degradation) และเป็นเอนไซม์ที่ทำงานในสภาวะที่เป็นกรด (Guerreiro *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่ายังมีปลาบางชนิดที่พบเอนไซม์ protease ในระยะแรกของการพัฒนา ได้แก่ ปลา Senegal sole (*Solea senegalensis*) (Martínez *et al.*, 1999) ในขณะที่ปลาทะเลส่วนใหญ่จะไม่พบกิจกรรมของ acid protease ในระยะแรกของการพัฒนา แต่จะพบในระยะท้ายของการพัฒนาโดยเอนไซม์จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุของลูกปลาดังเช่นที่พบในปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) และปลา spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) (Lazo *et al.*, 2007; Alvarez-González *et al.*, 2008)

ลูกปลาสวายวัยอ่อนจะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ในช่วงต้นๆ ของการพัฒนา แต่จะพบกิจกรรมของเอนไซม์ช่วงหลังของการพัฒนาของลูกปลา เช่นเดียวกับ ปลาน้ำจืดบางชนิดเช่น Cuban gar (*Atractosteus tristoechus*) (Comabella *et al.*, 2006) และ Mayan cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) (López-Ramírez *et al.*, 2011) ในขณะที่ปลาทะเลส่วนใหญ่จะพบกิจกรรมของ alkaline protease สูงในระยะแรกของการพัฒนา หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงเมื่อลูกปลา มีอายุมากขึ้น เช่นที่พบใน ปลา Senegal sole (Martínez *et al.*, 1999) ปลา white seabream (Cara *et al.*, 2003) และ ปลา red drum (Lazo *et al.*, 2007)

ลูกปลาสวายวัยอ่อนจะพบกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease ก่อนกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ซึ่งการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง acid protease และ alkaline protease ในลูกปลาวัยอ่อน มีไม่มากนัก และผลการศึกษาส่วนใหญ่จะพบกิจกรรมของ alkaline protease ก่อน acid protease เช่น ปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) พบเมื่อลูกปลาอายุ 3 และ 22 วันตามลำดับ (Lazo *et al.*, 2007) ปลา California halibut (*Paralichthys californicus*) พบเมื่อลูกปลา

อายุ 1 และ 15 วันตามลำดับ (Alvarez-González *et al.*, 2006) ปลา spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) พบเมื่อลูกปลาอายุ 1 และ 12 วันตามลำดับ (Alvarez-González *et al.*, 2008)

กิจกรรมของเอนไซม์ acid protease และ alkaline protease จะมีรูปแบบที่เหมือนกันยกเว้นในระยะที่ลูกปลาอายุ 0-3 วัน อย่างไรก็ตามกิจกรรมของเอนไซม์ acid protease จะมีค่าสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ alkaline protease ตลอดทุกช่วงอายุ เช่นเดียวกับที่พบในปลา Cuban gar (Comabella *et al.*, 2006) การที่เอนไซม์ acid protease และ alkaline protease มีการพัฒนาดังแต่ระยะแรกของการพัฒนา เป็นข้อมูลสนับสนุนว่าลูกปลาสวายมีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้หลายชนิด

1.1.2 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase

ลูกปลาสวายวัยอ่อนพบ กิจกรรมของเอนไซม์ amylase เมื่อลูกปลามีอายุ 1 วัน เช่นเดียวกับในปลา red drum (Lazo *et al.*, 2000) และ ปลา common dentex (*Dentex dentex*) (Gisbert *et al.*, 2009) ส่วนปลา yellowtail kingfish (Chen *et al.*, 2006) และ sharpsnout seabream (*Diplodus puntazaa*) (Suzer *et al.*, 2007) พบกิจกรรมของเอนไซม์ครั้งแรกเมื่อลูกปลามีอายุ 2 วัน

รูปแบบของการพัฒนาเอนไซม์ amylase ในลูกปลาสวายจะแบ่งเป็น 2 ระยะ เหมือนกับที่พบในปลา common carp (*Cyprinus carpio*) (Rathore *et al.*, 2005) และปลา Indian major carp (*Cirrhinus mrigala*) (Chakrabarti and Rathore, 2009) รูปแบบของการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase นี้สามารถให้เหตุผลว่า เป็นการพัฒนาของระบบการย่อยของเอนไซม์ และการเพิ่มขึ้นของโปรตีนในเนื้อเยื่อ (tissue protein) รวมทั้งการปรับตัวของลูกปลาต่อการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate metabolism) (Rathore *et al.*, 2005; Chakrabarti *et al.*, 2006; Chakrabarti and Rathore, 2009) การที่ระยะแรกของการพัฒนาลูกปลามีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase น้อยแสดงให้เห็นว่ามีข้อจำกัดในการย่อยคาร์โบไฮเดรต และมีพฤติกรรมเป็น carnivorous ในลูกปลาระยะแรก ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์สูงระยะหลังของการพัฒนาแสดงว่าลูกปลามีการปรับตัวดีขึ้นเพื่อที่จะใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรต การพบกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ทำให้ทราบว่า ลูกปลาสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานแทนโปรตีน (Kim *et al.*, 2001) ดังนั้นในอาหารสำหรับลูกปลาสวายวัยอ่อนจึงสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งของพลังงานที่ราคาไม่แพงในสูตรอาหาร ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับลูกปลาได้

1.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase

ลูกปลาสวายวัยอ่อนจะพบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ตั้งแต่ลูกปลาเพิ่งฟัก เช่นเดียวกับปลา California halibut (Alvarez-González *et al.*, 2006) red drum (Lazo *et al.*, 2007) และ common dentex (Gisbert *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตามอายุของลูกปลาที่พบกิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา เช่น ปลา yellowtail kingfish พบเมื่อลูกปลามีอายุ 2 วัน (Chen *et al.*, 2006) ปลา sharpsnout seabream พบเมื่อลูกปลามีอายุ 4 วัน (Suzer *et al.*, 2007) และ ปลา Mayan cichlid พบเมื่อลูกปลามีอายุ 13 วัน (López-Ramírez *et al.*, 2011)

ในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะมีค่าผันแปรตั้งแต่ลูกปลาแรกฟักจนถึงลูกปลาอายุ 11 วัน จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามอายุของลูกปลา ดังนั้นแสดงว่าลูกปลาสวายวัยอ่อนมีความสามารถในการย่อยไขมันในระยะแรกของการพัฒนาน้อยกว่าระยะหลังของการพัฒนา รูปแบบของกิจกรรมของปลาสวายมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในปลา spotted sand bass (Alvarez-González *et al.*, 2008) red drum (Lazo *et al.*, 2000), California halibut (Alvarez-González *et al.*, 2006) และ yellowtail kingfish (Chen *et al.*, 2006) ในขณะที่ปลา common dentex พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงในระยะแรกของการพัฒนา หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเมื่อลูกปลามีอายุมากขึ้น (Gisbert *et al.*, 2009) Oozeki and Bailey (1995) รายงานว่าในปลา walleye pollock จะมีเอนไซม์ lipase 2 ชนิดโดยชนิดแรกจะทำงานในช่วงแรกของการเจริญเติบโต และเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมอาหารสำรอง (yolk-sac absorption) ในขณะที่ lipase ชนิดที่สองจะพบหลังจากลูกปลามีอายุ 14 วัน โดยกิจกรรมของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้น ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยไขมันในอาหารมีชีวิต

1.2 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายวัยรุ่น

1.2.1. กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่ระดับพีเอช ต่างๆ

พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหารปลาสวายวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม คือ พีเอช 3 ซึ่งจัดเป็น acid protease เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหารปลาหลายชนิดที่พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์จะอยู่ในช่วงพีเอชที่เป็นกรด เช่น ปลา redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) และ

turbot (*Scophthalmus maximus*) ฟีเอช 2 (Munilla-Moran *et al.*, 1996) ปลา discus (*Symphysodon aequifasciata*) ฟีเอช 2 และ 3 (Chong *et al.*, 2002b) ปลา arowana (*Scleropages formomus*) ฟีเอช 1 และ 2 (Natalia *et al.*, 2004) และปลาสวายหนู (*Helicophagus leptorhynchus*) ฟีเอช 4 (จันทกานต์, 2550) ทั้งนี้เนื่องจากปลาที่มีกระเพาะอาหารนั้น gastric gland ในกระเพาะอาหารจะทำหน้าที่หลั่งกรดไฮโดรคลอริก และเอนไซม์ pepsin ซึ่งเป็น acid enzyme ตัวแรกที่ทำหน้าที่ย่อยอาหารให้มีขนาดเล็กลงโดยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของปลาจะมีฟีเอชประมาณ 2.5 (Steffens, 1989; Rust, 2002) และฟีเอชที่เหมาะสมในการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินในปลา คือ ฟีเอช 1-4 (Bone and Moore, 2008) จากข้อมูลเหล่านี้จึงอาจสรุปได้ว่าเอนไซม์ที่พบในกระเพาะอาหารปลาสวาย ้วยรุ่นคือเอนไซม์เปปซิน

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ในลำไส้ส่วนต้นของปลาสวาย้วยรุ่น พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นทั้งในช่วงฟีเอชที่เป็นกรดและเป็นด่าง แสดงว่าในลำไส้มีทั้ง acid protease และ alkaline protease โดยกิจกรรมสูงสุดของเอนไซม์อยู่ในช่วงฟีเอชที่เป็นด่าง เช่นเดียวกับ กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในลำไส้ปลา redfish, seabream และ turbot (Munilla-Moran *et al.*, 1996) และปลา arowana (Natalia *et al.*, 2004) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับระบบการย่อยอาหารในลำไส้ของปลาที่รับอาหารจากกระเพาะที่มีสภาวะเป็นกรดเข้ามา จากนั้นถุงน้ำดีจะหลั่งน้ำดีออกมาเพื่อค่อยๆปรับสภาวะของลำไส้ให้มีความเป็นด่างมากขึ้น ดังนั้นการที่ในลำไส้ส่วนต้นของปลาสวายพบทั้ง acid protease และ alkaline protease แสดงว่าสามารถย่อยอาหารได้ทั้งในฟีเอชที่เป็นกรด และ ฟีเอชที่เป็นด่าง จึงมีแนวโน้มว่าจะมีความสามารถในการย่อยอาหารได้ดีกว่าปลาที่ในลำไส้พบเฉพาะ alkaline protease เช่น ปลา discus (Chong *et al.*, 2002b) และปลา สวายหนู (จันทกานต์, 2550)

เอนไซม์ protease ในลำไส้ส่วนปลายของปลาสวาย้วยรุ่นจะมีกิจกรรมเอนไซม์ protease น้อย เนื่องจากหน้าที่หลักของลำไส้ส่วนปลายคือการดูดซึมสารอาหาร

ผลการศึกษากิจกรรมของ protease ที่สกัดจากตับปลาสวาย้วยรุ่นขนาด 10 กรัม พบว่า ฟีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในช่วงฟีเอชเป็นด่าง ซึ่งจัดเป็น alkaline protease ส่วนกิจกรรมของ protease ที่สกัดจากตับปลาสวาย้วยรุ่นขนาด 30 กรัม พบว่า ฟีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในช่วงฟีเอชเป็นกรดและฟีเอชเป็นด่าง ซึ่งจัดเป็นทั้ง acid protease และ alkaline protease ซึ่งอาจสรุปได้ว่าเมื่อปลาสวายมีอายุมากขึ้นเอนไซม์ protease จะมีแนวโน้มย่อยอาหารได้ดีกว่าเนื่องจากสามารถทำงานได้ทั้งในสภาวะเป็นกรดและเป็นด่าง ปลา

หลายชนิดพบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ทั้งในช่วงที่เป็นกรดและเป็นด่างเช่น ปลา arowana พบว่าพีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่พีเอช 10 และพบกิจกรรมของเอนไซม์ที่พีเอช 2 - 3 (Natalia *et al.*, 2004) ปลาสวายหนู พบว่า เอนไซม์ protease ที่สกัดจาก hepatopancreas มีพีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่ พีเอช 9 และพบกิจกรรมของเอนไซม์ที่ พีเอช 6 (จันทกานต์, 2550) และปลา common carp และ tench จะพบกิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงที่ พีเอชเป็นกลาง (พีเอช 7) และพีเอช เป็นด่าง 8.5 - 10 แต่จะมีกิจกรรมของเอนไซม์น้อยในช่วงที่เป็นกรด (Hidalgo *et al.*, 1999)

alkaline protease ที่พบในลำไส้และตับปลา มีพีเอชที่เหมาะสมต่างกัน ซึ่ง Rust (2002) รายงานว่าระดับพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เป็นคุณสมบัติหนึ่งที่ใช้ในการระบุชนิดของเอนไซม์ได้ เช่น Sabapathy and Teo (1994) รายงานว่าเอนไซม์ protease ที่พบในปลา rabbitfish (*Siganus canaliculatus*) มีพีเอชที่เหมาะสมที่พีเอช 8 จึงสรุปว่าเป็น เอนไซม์ trypsin และ chymotrypsin ในขณะที่ Bone and Moore (2008) รายงานว่า ในปลาทั่วไปพบว่า พีเอชที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ trypsin จะอยู่ระหว่างพีเอช 6.8-7.8 ส่วน Hidalgo *et al.* (1999) รายงานว่าเอนไซม์ protease ที่พบในปลา common carp (*Cyprinus carpio*), ปลาทอง (*Carassius auratus*) และ tench (*Tinca tinca*) มีพีเอชที่เหมาะสมที่พีเอช 9 และ 10 จึงสรุปว่าเป็นเอนไซม์ elastase และ collagenase ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า alkaline protease ที่พบในปลาสวายขี้รูนน่าจะเป็น เอนไซม์ trypsin, elastase และ chymothrypsin ส่วน acid protease ที่พบทั้งในลำไส้และตับของปลาสวายน่าจะเป็นเอนไซม์ cathepsin เช่นเดียวกับที่พบในปลา arowana (Natalia *et al.*, 2004)

เอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ และ ตับของปลาสวายจะประกอบด้วยทั้ง acid protease และ alkaline protease แสดงให้เห็นว่าในขบวนการย่อยโปรตีนของปลาสวายจะเริ่มจากการย่อยด้วยเอนไซม์ pepsin ในสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร ทำหน้าที่ตัดพันธะเปปไทด์ให้สั้นลง จากนั้นเอนไซม์ trypsin และ chymothrypsin ในลำไส้ซึ่งเป็น endopeptidase จะย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างเป็นอิสระให้พันธะเปปไทด์สั้นลง และเอนไซม์ carboxypeptidase และ elastase ซึ่งเป็น exopeptidase จะทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะให้เป็นเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโน

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากท่อทางเดินอาหาร (digestive tract) ได้แก่ กระเพาะ และลำไส้ ของปลาสวายขี้รูนขนาด 10 และ 30 กรัม มีค่าสูงกว่าผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากตับซึ่งเป็น อวัยวะช่วยย่อยอาหาร (accessory

gland) เช่นเดียวกับที่พบในปลา common carp, ปลาทอง, tench, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) และ European eel (*Anguilla Anguilla*) (Hidalgo *et al.*, 1999) แสดงว่าท่อทางเดินอาหารของปลาสายวัยรุ่นเป็นอวัยวะหลักในการผลิตเอนไซม์ protease

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ และตับของปลาสายวัยรุ่นมีค่ากิจกรรมสูงขึ้นตามอายุของปลาที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่ง Kuz'mina (1996) รายงานว่าความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์กับอายุจะขึ้นอยู่กับชนิดปลาด้วย เช่นปลา pike (*Esox lucius*) และ bream (*Abramis brama*) พบว่าอายุไม่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ส่วนปลา perch (*Perca fluviatilis*) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease มีแนวโน้มลดลงเมื่อปลาโตเต็มวัย ในขณะที่ปลา roach (*Rutilus rutilus*) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease เพิ่มขึ้นตามอายุของปลาที่เพิ่มขึ้น

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ในระดับพีเอชต่าง ๆ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสายทั้งสองขนาดมีค่าสูงสุดที่ระดับพีเอช 3 ดังนั้นในการทดลองที่ 2 การหาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vitro* ของปลาสายขนาด 10 และ 30 กรัมจึงใช้เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาสาย และทำการทดลองที่ระดับพีเอช 3

1.2.2 กิจกรรมของเอนไซม์ amylase

พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ และตับของปลาสายวัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม คือพีเอชที่เป็นกลาง (พีเอช 7) จัดเป็น neutral amylase ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลาส่วนใหญ่ ที่ใช้บัฟเฟอร์ที่มีพีเอชที่เป็นกลางเช่น ปลา arowana ใช้บัฟเฟอร์พีเอช 6.9 (Natalia *et al.*, 2004) ปลา common carp, tench, ปลาทอง, rainbow trout, gilthead seabream และ European eel ใช้บัฟเฟอร์พีเอช 7.5 (Hidalgo *et al.*, 1999) ทั้งนี้การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมกับเอนไซม์ amylase ในปลาจะมีไม่มากนัก เช่น Fernández *et al.* (2001) ได้รายงานการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากปลา Mediterranean sparid 5 ชนิด พบว่า พีเอชที่เหมาะสมของปลา *Pagrus pagrus* และ *Boops boops* คือพีเอช 7 ปลา *Pagellus erythrinus* คือพีเอช 7 และ 9 ปลา *Diplodus annularis* คือพีเอช 6 และ 9 และ ปลา *Pagellus bogaraveo* คือพีเอช 4, 6 และ 9 ส่วนจันทกานต์ (2550) ได้รายงานว่พีเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากลำไส้ และตับของปลา

สวายหนูคือฟิเอช 7 ในขณะที่รุ่งกานต์ (2552) ได้รายงานว่ ฟิเอชที่เหมาะสมกับกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย กระเพาะอาหาร และตับ ของปลานิล ขนาด 35.8 กรัม จะอยู่ทั้งในช่วงฟิเอชที่เป็นกรด เป็นด่าง และเป็นกลาง คือ ฟิเอช 6 ฟิเอช 7 ฟิเอช 8 และฟิเอช 6, 7 และ 8 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปลานิลเป็นปลากินพืช ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ amylase จึงสามารถทำงานได้ในหลายช่วงฟิเอชเพื่อให้สามารถย่อยอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับที่ Hidalgo *et al.* (1999) สรุปไว้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ amylase จะขึ้นกับนิสัยการกินอาหารตามธรรมชาติของปลาโดยปลาที่กินพืช และปลาที่กินทั้งเนื้อและพืช จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase สูงกว่าปลากินเนื้อ

ถึงแม้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ amylase พบทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้ แต่ฟิเอชที่เหมาะสมในการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหารคือฟิเอช 7 ดังนั้นกระเพาะอาหารจึงไม่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ เนื่องจากในระหว่างการย่อยอาหารฟิเอชในกระเพาะอาหารจะเป็นกรด การย่อยคาร์โบไฮเดรตจึงเกิดในลำไส้ซึ่งจะมีฟิเอชที่เหมาะสมกับการเกิดกิจกรรมมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับที่ เวียง (2542) กล่าวว่า การย่อยคาร์โบไฮเดรตของสัตว์น้ำจะเกิดที่ลำไส้ โดยเอนไซม์ amylase จากตับอ่อนจะย่อยแป้งและไกลโคเจนให้เป็นโมโนแซ็กการไรด์ มอลโตไตรออส และมอลโตส ส่วนเอนไซม์ disaccaridase จากลำไส้เล็กจะทำหน้าที่ย่อยไดแซ็กการไรด์ให้เป็นโมโนแซ็กการไรด์ ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส และกาแลกโตส

การพบเอนไซม์ amylase ในปลาสวายจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสร้างสูตรอาหารที่ใช้แหล่งพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตทดแทนแหล่งพลังงานจากโปรตีนและไขมันซึ่งมีราคาสูง แต่ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลาสวายด้วย เช่น Hung *et al.* (2003) ได้ทดลองการใช้ประโยชน์จากแป้งของปลาสวายขนาด 4.4 กรัม โดยใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตโดยสร้างสูตรอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรต 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนผสม 20 % จะไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลาสวาย ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ให้ข้อคิดเห็นว่า ถ้ามีการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตจะขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้และกระบวนการผลิต ถ้าผ่านขบวนการ extrusion หรือใช้แป้งที่สุก (cooking starch) จะทำให้สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งพลังงานได้เช่นเดียวกับโปรตีนและไขมัน

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในตับปลาสวาย มีค่าสูงกว่าในทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นลักษณะที่พบในปลากินทั้งพืชและสัตว์ (Hidalgo *et al.*, 1999) การที่กิจกรรม

ของเอนไซม์ amylase ในตับสูงกว่าอวัยวะอื่นอาจเนื่องมาจาก ตับของปลาสาวยมีตับอ่อนแทรกอยู่ดังแสดงในภาพที่ 20 และ 21 ซึ่งสอดคล้องกับที่ De Silva and Anderson (1995) ได้รายงานว่า ในปลาหลายชนิดพบว่ามีการทำงานของเอนไซม์ amylase ทั้งในลำไส้ตับอ่อน กระเพาะอาหาร และถุงน้ำดี และส่วนใหญ่สรุปว่าตับอ่อนเป็นอวัยวะสำคัญในการสร้างเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต เช่น Hidalgo *et al.* (1999) ได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ในปลาน้ำจืด 5 ชนิด และรายงานว่า ปลา rainbow trout, gilthead seabream และ European eel มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่ตบ่น้อยกว่าทางเดินอาหาร ในขณะที่ปลา common carp และ ปลาทอง มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในตับสูงกว่าในทางเดินอาหาร เนื่องจากตับของปลาทั้งสองชนิดมีเซลล์ของตับอ่อนแทรกอยู่

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ และตับของปลาสาวยวัยรุ่นมีค่ากิจกรรมสูงขึ้นตามอายุของปลาที่เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับในการศึกษาปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัมพบว่า เอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาขนาด 92 กรัมมีค่าสูงสุดในทุกอวัยวะ (รุ่งกานต์, 2552) ในขณะที่ Kuz'mina (1996) รายงานว่า ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ amylase กับอายุปลา มีความหลากหลายมากกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ protease เช่น กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ในปลา pike และ perch ซึ่งเป็นปลากินเนื้อที่ชอบล่าเหยื่อ (predator) นั้น กิจกรรมของเอนไซม์ amylase จะลดลงเมื่อปลาที่มีอายุมากขึ้น ในขณะที่ปลา bream และ roach ซึ่งเป็นปลากินสัตว์หน้าดินนั้น กิจกรรมของเอนไซม์จะมีค่าผันแปรไม่สัมพันธ์กับอายุ

1.2.3 กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจาก กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับ ของปลาสาวยวัยรุ่นขนาด 10 กรัม และ 30 กรัม พบว่าอยู่ในช่วงพีเอชที่เป็นด่าง จึงจัดเป็นอัลคาไลน์ lipase เช่นเดียวกับที่พบในปลานิล โดยพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ใน ตับ กระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนปลายของปลานิลขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุดที่พีเอช 10, 8, 8 และ 8 ตามลำดับ สำหรับปลานิลขนาด 35.8 กรัมกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงสุดที่พีเอช 10, 8, 7 และ 7 ตามลำดับ ส่วนปลานิลขนาด 92.1 กรัม กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าสูงสุดที่พีเอช 8, 10, 8 และ 9 ตามลำดับ (รุ่งกานต์, 2552) แต่ปลา milkfish มีพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในช่วงพีเอชที่เป็นกรดเล็กน้อย และพีเอชที่เป็นด่าง โดยพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase จากลำไส้คือ พีเอช 6.8 และ 8 และตับอ่อนคือ พีเอช 6.4 และ 8.4 (Borlongan, 1999) ส่วนปลาสาวยหนูพีเอชที่เหมาะสมต่อ

กิจกรรมของเอนไซม์จะอยู่ในฟิเอชที่เป็นกลางและฟิเอชที่เป็นด่างโดยกิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครียส กระเพาะอาหาร และ ลำไส้ มีฟิเอชที่เหมาะสมคือ ฟิเอช 8, 7 และ 7 ตามลำดับ (จันทกานต์, 2550) ส่วน De Silva and Anderson (1995) สรุปว่าการย่อยไขมันจะเกิดในสภาวะที่เป็นด่าง โดยฟิเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะแตกต่างกันไป เช่น เอนไซม์ lipase จาก mucosa ที่ลำไส้คือ ฟิเอชระหว่าง 7 - 7.5 ส่วนเอนไซม์ esterase ในลำไส้คือ ฟิเอช 8 และ 9

ถึงแม้ว่า กิจกรรมของเอนไซม์ lipase จะพบทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้ แต่ฟิเอชที่เหมาะสมในการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหารคือฟิเอชที่เป็นด่าง รวมทั้งในกระเพาะอาหารไม่มีน้ำดีที่จะช่วยทำให้ไขมันมีขนาดเล็กลง ดังนั้นประสิทธิภาพการย่อยไขมันในกระเพาะอาหารจึงต่ำกว่าในลำไส้ ซึ่งสอดคล้องกับที่ เวียง (2542) กล่าวว่า การย่อยไขมันของสัตว์น้ำจะเกิดที่ลำไส้ โดยน้ำดีจะทำให้ไขมันแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็กมีลักษณะเป็นสารแขวนลอย จากนั้นเอนไซม์ lipase จากตับอ่อนและลำไส้จะทำหน้าที่ย่อยไขมันหรือไตรกลีเซอไรด์แตกตัวเป็นกรดไขมัน ที่ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในตับปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 และ 30 กรัม มีค่าสูงกว่าผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากทางเดินอาหาร เช่นเดียวกับปลา grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) ที่พบว่า ในกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ใน hepatopancreas ของทั้งปลาโตเต็มวัยและลูกปลามีค่าสูงกว่าที่ลำไส้ (Das and Tripathi, 1991) ซึ่งสอดคล้องกับที่ Nayak *et al.* (2003) รายงานว่าปลาที่มีตับอ่อนแทรกในตับจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ lipase สูงกว่าปลาที่ไม่มีตับอ่อนแทรกอยู่ในตับ แต่ปลา milkfish (*Chanos chanos*) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ในลำไส้ส่วนต้นมีค่าสูงสุด รองลงมาได้แก่ ลำไส้ส่วนปลาย ตับ ตับอ่อน และ กระเพาะอาหาร ทั้งนี้ผู้วิจัยให้ข้อคิดเห็นว่าอาจเนื่องมาจากมีเอนไซม์จากตับอ่อนเข้าไปในลำไส้ส่วนต้นของปลา milkfish (Borlongan, 1999)

ผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ และตับของปลาสาวยัยรุ่นมีค่ากิจกรรมสูงขึ้นตามอายุของปลาที่เพิ่มมากขึ้น แต่ในการศึกษาปลานิลขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัมพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ของปลานิลขนาด 5.7 และ 35.8 กรัมมีค่าสูงกว่าปลานิลขนาด 92.1 กรัม ซึ่งผู้วิจัยได้สรุปว่า เนื่องจากปลาในระยะดังกล่าว มีการเจริญเติบโต การสังเคราะห์โปรตีน รวมทั้งมีความต้องการ โปรตีน และพลังงานสูง ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ protease และ lipase จึงมีมากเพื่อตอบสนองต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีนและไขมันที่ได้รับจาก

อาหาร (รุ่งกานต์, 2552) การศึกษาด้าน lipase ในปลาจะมีน้อยและส่วนใหญ่จะศึกษาในเรื่องการ พัฒนาของเอนไซม์ lipase ในลูกปลาวัยอ่อนมากกว่าจะศึกษากิจกรรมของ lipase ในปลาระยะอื่น ๆ

การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* ของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสร้อยขนาด 10 และ 30 กรัม และที่ สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบแบบ *in vitro* โดยใช้เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสร้อยขนาด 10 และ 30 กรัม และที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. พบว่า เมื่อนำข้อมูลประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease จากทั้ง 3 แหล่ง มาจัดเรียงลำดับจากสูงไปหาต่ำจะได้ผลการจัดลำดับเหมือนกัน คือ ปลาป่นมีค่าประสิทธิภาพการ ย่อยสูงที่สุด รองลงมาเป็น กากเมล็ดทานตะวัน กากาโนล่า กากถั่วเหลือง และ DDGS ซึ่งสอดคล้อง กับ Chong *et al.* (2002a) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vitro* ด้วยเทคนิค Lazo single enzyme ซึ่งใช้เอนไซม์จากแบคทีเรีย และ เอนไซม์ที่สกัดจากไส้ปลา discus แต่ Cater *et al.* (1999) ซึ่งศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเอนไซม์ที่สกัดจาก pyloric caeca ของ southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) พบว่า เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มา จัดลำดับการย่อยได้ของวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ จะมีลำดับที่ตรงกับเฉพาะวัตถุดิบที่มี ค่าประสิทธิภาพการย่อยสูงสุดและต่ำสุดเท่านั้น และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากพืชของ เอนไซม์จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีค่าสูงกว่าความสามารถในการย่อยจริงๆของปลากินเนื้อ ซึ่ง Chong *et al.* (2002a) ได้แนะนำว่าการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vitro* ควรใช้เอนไซม์จาก ปลาที่ศึกษา หรือ ปลาชนิดอื่น แทนการใช้เอนไซม์จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ แบคทีเรีย เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุล พิเศษและอุณหภูมิที่เหมาะสม และกิจกรรมของเอนไซม์ protease จาก สัตว์แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม Tonheim *et al.* (2007) แนะนำว่า ถ้าต้องการ ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยควรใช้ แบบ *in vivo* ยกเว้นในกรณีที่ปลาบางชนิดที่ทำได้ยากเนื่อง ข้องจำกัดในเรื่องการให้อาหาร และการเก็บมูลปลา ดังนั้น สำหรับปลาสร้อยซึ่งมีข้อจำกัดในการเก็บ มูลปลา และการดูแลปลาระหว่างการทดลอง การพัฒนาวิธีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยด้วยวิธี *in vitro* โดยใช้เอนไซม์จากแบคทีเรียหรือเอนไซม์จากปลาสร้อยเอง จะเป็นประโยชน์ในการ คัดเลือกอาหาร และวัตถุดิบมาใช้ เนื่องจากวิธีการหาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vitro* เป็นวิธีที่ ใช้เวลาในการทดลองสั้น เสียค่าใช้จ่ายน้อย ใช้วัตถุดิบในปริมาณน้อย และลดข้อจำกัดในการให้ อาหารและดูแลสัตว์ทดลอง (Eid and Matty, 1989) ทั้งนี้จึงต้องมีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อย โปรตีนในปลาป่นแบบ *in vivo* ของปลาสร้อยเพื่อเป็นค่ามาตรฐานในการปรับสภาวะการทดลองของ

การหาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vitro* ให้มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับการศึกษาความสัมพันธ์ของการหาค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vivo* และ *in vitro* ในปลาไน และ ปลา Discus (Eid and Matty, 1989; Chong *et al.*, 2002a)

ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับ ขบวนการในการผลิตวัตถุดิบ วิธีการวัดประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน รวมทั้งชนิดและอายุของปลา เช่น ถั่วดิบจะมี protease inhibitors ที่จะลดประสิทธิภาพการย่อยลง และขบวนการผลิตวัตถุดิบด้วยการอบแห้งด้วยความร้อนที่ไม่เหมาะสมจะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยลดลง ดังนั้นในการแปลผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบที่ไม่ได้ระบุขบวนการผลิตจึงทำได้ยาก (Eid and Matty, 1989; Cater *et al.*, 1999) การใช้เอนไซม์จากต่างแหล่งกันจะให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยต่างกันเช่น Cater *et al.*, (1999) ได้รายงานประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบของ เอนไซม์ protease ที่สกัดจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ เอนไซม์ที่สกัดจาก pyloric caeca ของ ปลา southern bluefin tuna พบว่า ประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนในปลาป่นจากแหล่งต่างๆมีค่าอยู่ในช่วง 78 – 82 % และ 53-72% ตามลำดับ โดยกากถั่วเหลืองมีค่าเป็น 80 % และ 49 % ตามลำดับ ปลาแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการย่อยวัตถุดิบที่ต่างกัน เช่นเอนไซม์ที่สกัดจากปลาไน (*Cyprinus carpio*) มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่น กากถั่วเหลือง และ กากเมล็ดทานตะวัน มีค่าเป็น 90 % , 81 % และ 61% ตามลำดับ (Eid and Matty, 1989) ในขณะที่เอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลา discus มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่น และกากถั่วเหลือง เป็น 76.8 % และ 67.18 % ตามลำดับ (Chong *et al.*, 2002a) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hertramp and Piedad-Pascual (2000) ที่ได้รายงานประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่นของปลา 11 ชนิดว่ามีค่าอยู่ในช่วง 61 – 91 % โดยปลา grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) และ chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) มีค่าสูงสุด ส่วนปลา milkfish (*Chanos chanos*) และ yellow tail (*Seriola quinqueradiata*)

โดยทั่วไปประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาจะสูงขึ้นตามอายุหรือขนาดที่เพิ่มขึ้น เช่น ปลานิลขนาด 92.1 กรัมมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่น กากถั่วเหลือง และ กากทานตะวันสูงกว่าปลาขนาด 35.8 กรัม (รุ่งกานต์, 2552) ปลา rainbow trout ขนาด 500 กรัมมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนใน เคซีน กากเรปซิด กากเมล็ดฝ้าย และเนื้อไก่ป่น สูงกว่าปลาขนาด 50 กรัม (Dimes and Harrd, 1994) แต่ในการศึกษานี้พบว่า เฉพาะประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาป่นเท่านั้นที่พบว่าเอนไซม์ protease ที่สกัดจากปลา 30 กรัมมีค่าสูงกว่าปลา 10 กรัม ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาสาวยทั้งสองขนาดไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปลาทั้งสองขนาดนี้จัดเป็นปลาระยะวัยรุ่นเหมือนกัน ทำให้ความสามารถในการย่อยยัง

ไม่แตกต่างกันมาก รวมทั้งโปรตีนจากพืชมีสารต้านโภชนาเช่น trypsin inhibitor, tannin และเยื่อใย ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารลดลง (Aslaksen, *et al.*, 2007; Hansen *et al.*, 2007)

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจาก DDGS ของปลาซวายทั้งสองขนาดจะมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า ปลาป่น กากเมล็ดทานตะวัน กากคาโนล่า และ กากถั่วเหลือง คิดเป็น 2.45, 2.11, 1.58 และ 1.46 เท่าตามลำดับ ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่าจะใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ในระดับที่ต่ำกว่าวัตถุดิบอื่น นอกจากนี้เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vitro* ด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรียยังพบว่า ในทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ DDGS มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำกว่า 50 % ในขณะที่วัตถุดิบอื่นที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชจะมีค่าอยู่ในช่วง 50 – 70 % ดังนั้นหากต้องการใช้เอนไซม์ protease จากแบคทีเรียในการปรับปรุงประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของ DDGS จะต้องมีการใช้เอนไซม์ในความเข้มข้นที่สูงกว่าการทดลองนี้ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต หรืออาจต้องใช้แหล่งของเอนไซม์ protease จากแหล่งอื่น นอกจากนี้ควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งชนิดของ DDGS และปริมาณที่เหมาะสม เนื่องจาก DDGS เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพแตกต่างกันมาก นอกจากนี้ DDGS มีรงควัตถุสีเหลือง (Lutein และ Zeaxanthin) อยู่ในปริมาณ 10.6 – 34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงต้องมีการตรวจสอบปริมาณของรงควัตถุก่อนใช้เพื่อไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสีของเนื้อปลา เช่น Li *et al.* (2010) ได้รายงานว่าในการทดลองเลี้ยง ปลา Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) ด้วยสูตรอาหารมี DDGS 300 กิโลกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า มี Lutein และ Zeaxanthin 14 -17 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งส่งผลให้ผิวหนังปลามีสีเหลืองเห็นได้ชัดเจน ส่วนเนื้อปลามีสีเหลืองเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรควบคุม

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่นของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะปลาซวายทั้งสองขนาดมีค่าเฉลี่ยมากกว่าในกากเมล็ดทานตะวัน กากคาโนล่า และ กากถั่วเหลือง คิดเป็น 1.66, 1.55 และ 1.15 เท่าตามลำดับ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแสดงว่า กากเมล็ดทานตะวันสามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ กากคาโนล่า และ กากถั่วเหลือง นอกจากนี้จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบเหล่านี้ด้วยเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรียในปริมาณ 0.05 U/กรัมโปรตีนของวัตถุดิบ พบว่าจะมีค่าตั้งแต่ 50 – 59 % ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการทดลองที่ต้องการใช้วัตถุดิบที่เอนไซม์ protease จากแบคทีเรียมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้อย่างน้อย 50 % แต่ในการตัดสินใจเลือกใช้วัตถุดิบจะต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านอื่น ๆ ด้วยเช่น การใช้กากเมล็ดทานตะวันจะมีข้อจำกัดเรื่องปริมาณเยื่อใย เนื่องจากกากเมล็ดทานตะวันมีเยื่อใยอยู่ในช่วง 16 – 30 % ในขณะที่กากคาโนล่า และกากถั่วเหลืองมีปริมาณเยื่อไยน้อยกว่าอยู่ในช่วง 11.4 – 12.1 % และ 3.2 – 6.3 %

ตามลำดับ (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) ดังนั้นการใช้กากเมล็ดทานตะวันเพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นทั้งหมดเป็นไปได้ยาก เช่น ในการศึกษาในปลา gilthead sea bream (*Sparus aurata*) โดยใช้สูตรอาหารที่มีกากเมล็ดทานตะวัน 0, 12, 24 และ 36 % พบว่าระดับที่ทำให้การเจริญเติบโตดีที่สุดคือที่ระดับ 12 % (Lozano *et al.*, 2007) ส่วนการศึกษาในปลา sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) โดยใช้โปรตีนจากกากทานตะวันทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 10, 20 และ 30 % พบว่าระดับที่เหมาะสมคือ 30 % โดยไม่มีผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโต เนื้อเยื่อวิทยาของตับและทางเดินอาหารของปลา (Mérida *et al.*, 2010) ดังนั้นหากจะใช้กากเมล็ดทานตะวันในอาหารปลาสาวยจะต้องมีการทดลองเพิ่มเติมโดยอาจใช้ทดแทนปลาป่นบางส่วน หรือใช้ร่วมกับแหล่งโปรตีนจากพืชอื่นเพื่อลดข้อจำกัดเรื่องปริมาณเยื่อใยในอาหาร

เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสาวยทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากคาโนลาค่อนข้างดี แต่กากคาโนลามีข้อจำกัดในเรื่องของสารพิษคือ erucic และ glucosinolate ทำให้มีข้อแนะนำในการใช้ในอาหารปลาไม่ควรเกิน 5 – 10 % (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) ในปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์คาโนลาให้มีสารพิษลดลงทำให้มีแนวโน้มว่าจะสามารถใช้ทดแทนปลาป่นได้ในปริมาณที่มากขึ้น การนำมาใช้ในอาหารปลาสาวยจึงต้องมีการศึกษารายละเอียดในเรื่องสายพันธุ์ของคาโนลาที่ใช้ รวมถึงปริมาณที่เหมาะสมและผลกระทบต่อสุขภาพปลาด้วย

ในขณะที่เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาสาวยทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเป็นลำดับที่ 3 ในกลุ่มโปรตีนจากพืช แต่เมื่อศึกษารายงานต่าง ๆ แล้วพบว่า กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการทดแทนปลาป่นมากที่สุด โดยปริมาณการทดแทนปลาป่นจะขึ้นกับชนิดปลา เช่น ในสูตรอาหารของปลา tin foil barb (*Barbodes altus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 37 % (Elangovan and shim, 2000) ปลา African catfish (*Clarias gariepinus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 100 % (Goda *et al.*, 2007) ปลา Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนได้ 30 % ในสูตรอาหาร (Murray, *et al.*, 2010)

การทดลองที่ 3 ผลของการเสริมเอนไซม์สังเคราะห์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลาสาวยัยรุ่น

ผลวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของอาหารทดลองพบว่ามีโปรตีนอยู่ระหว่าง 29.99 – 30.54 เปอร์เซ็นต์ และมีพลังงานระหว่าง 280 – 281 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 100 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับที่ วิมลและคณะ (2535) สรุปว่าอาหารที่เหมาะสมกับปลาสาวยัยรุ่นมีโปรตีนระหว่าง 28 – 29 เปอร์เซ็นต์และมีระดับพลังงานในระหว่าง 271 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม นอกจากนี้พบว่าปริมาณของเยื่อใยในอาหารทดลองที่มีค่าอยู่ระหว่าง 5.63 - 6.59 เปอร์เซ็นต์ และ ฟอสฟอรัสมีค่าระหว่าง 0.61 – 1.08 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับสูตรอาหารของปลา channel catfish ซึ่งเป็นปลาในตระกูลปลาอุก เช่นเดียวกับปลาสาวยัยรุ่นที่กำหนดว่า เยื่อใยไม่มากกว่า 7 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสไม่น้อยกว่า 0.3 เปอร์เซ็นต์ (Robinson *et al.*, 2004)

3.1 ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหารในงานวิจัยต่าง ๆ จะให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ชนิดและระดับของเอนไซม์ที่ใช้ และ สูตรอาหาร (Drew *et al.*, 2005) วิธีการเสริมเอนไซม์ เช่น การพ่นเอนไซม์เข้าไปในอาหารหลังจากขั้นตอน การอัดเม็ด และการใส่เอนไซม์ในแหล่งโปรตีนจากพืชก่อนที่จะนำมาใช้ในสูตรอาหาร จะมีส่วนช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบของเอนไซม์ (Vielma *et al.*, 2002; Ai *et al.*, 2007) ทั้งนี้ Farhangi and Cater (2007) ได้ให้ข้อคิดเห็นว่า การปรับปรุงขบวนการผลิตเอนไซม์ให้มีความคงทนต่อความชื้นและความร้อนในขบวนการผลิตอาหาร และการศึกษาระดับเอนไซม์ที่เหมาะสม รวมทั้งปริมาณเอนไซม์ที่ต้องใส่เพิ่มขึ้นเพื่อชดเชยส่วนการสูญเสียในระหว่างการผลิตอาหารสัตว์ จะช่วยทำให้การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์มีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ Francis *et al.* (2001) ยังรายงานว่าสารต้านโภชนะในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชจะทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ลดลง เช่น กากถั่วเหลืองจะมี protease inhibitor และ lectins ซึ่งจัดเป็นสารต้านโภชนะที่ขัดขวางการย่อยและการใช้ประโยชน์ของโปรตีน (Francis *et al.*, 2001)

3.1.1 ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหาร

การศึกษาการใช้เอนไซม์ protease ในสัตว์น้ำมีไม่มากนัก ในขณะที่ในสัตว์ปีกมีการศึกษากันมาก ในปัจจุบันมีรายงานว่า การใช้เอนไซม์ protease ในสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืช

ได้แก่ กากถั่วเหลือง (Marsman *et al.*, 1997) และดูปิน (Rubio *et al.*, 2003) จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบทั้งสองดีขึ้น

ในการศึกษานี้พบว่า การเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาซวาย ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของรุ่งกานต์ (2552) ที่รายงานว่า การเสริมเอนไซม์จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ และเสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ระดับ 0.02 U มีค่าการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพของอาหารได้แก่ ประสิทธิภาพของโปรตีน ประสิทธิภาพการเปลี่ยนเป็นเนื้อ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์ protease จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนทั้งในปลาป่น และกากถั่วเหลืองได้เพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาจะสอดคล้องกับการทดลองการเสริมเอนไซม์ protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชอื่นๆ นอกจากถั่วเหลือง เช่น Farhangi and Carter (2007) ได้ศึกษา การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยดูปินในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา rainbow trout พบว่า การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ commercial protease ไม่ทำให้น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนเป็นเนื้อ อัตราการเปลี่ยนอาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาแตกต่างกัน ส่วน Drew *et al.* (2005) ได้ศึกษาการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากคาโนล่าผสมกับ flax และ กากคาโนล่าผสมกับ pea ในอาหารปลา rainbow trout พบว่าการเสริมเอนไซม์ protease จะช่วยให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของอาหารดีขึ้นหรือไม่ขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ในการทดแทนปลาป่น โดยการเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ commercial protease ในอาหารที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยคาโนล่าผสมกับ flax ไม่ทำให้น้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาแตกต่างกัน ในขณะที่การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ commercial protease ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยคาโนล่าผสมกับ pea ไม่มีผลทำให้น้ำหนักเพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลา rainbow trout แตกต่างกัน แต่มีผลทำให้ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมเอนไซม์มีค่าประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โปรตีน และไขมัน สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมเอนไซม์

นอกจากการเสริมเอนไซม์ protease เพียงชนิดเดียวในอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นแล้ว ยังพบว่ามีการใช้เอนไซม์ protease ร่วมกับเอนไซม์อื่นที่ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษานี้ได้แก่ Yilmaz and Ikiz (2006) รายงานว่าการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์รวม (galaktosidase, amylase, cellulose, protease และ xylanase) ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลทำให้ น้ำหนักเพิ่ม และการเจริญเติบโตจำเพาะของปลา gilthead sea bream แตกต่างกัน ซึ่งผู้วิจัยสรุปว่า อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ทดลองเป็น 20.61 ± 2.92 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ Ogunkoya *et al.* (2006) รายงานว่า การเสริมและไม่เสริมเอนไซม์รวม (xylanase, amylase, cellulase, protease และ β -glucanase) ในอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองในระดับ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลทำให้น้ำหนักเพิ่ม และ ประสิทธิภาพอาหารของปลา rainbow trout แตกต่างกัน ส่วน Lin *et al.* (2007) ได้ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์รวม (neutral protease, β glucanase และ xylanase) ในอาหารปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*) ที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วย กากถั่วเหลือง กากเรปซิด และกากเมล็ดฝ้าย พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามปริมาณของเอนไซม์รวมที่เพิ่มขึ้น แต่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไกมัน และพลังงาน ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง

3.1.2 ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ต่อเปอร์เซ็นต์เนื้อติดหนัง องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อติดหนัง และ ค่า HSI

ในการศึกษานี้พบว่าการเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา เช่นเดียวกับการทดลองการเสริมเอนไซม์ commercial protease ในปลา rainbow trout (Farhangi and Carter, 2007) การเสริมเอนไซม์รวม (galaktosidase, amylase, cellulose, protease และ xylanase) ในอาหารปลา gilthead sea bream (Yilmaz and Ikiz, 2006) และการเสริมเอนไซม์รวม (neutral protease, β glucanase และ xylanase) ในอาหารปลานิลลูกผสม (Lin *et al.*, 2007) และการเสริมเอนไซม์รวม (xylanase, amylase, cellulase, protease และ β -glucanase ในอาหารปลา rainbow trout (Ogunkoya *et al.*, 2006)) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของรุ่งกานต์ (2552) ที่รายงานการศึกษาในปลานิลว่า การเสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์จะทำให้องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาได้แก่ไขมันสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์

3.1.3 ผลของการเสริมเอนไซม์ protease ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ ตับของปลาสวาย

ในการศึกษานี้พบว่า การเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ protease ซึ่งแตกต่างจากรายงานของรุ่งกานต์ (2552) ที่รายงานว่า การเสริมเอนไซม์ protease จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์ และ Lin *et al.* (2007) ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์รวม (neutral protease, β glucanase และ xylanase) ในปลานิลลูกผสมพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ protease จะสูงขึ้นตามปริมาณเอนไซม์รวมที่เพิ่มขึ้น ซึ่งผู้วิจัยได้ให้ข้อคิดเห็นว่า การเสริมเอนไซม์จะกระตุ้นให้ปลาหลั่งเอนไซม์มากขึ้น ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์จะเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตปลา

3.1.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้เอนไซม์ protease ในอาหารปลาสวาย

การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease ในอาหารปลาสวายที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับต่างๆ ไม่ทำให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาสวายแตกต่างกันนั้น ผลการทดลองดังกล่าวมีทั้งที่สอดคล้องและแตกต่างจากงานวิจัยอื่นๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น

แหล่งของเอนไซม์ protease ที่ใช้ และสูตรอาหาร (Drew *et al.*, 2005) ใน การศึกษานี้เป็นเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่นเดียวกับ รุ่งกานต์ (2552) ในขณะที่การศึกษานี้ จะมีการใช้เอนไซม์ commercial protease ตัวเดียวหรือใช้ร่วมกับ เอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ทั่วไปในสัตว์บก

ขบวนการผลิตอาหารที่ต่างกันจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารด้วย เนื่องจากอาหารในการทดลองนี้จะใช้การอัดเม็ดด้วย mincer ในขณะที่รุ่งกานต์ (2552) ใช้การอัดเม็ดลอยจึงทำให้ประสิทธิภาพการย่อยกากถั่วเหลืองสูงด้วย ซึ่ง Cheng and Hardy (2003) ได้ศึกษาผลของ ขบวนการ ผลิตอาหารแบบเม็ดลอยน้ำต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา rainbow trout พบว่า ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร(น้ำหนักแห้ง)ของกากถั่วเหลืองจะเพิ่มขึ้น จาก 75 เปอร์เซ็นต์เป็น 78 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานย่อยได้เพิ่มจาก 79 เปอร์เซ็นต์เป็น 82 เปอร์เซ็นต์

ในขณะที่ Barrows *et al.* (2007) รายงานว่าการผลิตอาหารเม็ดลอยที่อุณหภูมิ 127 องศาเซลเซียส และผ่านเครื่องอัดเม็ดลอยเป็นเวลา 18 วินาทีจะทำให้ปลา rainbow trout มีน้ำหนักเพิ่มสูงขึ้น และมีอัตราแลกเปลี่ยนเนื้อต่ำ

ปลาแต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่างกัน เช่น เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลืองแบบ *in vitro* ระหว่างการใช้เอนไซม์ protease จากปลาสาวยในการศึกษานี้ กับ การใช้เอนไซม์ protease จากปลานิลในการศึกษาของรุ่งกานต์ (2552) พบว่าเอนไซม์จากปลานิลจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองดีกว่าปลาสาวย

วิธีในการผสมเอนไซม์ด้วยการพ่นอาจทำให้ปริมาณเอนไซม์ที่ได้รับไม่ตรงตามปริมาณที่ใช้ และประกอบการใช้เอนไซม์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการดังนั้นในระหว่างการเตรียมอาหารจะทำให้มีการสูญเสียเอนไซม์ด้วย

ดังนั้นในการศึกษาการเสริมเอนไซม์ต่อไปควรมีการทดลองใช้เอนไซม์ทางการค้า การทดสอบปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม วิธีการผสมเอนไซม์ในอาหาร การศึกษาขอบเขตการผลิตอาหาร รวมทั้งการใช้กากถั่วเหลืองชนิดอื่น ๆ เพื่อให้การใช้เอนไซม์ในอาหารที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองมีผลทำให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสาวยเพิ่มขึ้น

3.2 การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ

การศึกษากการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชในปลาสาวยยังไม่มีรายงานเผยแพร่เป็นเอกสาร ในขณะที่ปลาอื่นจะมีการทดลองใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นกันมานานแล้ว ซึ่งผลการทดลองจะมีความแตกต่างกัน ตามชนิดของกากถั่วเหลืองและชนิดของปลา เนื่องจาก ปลาแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการใช้กากถั่วเหลืองได้แตกต่างกัน

3.2.1 ผลของการทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ของอาหาร

การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนบางส่วนหรือทั้งหมดในอาหารปลาสายวัยรุ่นพบว่า การทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ จะไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสายวัยแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งผลการทดลองนี้จะสอดคล้องกับผลการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนทั้งหมดหรือบางส่วนในปลาหลายชนิด เช่น อาหารสำหรับปลา blue catfish (*Ictalurus furcatus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองได้ 48 เปอร์เซ็นต์ (Webster *et al.*, 1992) อาหารสำหรับปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) และ Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนได้ในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ (Li *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2012) ในขณะที่รายงานผลสำเร็จในการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาปนได้ทั้งหมดมีน้อยมาก เช่น การเลี้ยงปลา channel catfish ในบ่อดิน ซึ่ง Robinson and Li (1994) แนะนำว่าสามารถใช้อาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองทั้งหมด และ Goda *et al.* (2007) รายงานว่าอาหารสำหรับปลา African catfish (*Clarias gariepinus*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนได้ทั้งหมด

การที่ไม่สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนทั้งหมดสาเหตุหนึ่งที่สำคัญคือ กากถั่วเหลืองจะมีกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิดต่ำ เช่น methionine และ lysine ดังนั้นจึงมีงานวิจัยจำนวนมากต้องการลดข้อจำกัดเรื่องกรดอะมิโนของกากถั่วเหลืองโดยการศึกษาเสริมกรดอะมิโน หรือเพิ่มแหล่งโปรตีนอื่นเข้าไปในสูตรอาหารเพื่อปรับสมดุลของกรดอะมิโน เช่น ในปลา tiger puffer (*Takifugu rubripes*) มีการทดลองทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยเนื้อหอย (blue mussel) และกากถั่วเหลืองอย่างละ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า จะทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของอาหารดีกว่าการใช้กากถั่วเหลืองในระดับ 20 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียว (Kikuchi and Furuta, 2009) และเมื่อมีการเสริมกรดอะมิโน lysine และ methionine ในสูตรอาหารของปลาชนิดนี้ ทำให้สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาปนได้เพิ่มเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ (Lim *et al.*, 2011) ส่วนปลานิลลูกผสมที่ได้รับอาหารที่เสริม methionine ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลือง จะมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริม methionine (Shiau *et al.*, 1987) รายงานว่า ส่วนปลา Hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 55 เปอร์เซ็นต์ ปลาปน 13 เปอร์เซ็นต์ และเสริม methionine จะทำให้น้ำหนักเพิ่ม ประสิทธิภาพอาหาร และประสิทธิภาพของ

โปรตีนในอาหารดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมกรดอะมิโน (Savolainen and Galtin, 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นทั้งหมดในอาหารปลา blue catfish ได้โดยการเสริม methionine ในสูตร (Webster *et al.*, 1995)

การศึกษาในปลาสาวยัยรุ่นพบว่า เมื่อมีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของปลาสาวยัยจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม การเจริญเติบโตที่ลดลงนี้อาจเนื่องมาจาก ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราแลกเนื้อที่สูงขึ้น และประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารที่ต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม ซึ่งจะสอดคล้องกับการศึกษาของปลาหลายชนิดเช่น ปลา tin foil barb (Elangovan and Shim, 2000) ปลา tiger puffer (Lim *et al.*, 2011) และ Chinese sucker (Yu *et al.*, 2012) ที่พบว่า การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในปริมาณสูงจะทำให้อัตราแลกเนื้อสูงขึ้นและประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารต่ำลง

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้การเจริญเติบโตของปลาสาวยัยรุ่นลดลงเมื่อมีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มี 2 ปัจจัยคือ สารต้านโภชนาในกากถั่วเหลือง และ ความสมดุลของกรดอะมิโนในกากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนาหลายชนิด เช่น protease inhibitor, lectin, phytic acid, non-starch polysaccharides และ saponine ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา (Francis *et al.*, 2001)

trypsin inhibitor ซึ่งเป็นสารต้านโภชนาที่ทำให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของอาหารลดลง ในปลา channel catfish พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณ trypsin inhibitor จะทำให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารของปลาลดลง (Wilson and Pole, 1985) และ ในปลา rainbow trout พบว่าอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 40 เปอร์เซ็นต์จะมีปริมาณของ trypsin inhibitor สูงพอที่จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง (Hart *et al.*, 2010)

phytic acid ซึ่งเป็นสารต้านโภชนาในกากถั่วเหลืองจะขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุหลายชนิดเช่น แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี เหล็กและ ฟอสฟอรัส (Lanari *et al.*, 1998; Storebakken *et al.*, 1998) ฟอสฟอรัสในกากถั่วเหลืองจะอยู่ในรูปไฟเตททำให้สัตว์นำเข้าไปใช้

ประโยชน์ได้น้อยมาก จึงมีการนำเอนไซม์ไฟเตสมาใช้เพื่อช่วยให้สัตว์น้ำมีการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น ดังเช่นที่ Lanari *et al.* (1998) รายงานว่า ปลา rainbow trout มีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสในกากถั่วเหลืองต่ำกว่าในปลาป่น และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสทำให้ประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสสูงขึ้น และ Satoh *et al.* (1989) รายงานว่า ถ้าในอาหารมีปริมาณของ phytate 1.1 – 2.2 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ น้ำหนักเพิ่ม และประสิทธิภาพของอาหาร รวมทั้งปริมาณของ สังกะสีในกระดุกปลา channel catfish ลดลง

กากถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ oligosaccharides 5 เปอร์เซ็นต์ (sucrose, stachyose และ raffinose มีปริมาณ 5, 4 และ 1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) แป้ง 1 เปอร์เซ็นต์ และ non-starch polysaccharide (NSP) 20 เปอร์เซ็นต์ (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) NSP ส่วนใหญ่จะประกอบด้วย cellulose, hemicellulose, pectin และ oligosaccharide เช่น stachyose และ raffinose ซึ่งสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric) จะไม่สามารถย่อยและดูดซึมสารเหล่านี้ได้ NSP จะส่งผลกระทบต่อการย่อยอาหาร (Refstie *et al.*, 1999) NSP ที่ละลายน้ำจะมีผลต่อสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยาของอวัยวะย่อยอาหาร เนื่องจาก NSP จะมีความหนืดที่จะทำให้ขัดขวางการแพร่และการขนส่งเอนไซม์ และสารอาหาร (Farhangi and Cater, 2007) และทำให้เวลาของอาหารที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal evacuation) นานขึ้น เช่นในปลา Atlantic salmon พบว่าอาหารควบคุมที่ไม่มีกากถั่วเหลืองจะอยู่ในทางเดินอาหารเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในขณะที่อาหารที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นจะอยู่ในทางเดินอาหารของปลา 20 ชั่วโมง ซึ่งจะส่งผลทำให้การกินอาหารและการย่อยอาหารของปลาลดลง (Storebakken *et al.*, 1999)

ทั้งนี้จากการสังเกตพฤติกรรมของปลาสาวยในระหว่างการให้อาหาร พบว่า ปลา กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 0 และ 50 % จะว่ายน้ำเข้ามากินอาหารเร็ว และกินในปริมาณที่มากกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 75 และ 100 % ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า ความน่ากินของอาหาร (palatability) จะลดลงเมื่อปริมาณของกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารมากขึ้น ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก saponin ในกากถั่วเหลืองที่ทำให้อาหารมีรสขม และปลากินอาหารน้อยลง เช่นเดียวกับที่ Kikuchi and Furuta (2009) รายงานว่า เมื่อเพิ่มระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อาหารมีความน่ากินลดลง และส่งผลให้ปลา tiger puffer กินอาหารน้อยลง ส่วน Boonyaratpalin *et al.* (1998) สรุปผลการทดลองไว้ว่า ถ้ามีการปรับปรุงความน่ากินของอาหารสำหรับปลากะพงที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลือง จะทำให้สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 37.5 เปอร์เซ็นต์

กรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิดในกากถั่วเหลืองมีปริมาณน้อย ได้แก่ methionine และ lysine ดังนั้นการทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงจะทำให้อาหารสูตรนั้นมีสมดุลของกรดอะมิโนไม่เหมาะสมกับปลา การขาด lysine จะทำให้ความอยากกินอาหาร (appetite) และการเจริญเติบโตลดลง ส่วน methionine มีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน และเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของปลา การขาด methionine จะทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของอาหารลดลง ดังนั้นในสูตรอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลา ปนตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ควรมีการเสริมกรดอะมิโนเพื่อช่วยให้การเจริญเติบโตของปลา และประสิทธิภาพของอาหารดีขึ้น (Savolainen and Galtin, 2010)

3.2.2 ผลของการทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา และค่า HSI

การทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองในระดับต่าง ๆ ไม่มีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาของแต่ละกลุ่มทดลองแตกต่างกันเช่นเดียวกับที่พบในปลา blue catfish (Webster *et al.*, 1992) แต่ในปลา tin foil barb (*Barbodes altus*) พบว่า เมื่อมีปริมาณของกากถั่วเหลืองมากขึ้นความชื้นในเนื้อปลาจะเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณไขมันในเนื้อจะลดลง (Elangovan and Shim, 2000) นอกจากนี้ยังไม่มีผลต่อค่า HSI ของทุกกลุ่มทดลองด้วย ซึ่งสอดคล้องกับที่ Hung *et al.* (2003) ปลาสาวยจะสะสมไขมันในอวัยวะภายในโดยเฉพาะบริเวณช่องทาง และในเนื้อของปลา แต่จะไม่มีการสะสมไขมันในตับซึ่งจะแตกต่างจากที่พบในปลาทะเลทั่วไป

3.2.3 ผลของการทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อการกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาสาวย

สารต้านโคหะนะในกากถั่วเหลืองอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารลดลง ในการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และ ตับ ของปลาสาวย มีค่าลดลงเมื่อปริมาณของกากถั่วเหลืองเพิ่มมากขึ้น ในปลาหลายชนิด protease inhibitor สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ trypsin และ protease ชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้ trypsin inhibitor ก่อนข้างจะมีผลกระทบต่อปลามาก โดย trypsin inhibitor จะจับกับ เอนไซม์ trypsin ทำให้เกิดภาวะการขาดเอนไซม์ trypsin ดังนั้นประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจึงลดลง (Yu *et al.*, 2012) มีรายงานว่า ความสามารถในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ trypsin และ alkaline

protease ของสารต้านโภชนาจะแตกต่างกันตามชนิดของปลา นอกจากนี้ phytic acid เป็นสารต้านโภชนาที่จับกับโปรตีนทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ pepsin และ trypsin ลดลง ซึ่งจะส่งผลทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนลดลงด้วย (Gatlin *et al.* 2007)

3.2.4 ผลของการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ และตับของปลาซวาย

ผลการศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า ลำไส้ของปลาซวายที่ได้รับกากถั่วเหลือง 75 และ 100 % มีปริมาณของ Absorption vacuole น้อยและมีขนาดแตกต่างกันมาก ซึ่งสอดคล้องกับที่ Burrells *et al.* (1999) รายงานว่า เมื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนกากถั่วเหลืองในอาหารปลา rainbow trout มากกว่า 50 % จะทำให้ขนาดของ Absorption vacuole ในลำไส้ มีความแตกต่างกันมาก ส่วน Van den Ingh *et al.* (1991) รายงานว่า ปลา Atlantic salmon ที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองไขมันเต็ม ทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ปริมาณของ Absorption vacuole มีน้อยมาก ซึ่งเกิดจากสารต้านโภชนาในกากถั่วเหลือง คือ protease inhibitors หรือ soybean lectin ในขณะที่ Sealey *et al.* (2009) พบว่าปลา rainbow trout ที่กินอาหารที่มีกากถั่วเหลืองอยู่ในสูตรอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณ Absorption vacuole และการเจริญเติบโต น้อยกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่มีกากถั่วเหลืองในสูตร 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวนของ Absorption vacuole จะบอกถึงความสามารถในการดูดซึมโปรตีนและไขมัน

ส่วนในเนื้อเยื่อตับปลาซวายทุกกลุ่มทดลองไม่พบเซลล์ที่ผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับค่า HIS ของทุกกลุ่มทดลองที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.3 ต้นทุนราคาอาหารปลาซวายที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์

จากผลการศึกษาข้างต้นแสดงว่า อาหารสำหรับปลาซวายขนาดเริ่มต้น 20 กรัม สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ 50 % ซึ่งจะทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดลง จากสูตรควบคุมกิโลกรัมละ 1.62 บาท (ราคาค้นทุนวัตถุดิบ ปลาป่น 32.21บาทต่อกิโลกรัม กากถั่วเหลือง 12.88 บาทต่อกิโลกรัม รำละเอียด 9 บาทต่อกิโลกรัม ปลาข้าว 12 บาทต่อกิโลกรัม น้ำมันปลา 50.56 บาทต่อกิโลกรัม น้ำมันพืช 35 บาทต่อกิโลกรัม อัลฟาสตาร์ช 30 บาทต่อกิโลกรัม วิตามินรวม 100 บาทต่อกิโลกรัม แร่ธาตุรวม 100 บาทต่อกิโลกรัม และแกลบราคา 5 บาทต่อ

กิโลกรัม) ความแตกต่างของราคาอาหารจะขึ้นกับราคาของปลาป่นและกากถั่วเหลืองที่มีการขึ้นลงตลอดเวลา สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย (2555) รายงาน ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์ต่อกิโลกรัม ประจำเดือนมีนาคม 2555 ดังนี้ ปลาป่นนำเข้า 44.99 บาท ปลาป่นในประเทศ 32.21 บาท กากถั่วเหลืองในประเทศไม่มีสินค้านี้ตั้งแต่ปี 2554 และกากถั่วเหลืองนำเข้า 12.88 บาท ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นราคาสำหรับโรงงานผลิตอาหารสัตว์ ซึ่งหากเกษตรกรทั่วไปซื้อราคาจะแตกต่างจากนี้ ดังนั้นก่อนการผลิตอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองจะต้องมีการศึกษาต้นทุนราคาวัตถุดิบทุกครั้ง นอกจากนี้ น้ำมันปลายังเป็นวัตถุดิบชนิดหนึ่งที่มีราคาสูง โดยในช่วงเดือนมีนาคม 2555 น้ำมันปลาราคา 50.56 บาทต่อกิโลกรัม (สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย, 2555) ซึ่งในการทดลองนี้ อาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองจะมีการเพิ่มปริมาณของน้ำมันปลาเพื่อปรับปริมาณของกรดไขมันในอาหารสูตรทดแทนน้ำมันที่ได้จากปลาป่น จึงมีส่วนทำให้ราคาของอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองมีราคาสูงขึ้นทำให้ราคาไม่ต่างกับอาหารสูตรควบคุมมากนัก ดังนั้นหากมีการทดลองใช้แหล่งของไขมันอื่นเพื่อลดการใช้ น้ำมันปลาจะทำให้ราคาของอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นมีราคาลดลงด้วย

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. กิจกรรมของเอนไซม์ acid protease และ lipase พบตั้งแต่ลูกปลาเริ่มฟัก ส่วนเอนไซม์ amylase พบเมื่อลูกปลามีอายุ 1 วัน ในขณะที่ alkaline protease พบเมื่อลูกปลามีอายุ 3 วัน
2. รูปแบบของการพัฒนาของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase พบว่ามี 2 ระยะคือ ระยะที่ 1 ลูกปลามีอายุ 0 – 13 วัน และ ระยะที่ 2 ลูกปลามีอายุ 13 – 21 วัน โดยระยะแรกกิจกรรมของเอนไซม์จะมีค่าผันแปร ส่วนในระยะที่สองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุของลูกปลา
3. กิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาสาวยัยรุ่นทั้งสองขนาดมีพีเอชที่เหมาะสมคือพีเอช 3 ซึ่งจัดเป็น acid protease ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้ส่วนต้นของปลาทั้งสองขนาดมีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงที่พีเอชเป็นด่างคือพีเอช 11 และ 12 ซึ่งจัดเป็น alkaline protease สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากตับปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมมีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอชที่เป็นด่างคือพีเอช 10 และ 12 ซึ่งจัดเป็น alkaline protease แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากตับปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัมมีพีเอชอยู่ในช่วงที่เป็นกรดคือพีเอช 6 ซึ่งจัดเป็น acid protease และพีเอชในช่วงที่เป็นด่างคือพีเอช 8 ซึ่งจัดเป็น alkaline protease ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในลำไส้ส่วนปลายมีน้อยมาก
4. กิจกรรมของเอนไซม์ amylase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของ ปลาสาวยัยรุ่นทั้งสองขนาดมีพีเอชที่เหมาะสมคือพีเอช 7 ซึ่งจัดเป็น neutral amylase
5. กิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัม และ 30 กรัม มีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอชที่เป็นด่างคือพีเอช 12, 9 และ 12 ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 10 กรัมมีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงที่พีเอชเป็นด่าง คือพีเอช 9 สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่สกัดจากตับของปลาสาวยัยรุ่นขนาด 30 กรัมพบว่า มีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงที่พีเอชเป็นด่าง คือพีเอช 11 และ 12

6. อวัยวะที่มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ amylase มากที่สุดคือ ดับ รองลงมาเป็น ลำไส้ส่วนต้น กระเพาะอาหาร และ ลำไส้ส่วนปลาย ตามลำดับ
7. อวัยวะที่มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ lipase มากที่สุดคือ ดับ รองลงมาได้แก่ กระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้น ในขณะที่ลำไส้ส่วนปลายมีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์น้อยที่สุด
8. อวัยวะของปลาสวายขนาด 10 กรัมที่มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease มากที่สุด คือ ลำไส้ส่วนต้น รองลงมาเป็นเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารและตับ และ เอนไซม์ protease ที่สกัดจากลำไส้ส่วนปลาย ตามลำดับ ส่วนอวัยวะของปลาสวายวัยรุ่นขนาด 30 กรัมที่มีผลรวมของกิจกรรมของเอนไซม์ protease มากที่สุดคือ กระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้น รองลงมาคือเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้ส่วนปลาย และเอนไซม์ที่สกัดจากตับ
9. กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ลำไส้ ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาสวายขนาด 30 กรัมมีค่าสูงกว่าปลาสวายขนาด 10 กรัม กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายวัยรุ่นจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปลาอายุมากขึ้น
10. เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาสวายขนาด 10 และ 30 กรัม และที่ สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vitro* สูงที่สุดในปลาป่น รองลงมาได้แก่กากเมสึดทานตะวัน กากคาโนลา กากถั่วเหลือง และ DDGS
11. เอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาสวายขนาด 30 กรัมมีประสิทธิภาพ การย่อยโปรตีนแบบ *in vitro* ปลาป่นสูงกว่าปลาขนาด 10 กรัม แต่ประสิทธิภาพในการย่อย โปรตีนในกากถั่วเหลือง กากเมสึดทานตะวัน กากคาโนลา และ DDGS ของปลาทั้งสองขนาดไม่ ต่างกัน แสดงว่าปลาขนาด 30 กรัมมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีน จากสัตว์สูงกว่าปลาขนาด 10 กรัม ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่ง โปรตีนจากพืชของปลาทั้งสองขนาดไม่แตกต่างกัน
12. ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนใน กากถั่วเหลือง กากเมสึด ทานตะวัน และ กากคาโนลาของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp.มีค่าอย่างน้อย 50 % คือ 0.05 U/กรัมโปรตีนของวัตถุดิบ

13. การเสริมหรือไม่เสริมเอนไซม์ protease ที่สกัดจากเอนไซม์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลืองในระดับ 0, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ไม่ทำให้ค่าการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพของการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา HSI และกิจกรรมของเอนไซม์ protease ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร ถ้าใส่ส่วนต้น ถ้าใส่ส่วนปลาย และ ดับของปลาแต่กลุ่มทดลองแตกต่างกัน

14. กากถั่วเหลืองที่สามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนร่วมกับปลาปนในอาหารของปลาสาวยัยรุ่น โดยสามารถทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยกากถั่วเหลือง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดลง 1620 บาทต่อตัน โดยอาหารควรมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับพลังงาน 2,800 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบว่า ลูกปลาสาวยัยอ่อนมีกิจกรรมของทั้งเอนไซม์ acid protease, amylase และ lipase ตั้งแต่ระยะแรกของการพัฒนาของลูกปลาหรือหลังจากปากเปิด กิจกรรมของเอนไซม์ในระยะสองสัปดาห์แรกของระยะการเจริญเติบโตจะมีค่าผันแปรและมีค่าค่อนข้างต่ำ ดังนั้นในระยะนี้จึงควรอนุบาลลูกปลาด้วยอาหารมีชีวิต ร่วมกับอาหารอื่นที่ย่อยได้ง่ายเช่น ไข่แดงหรืออาหารสำเร็จรูปที่ประกอบด้วยวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ย่อยง่ายเช่น โปรตีนไฮโดไลเซตจากปลา หมึก และเคย โดยค่อย ๆ เพิ่มปริมาณของอาหารสำเร็จรูป และลดปริมาณของอาหารมีชีวิตลงจนกระทั่งใช้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ซึ่งจะต้องมีการทดลองเพิ่มเติมเพื่อศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเปลี่ยนจากอาหารมีชีวิตเป็นอาหารสำเร็จรูปเพื่อไม่ให้มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลา ในระยะต่อมาเมื่อลูกปลาอายุ 13 – 21 วัน กิจกรรมของเอนไซม์ protease, amylase และ lipase มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแสดงว่าการพัฒนาอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารสมบูรณ์แล้ว ลูกปลามีความสามารถในการย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันได้ดีขึ้น ดังนั้นจึงสามารถพัฒนาสูตรอาหารที่มีคุณภาพดีโดยใช้วัตถุดิบที่มีความหลากหลายมากขึ้น ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนค่าอาหารได้ อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสูตรอาหารมีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสม ซึ่งลูกปลาสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกปลา

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสาวยัยสามารถนำไปใช้ในการทดสอบความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์แบบ *in vitro* เพื่อเป็นการคัดเลือก

วัตถุดิบต่าง ๆ ที่สามารถใช้ทดแทนปลาป่นที่มีราคาแพง และนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารทดลอง เลี้ยงปลาสาวยเพื่อศึกษาผลต่อการเจริญเติบโตของปลาต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของปลาสาวยด้วยวิธี *in vitro* ด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากเหง้าอาหารของปลาสาวย และ เอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย สามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกวัตถุดิบที่จะใช้ในสูตรอาหารได้ ทั้งนี้อาจมีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vivo* โดยเฉพาะการรวบรวมมูลของปลาสาวย เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการอ้างอิงและปรับปรุงให้การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยแบบ *in vitro* รวดเร็ว และน่าเชื่อถือมากขึ้น เพื่อลดชุดการทดลองในการศึกษาผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลา

การทดลองในครั้งนี้ใช้วัตถุดิบกากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก ซึ่งทดแทนปลาป่นได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นงานวิจัยต่อไป ควรมีการศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองชนิดอื่นเช่น กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยสารเคมี ถั่วเหลืองไขมันเต็ม ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรา หรือ ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง เช่น แป้งถั่วเหลือง และ โปรตีนจากถั่วเหลือง การศึกษาการเสริมกรดอะมิโนในสูตรอาหาร การศึกษาการใช้แหล่งโปรตีนอื่นร่วมกับกากถั่วเหลือง และการศึกษาการใช้เอนไซม์ commercial protease หรือเอนไซม์อื่น ๆ เพื่อปรับปรุงสูตรอาหารให้สามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้มากขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2554. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2554. แหล่งที่มา: http://www.fisheries.go.th/it-stat/data_2554, 20 เมษายน 2555.

_____. ม.ป.ป. การเพาะเลี้ยงปลาสร้อย. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

จันทกานต์ นุชสุข. 2550. การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลาสร้อยหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng&Kottelat, 2000. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประเสริฐ สิตะสิทธิ์, มะลิ บุญรัตผลิน และ นันทิยา อุ้นประเสริฐ. 2525. อาหารปลา. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ประเมษฐ์ มุสิการุณ. 2550. การคัดเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิคการย่อยในห้องปฏิบัติการและการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปใช้ทดแทนปลาป่นในอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิมล จันทรโรทัย. 2535. อาหารที่ระดับโปรตีนต่างกันแต่พลังงานคงที่ต่อการเจริญเติบโตและไขมันสะสมในปลาสร้อย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 124. สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ.

วินัส บุญรัตผลิน. 2505. ส่วนประกอบของอาหารในกระเพาะและลำไส้ปลาบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รพีพร สุทาธรรม. 2548. ตลาดการค้าปลาทูโลก (Pangasius). วารสารสถาบันอาหาร 8 (45): 20-25.

รุ่งกานต์ กล้าหาญ. 2552. กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมปอง หิรัญวัฒน์. 2523. ชีวประวัติของปลาซวาย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2523. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย. 2555. ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์. แหล่งที่มา: <http://www.thaifeedmill.com/tabid/78/Default.aspx>, 20 เมษายน 2555.

อภิชาติ เต็มวิชชากร. พัฒนาการและการจำแนกชนิดของปลาไว้อ่อนในวงศ์ปลาซวาย (Pangasiidae). เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2540. สถาบันพิพิธภัณฑธรรมชาติวิทยาสัตว์น้ำ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2531. การเพาะขยายพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ai, Q., K. Mai, W. Zhang, W. Xu, B. Tan, C. Zhang and H. Li. 2007. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Comp. Biochem. Physiol. A.** 147: 502-508.

Alvarez-González, C.A., M. Cervantes-Trujano, D. Tovar-Ramírez, D.E. Conklin, H. Nolasco, E. Gisbert and R. Piedrahita. 2006. Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae. **Fish Physiol. Biochem.** 31: 83–93.

- Alvarez-González, C.A., F.J. Moyano-López, R. Civera-Cerecedo, V. Carrasco-Chávez, J.L. Ortiz-Galindo and S. Dumas. 2008. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*. 1. Biochemical analysis. **Fish Physiol. Biochem.** 34: 373–384.
- Anonymous. 2007. Feed ingredient use in Vietnam soaring. **Feed and Livestock** 4 (2): 37-38
- AOAC. 1998. Animal Feed, pp. 1-28. In W.R. Windham, ed. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. AOAC International Suite 500, Maryland.
- Aslaksen, M.A., O.F. Kraugerud, M. Penn, B. Svihus, V. Denstadli, H.Y. Jønenes, M. Hillestad, Å Krogdahl and T. Storebakken. 2007. Screening of nutrient digestibilities and intestinal pathologies in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with legumes, oilseed, or cereals. **Aquaculture** 272: 541–555.
- Baras, E., J. Slembrouck, C. Cochet, D. Caruso and M. Legendre. 2010. Morphological factors behind the early mortality of cultured larvae of the Asian catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. **Aquaculture** 298: 211–219.
- Barrows, F.T., D.A.J. Stone and R.W. Hardy. 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 265: 244–252
- Bone, Q. and R.H. Moore. 2008. **Biology of Fish**. 3rd ed. Taylor & Francis Group, New York.
- Boonyaratpalin, M., P. Suraneiranat and T. Tunpibal. 1998. Replacement of fish meal with Various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture** 161: 67–78
- Borlongan, I.G. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. **Aquaculture** 89: 315 - 325.

- Burrells, C., P.D. Williams, P.J. Southgate and V.O. Crampton. 1999. Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 72: 277–288
- Cara, J.B., F.J. Moyano, S. Cárdenas, C. Fernández-Díaz and M. Yúfera. 2003. Assessment of digestive enzyme activities during larval development of white bream. **J. Fish Biol.** 63: 48–58.
- Cater, C.G., M.P. Bransden, R.J. van Barneveld, S.M. Clarke. 1999. Alternative method for nutrition research on the southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*: *in vitro* digestibility. **Aquaculture** 179: 57–70.
- Chakrabarti, R. and R.M. Rathore. 2010. Ontogenic changes in the digestive enzyme patterns and characterization of proteases in Indian major carp *Cirrhinus mrigala*. **Aquacult. Nutr.** 16: 569–581
- _____, _____ and S. Kumar. 2006. Study of digestive enzyme activities and partial characterization of digestive protease in a freshwater teleost, *Labeo rohita*, during early ontogeny. **Aquacult. Nutr.** 12: 35–43.
- Chen, B.N., J.G. Qin, M.S. Kumar, W.G. Hutchinson and S.M. Clarke. 2006. Ontogenetic development of digestive enzymes in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. **Aquaculture** 260: 264–271.
- Cheng, Z.J. and R.W. Hardy. 2003. Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquac. Nutr.** 9:77–83.

- Chong, A.S.C., R. Hashim and A.B. Ali. 2002a. Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodon aequifasciata*) using *in vivo* and *in vitro* methods. **Aquacult. Nutr.** 8: 229 -238.
- _____, _____, L. Chong-Yang and A. B. Ali. 2002b. Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). **Aquaculture** 203: 321-333.
- Chuapoehuk, W. 1994. Development of low protein high energy practical diet for sutchi catfish *Pangasius suichi* Fowler. **Thai. J. Agric. Sci.** 27:19-25
- _____ and T. Pothisoong. 1985. Protein requirements of catfish fry, *Pangasius sutchi* Fowler, pp.103-106. In C. Y. Cho, C. B. Cowey and T. Watanabe, eds. **Finfish Nutrition in Asia**. IDRC-233e. International Development Research Center, Ottawa.
- Clark, J., N.L. MacDonald and J.R. Stark. 1985. Metabolism in marine flatfish: II. Protein digestion in Dover sole (*Solea solea* L.). **Comp. Biochem. Physio.** 81: 217-222.
- Clements K.D. and D. Raubenheimer. 2006. Feeding and Nutrition, pp. 47-82. In D. H. Evans and J.B. Claiborne, eds. **The Physiology of fish**. 3rd ed. Taylor and Francis Group, London.
- Comabella, Y., R. Mendoza, C. Aguilera, O. Carrillo, A. Hurtado and T. García-Galano. 2006. Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. **Fish Physiol. Biochem.** 32: 147-157
- Corsin, F. 2008. **Pangasius aquaculture aquadialogues**. Available Source: <http://www.worldwildlife.org/what/globalmarkets/aquaculture/WWFBinaryitem6779.pdf>, 24 January 2008

- Das, K.M. and S.D. Tripathi. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). **Aquaculture** 92: 21 - 32.
- Dawson, R.M., D.C. Elliott, W.H. Elliott and K.M. Jones. 1986. **Data for Biochemical Research**. 3rd ed. Clarendon Press, New York
- De Silva, S.S. and T.A. Anderson. 1995. **Fish Nutrition in Aquaculture**. Chapman & Hall, London.
- Dimes, L.E. and N.F. Harrod. 1994. Estimation of protein digestibility – I. Development of an *in vitro* method for estimating protein digestibility in salmonids (*Salmo gairdneri*). **Comp. Biochem. Physiol. A**. 108: 349-362.
- Dosanjh, N.S. and J. Kaur. 2002. Biochemical analysis of a native and proteolytic fragment of a high-molecular-weight thermostable lipase from a mesophilic *Bacillus* sp. **Protein Expres. Purif.** 24: 71–75.
- Drew, M. D., V. J. Racz, R. Gauthier and D. L. Thiessen. 2005. Effect of adding protease to coextruded flax: pea or conola: pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Anim. Feed Sci. Technol.** 119: 117-128.
- Eid, A.E. and A.J. Matty. 1989. A simple *in vitro* method for measuring protein digestibility. **Aquaculture** 79: 111 - 119.
- Elangovan, A. and K.F. Shim. 2000. The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile tin foil barb (*Barbodes altus*). **Aquaculture** 189: 133 - 144.
- 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.

- Farhangi, M. and C. G. Carter. 2007. Effect of enzyme supplementation to dehulled lipin-based diet on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquac. Res.** 38: 1274-1282
- Fernández, I., F.J. Moyano, M. Díaz and T. Martínez. 2001. Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 261: 1-12
- Francis, G., H. P. S. Makkar and K. Becker. 2001. Antinutritional factors present in plant-Derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture** 199: 197-227.
- Furné, M., M.C. Hidalgo, A. López, M. García-Gallego, A.E. Morales, A. Domezain, J. Domezainé and A. Sanz. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. **Aquaculture** 250: 391-398.
- Gatlin, D.M., F.T. Barrows, P. Brown, K. Dabrowski, T.G. Gaylord, R.W. Hardy, E. Herman, G. Hu, Å. Krogdahl, R. Nelson, K. Overturf, M. Rust, W. Sealey, D. Skonberg, E.J. Souza, D. Stone, R. Wilson and E. Wurtele. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquacult. Res.** 38: 551-579.
- Gisbert, E., G. Giménez, I. Fernández, Y. Kotzamanis and A. Estévez. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. **Aquaculture** 287: 381-387.
- Goda, A.M., E.R. El-Haroun and M.A.K. Chowdhury. 2007. Effect of totally or partially replacing fish meal by alternative protein sources on growth of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) reared in concrete tanks. **Aquac. Res.** 38: 279-287.

Guerreiro, I., M. de Vareilles, P. Pousão-Ferreira, V. Rodrigues, M.T. Dinis and L. Ribeiro.

2010. Effect of age at weaning on digestive capacity of white seabream (*Diplodus sargus*). **Aquaculture** 300: 194–205

Hansen A., G. Rosenlund, Ø. Karlsen, W. Koppe and G. Hemre. 2007. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I- Effects on growth and protein retention. **Aquaculture** 272: 599 - 611.

Hart, S.D., A.S. Bharadwaj and P.B. Brown. 2010. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 306: 310- 314.

Hertrampf, J.W. and F. Piedad-Pascual. 2000. **Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Hidalgo, M.C., E. Urea and A. Sanz. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture** 170: 267-283.

Hung, L.T., J. Lazard, C. Mariojouis and Y. Moreau. 2003. Comparison of starch utilization in fingerlings of two Asian catfishes from the Mekong river (*Pangasius bocourti* Sauvage, 1880, *Pangasius hypophthalmus* Sauvage, 1987). **Aquacult. Nutr.** 9: 215-222.

_____, N. Suhenda, J. Slembrouck, J. Lazard and Y. Moreau. 2004. Comparison of dietary protein and energy utilization in three Asian catfishes (*Pangasius bocourti*, *P. hypophthalmus* and *P. djambal*). **Aquacult. Nutr.** 10: 317- 326.

Islam, A. 2005. Embryonic and larval development of Thai Pangas (*Pangasius sutchi* Fowler, 1937). **Develop. Growth Differ.** 47: 1–6.

- Jonas, E., M. Ragyanssszki, J. Olah and L. Boross. 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis* L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and omnivorous (*Cyprinus carpio* L.) fishes. **Aquaculture** 30: 145-154
- Katsivela, E., F. Kleppe, S. Lang and F. Wagner. 1995. *Ustilago maydis* lipase I. Hydrolysis and ester synthesis activities of crude enzyme preparation. **Enzyme Microb. Tech.** 17: 739–745.
- Kikuchi, K. and T. Furuta. 2009. Use of defatted soybean meal and blue mussel meat as substitute for fish meal in the diet of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. **J. World Aquacul. Soc.** 40: 472–482.
- Kim, B.G., S. Divakaran, C.L. Brown and A.C. Ostrowski. 2001. Comparative digestive enzyme ontogeny in two marine larval fishes: Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) and bluefin trevally (*Caranx melampygus*). **Fish Physiol. Biochem.** 24: 225–241.
- Klahan, R., N. Areechon, R. Yoonpundh and A. Engkagul. 2009. Characterization and activity of digestive enzymes in different sizes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 43: 143 - 153
- Kuz'mina, V.V. 1996. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. **Aquaculture** 148: 25-37.
- Lanari, D., E. D'Agaro and C. Turri. 1998. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 161: 345- 356.
- Lazo, J.P., G.J. Holt and C.R. Arnold. 2000. Ontogeny of pancreatic enzymes in larval red drum *Sciaenops ocellatus*. **Aquacult. Nutr.** 6: 183 -192.

- Lazo, J.P., R. Mendoza, G.L. Holt, C. Aguilera and C.R. Arnold. 2007. Characterization of digestive enzymes during larval development of red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture** 265: 194–205.
- Li, M.H., E.H. Robinson, D.F. Oberle and P.M. Lucas. 2010. Effects of various corn distillers byproducts on growth, feed efficiency, and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquacult. Nutr.** 16: 188-193.
- Li, Y., Q. Ai, K. Mai, W. Xu and Z. Cheng. 2012. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by two types of soybean meals on the growth performance of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier 1828). **Aquac. Res.** 43: 458–466.
- Lim, S., S. Kim, G. Ko, J. Song, D. Oh, J. Kim, J. Kim and K. Lee. 2011. Fishmeal replacement by soybean meal in diets for tiger puffer, *Takifugu rubripes*. **Aquaculture** 313: 165-170.
- Lin, S., K. Mai and B. Tan. 2007. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquac. Res.** 38: 1645 – 1653
- López-Ramírez, G., C.A. Cuenca-Soria, C.A. Alvarez-González, D. Tovar-Ramírez, J.L. Ortiz-Galindo, N. Perales-García, G. Márquez-Couturier, L. Aris-Rodríguez, J.R. Indy, W.M. Contreras-Sánchez, E. Gisbert and F.J. Moyano. 2011. Development of digestive enzymes in larvae of Mayan cichlid *Cichlasoma urophthalmus*. **Fish Physiol. Biochem.** 37: 197-208
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193: 265–275.

- Lozano, N.B.S., A. T. Vidal, S. Martínez-Llorens, S.N. Mérida, J.E. Blanco, A.M. López, M.P. Torres and M.J. Cerdá. 2007. Growth and economic profile of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed sunflower meal. **Aquaculture** 272: 528-534.
- Marsman, G.J.P., H. Gruppen, A.F.B. Van Der Poel, R.P. Kwakkel, M.W.A. Verstegen and A.G.J. Voragen. 1997. The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities, and chyme characteristics in broiler chicks. **Poult. Sci.** 76: 864-872
- Martínez, I., F.J. Moyano, C. Fernández-Díaz and M. Yúfera. 1999. Digestive enzyme activity during larval development of the Senegal sole (*Solea senegalensis*). **Fish Physiol. Biochem.** 21: 317-323.
- Mérida, S.N., A. Tomás-Vidal, S. Martínez-Llorens and M.J. Cerdá. 2010. Sunflower meal as a partial substitute in juvenile sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) diets: Amino acid retention, gut and liver histology. **Aquaculture** 298: 275-281.
- Munilla-Moran, R. and F. Saborido-Rey. 1996. Digestive enzymes in marine species. I. proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Comp. Biochem. Physiol. B.** 113: 395-402.
- Murray, L. H., S.P. Lall, R. Rajaselvam , L.A. Boutilier, B. Blanchard, R.M. Flight, S. Colombo, V. Mohindra and S.E. Douglas. 2010. A nutrigenomic analysis of intestinal response to partial soybean meal replacement in diets for juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, L.. **Aquaculture** 298: 282-293.
- Natalia, Y., R. Hashim, A. Ali and A. Chong. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). **Aquaculture** 233: 305-320.

- Nayak, J., P.G. V. Nair, K. Ammu and S. Mathew. 2003. Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita* Hamilton), oil sardine (*Sardinella longiceps* Linnaeus), mullet (*Liza subviridis* Valenciennes) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta* Cuvier). **J. Sci. Food Agr.** 83: 1139-1142.
- 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.
- Oozeki, Y. and K.M. Bailey. 1995. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. **Mar. Biol.** 122: 177–186.
- Paripatananont, T. 2002. Snakehead and pangasius catfish, pp.396-401. In C.D. Webster and C. Lim.(eds). **Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture**. CABI Publishing, New York.
- Payoocha, K. 2002. **Impact of feeding strategies on the growth and flesh quality of striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*)**. Ph.D. Thesis, Asian Institute of Technology.
- Rathore, R.M., S. Kumar and R. Chakrabarti. 2005. Digestive enzyme profile of *Cyprinus carpio* during ontogenic development. **World Aquac.** 36: 37– 41.
- Rahman, M.M., Md. S. Islam and M. Tanaka. 2006. Effects of stocking density and low-cost conventional diet on the growth, yield and profitability in the cage culture of Sutchi catfish, *Pangasius suichi*. **World Aquaculture** 37 (4): 6-13
- Refstie, S., B. Svihus, K. D. Shearer, and T. Storebakken. 1999. Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products. **Anim. Feed Sci. Technol.** 30: 331–345

Ridmontri, C. 2002. Quata growing in Vietnam. **Asian Aquaculture Magazine** May/June: 34-35.

Robinson, E.H. and M.H. Li. 1994. Use of plant proteins in catfish feeds: replacement of soybean meal with cottonseed meal and replacement of fish meal with soybean meal and cottonseed meal. **J. World Aquacul. Soc.** 25: 271– 276.

_____, B.B. Manning and M. H. Li. 2004. Feed and Feeding practice, pp. 324-348. *In* Tucker, C.S. and J.A. Hargreaves, eds. **Biology and Culture of Channel Catfish**. Elsevier, Amsterdam.

Rubio, L.A., A. Brenes and C. Centeno. 2003. Effects of feeding growing broiler chickens with practical diets containing sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) seed meal. **Br. Poult. Sci.** 44: 391-397.

Rust, M.B. 2002. Nutritional Physiology, pp. 368–453. *In* J.E. Halver and R.W. Hardy, eds. **Fish Nutrition**. Academic Press, Amsterdam.

Sabapathy U. and L. Teo. 1994. Some properties of the intestinal protease of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). **Fish Physiol. Biochem.** 14: 215 – 221

Satoh, S., W. E. Poe and R. P. Wilson. 1989. Effect of supplemental phytate and/or tricalcium phosphate on weight gain, feed efficiency and zinc content in vertebrae of channel catfish. **Aquaculture** 80: 155- 161.

Savolainen, L. C. and D. M. Gatlin. 2010. Evaluation of sulfur amino acid and zinc supplements to soybean-meal-based diets for hybrid striped bass. **Aquaculture** 307: 260-265

- Sealey, W.M., F.T. Barrows, C.E. Smith, K. Overturf and S.E. LaPatra. 2009. Soybean meal level and probiotics in first feeding fry diets alter the ability of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to utilize high levels of soybean meal during grow-out. **Aquaculture** 293: 195-203.
- Shiau, S., J. Chuang and C. Sun. 1987. Inclusion of soybean meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) diets at two protein levels. **Aquaculture** 65: 251-261.
- Steffens, W. 1989. **Principle of Fish Nutrition**. Ellis Horwood Ltd., Chichester.
- Stoll, V.S. and J.S. Blanchard. 1990. Buffer: Principle and Practice, pp. 24-38. In M.P. Deutscher, ed. **Method in Enzymology vol. 183**, Guide to Protein Purification. Academic Press, Inc., London.
- Storebakken, T., K.D. Shearer and A.J. Roem. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture** 161: 365- 379.
- _____, I.S. Kvien, K.D Shearer, B. Grisdale-Helland and S. J. Helland. 1999. Estimation of gastrointestinal evacuation rate in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using inert markers and collection of faeces by sieving: evacuation of diets with fish meal, soybean meal or bacterial meal. **Aquaculture** 172: 291-299.
- Suzer, C., S. Aktülün, D. Çoban, H.O. Kamacı, Ş. Saka, K. Firat and A. Alpbaz. 2007. Digestive enzyme activities in larvae of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). **Comp. Biochem. Physiol. A**. 148: 470–477
- Tonheim, S.K., A. Nordgreen, I. Høgøy, K. Hamre and I. Rønnestad. 2007. *In vitro* digestibility of water-soluble and water-insoluble protein fractions of some common fish larval feeds and feed ingredients. **Aquaculture** 262: 426-435.

- Van den Ingha, T.S.G.A.M., Krogdahlb Å, J.J. Ollib, H.G.C.J.M. Hendriks and J.G.J.F. Koninkx. 1991. Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study. **Aquaculture** 94: 297-305.
- Vega-Villasante, F., I. Fernández, R.M. Preciado, M. Oliva, D. Tovar and H. Nolasco. 1999. The activity of digestive enzymes during the molting stages of the arched swimming *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 (Crustacea:Decapoda:Portunidae). **Bull. Mar. Sci.** 65:1-9.
- Vielma, J., K. Ruohonen and M. Peisker. 2002. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**. 204:145-156.
- Webster, C.D., D.H. Yancey and J.H. Tidwell. 1992. Effect of partially or totally replacing fish meal with soybean meal on growth of blue catfish (*Ictalurus furcatus*). **Aquaculture** 103: 141-152.
- _____, L.S. Goodgame-Tiu and J.H. Tidwell. 1995. Total replacement of fish meal by soy bean meal, with various percentages of supplemental L-methionine, in diets for blue catfish, *Ictalurus furcatus* (Lesueur). **Aquac. Res.** 26: 279-287.
- Wilson, R.P. and W.E. Poe. 1985. Effects of feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. **Aquaculture** 46: 19- 25.
- Yilmaz, M. and R. Ikiz. 2006. Effect of dietary enzyme supplement on growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., 1758). **Eur. J. Fish. Aquat. Sci.** 23: 323-326.
- Yu, D. H., S.Y. Gong, Y.C. Yuan and Y.C. Lin. 2012. Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth, body composition and digestive enzyme activities of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquacult. Nutr.** Doi: 10.1111/j.1365-2095.2012.00945.x



ตารางผนวกที่ 1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 10 กรัมในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	0.403 ± 0.066^d	0.709 ± 0.408^{bc}	0.427 ± 0.151	0.246 ± 0.031^d
3	6.331 ± 0.231^a	2.416 ± 0.668^{ef}	0.160 ± 0.075	0.470 ± 0.094^d
4	4.819 ± 0.231^b	2.547 ± 0.037^{def}	0.223 ± 0.042	0.335 ± 0.094^b
5	1.715 ± 0.577^c	2.075 ± 0.408^f	0.427 ± 0.098	0.335 ± 0.031^d
6	0.694 ± 0.031^d	3.493 ± 0.185^{bcd}	0.427 ± 0.151	0.850 ± 0.063^d
7	0.285 ± 0.057^d	3.362 ± 0.520^{bcde}	0.533 ± 0.302	3.245 ± 0.538^b
8	0.449 ± 0.057^d	2.810 ± 0.111^{cdef}	0.340 ± 0.122	0.828 ± 0.031^d
9	0.500 ± 0.073^d	3.572 ± 0.222^{bc}	0.373 ± 0.075	0.828 ± 0.810^d
10	0.367 ± 0.057^d	2.127 ± 0.780^f	0.266 ± 0.075	3.358 ± 0.538^b
11	0.530 ± 0.057^d	3.992 ± 0.445^{ab}	0.694 ± 0.377	1.969 ± 0.253^c
12	0.418 ± 0.073^d	4.596 ± 0.111^a	0.427 ± 0.151	4.095 ± 0.158^a
<i>P</i> -value	0.000	0.000	0.302	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	2.173 ± 0.865^{ab}	0.644 ± 0.319^a	4.341 ± 0.752^{bc}	3.244 ± 1.755^c
3	35.903 ± 3.223^c	7.460 ± 2.408^{bc}	6.295 ± 0.752^{ab}	1.622 ± 0.594^d
4	24.848 ± 3.321^d	9.486 ± 3.552^b	2.388 ± 0.434^{cd}	0.908 ± 0.594^d
5	2.928 ± 0.865^{ab}	8.012 ± 2.924^b	3.183 ± 0.663^{cd}	1.427 ± 0.594^d
6	3.212 ± 0.327^{ab}	4.420 ± 0.552^c	4.341 ± 1.565^{bc}	4.412 ± 0.979^{ab}
7	1.984 ± 0.566^{ab}	1.105 ± 0.552^a	0.434 ± 0.434^e	0.129 ± 0.224^d
8	0.944 ± 0.327^b	4.697 ± 1.462^c	7.959 ± 3.049^a	5.839 ± 1.557^a
9	0.472 ± 0.327^b	9.578 ± 0.844^b	6.078 ± 1.148^{ab}	4.152 ± 0.810^d
10	0.850 ± 0.566^b	13.205 ± 0.197^d	6.729 ± 0.752^a	0.973 ± 0.389^d
11	4.440 ± 0.865^a	14.459 ± 0.233^d	4.414 ± 0.250^{bc}	0.454 ± 0.224^d
12	1.417 ± 0.566^b	4.697 ± 1.657^c	1.736 ± 0.434^d	0.259 ± 0.224^d
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 10 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	0.000 ± 0.000^k	0.011 ± 0.001^j	0.001 ± 0.000^i	0.000 ± 0.000^k
3	0.002 ± 0.001^j	0.005 ± 0.001^k	0.015 ± 0.001^g	0.047 ± 0.004^i
4	0.003 ± 0.001^j	0.011 ± 0.001^j	0.008 ± 0.001^h	0.027 ± 0.001^j
5	0.035 ± 0.001^h	0.070 ± 0.001^h	0.031 ± 0.001^f	0.715 ± 0.000^f
6	0.187 ± 0.001^d	0.319 ± 0.001^d	0.152 ± 0.001^b	0.880 ± 0.001^b
7	0.398 ± 0.001^a	0.446 ± 0.001^a	0.192 ± 0.001^a	0.892 ± 0.001^a
8	0.336 ± 0.001^b	0.353 ± 0.001^b	0.118 ± 0.001^c	0.815 ± 0.001^d
9	0.240 ± 0.003^c	0.314 ± 0.001^e	0.088 ± 0.001^d	0.822 ± 0.001^c
10	0.043 ± 0.001^f	0.083 ± 0.001^f	0.016 ± 0.002^g	0.677 ± 0.001^g
11	0.007 ± 0.001^i	0.021 ± 0.002^i	0.001 ± 0.000^i	0.479 ± 0.001^h
12	0.131 ± 0.001^e	0.346 ± 0.001^c	0.055 ± 0.008^e	0.772 ± 0.001^e
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 4 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส $\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 30 กรัมในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{U min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	0.007 ± 0.003^a	0.002 ± 0.003^a	0.001 ± 0.000^a	0.011 ± 0.009^a
3	0.018 ± 0.003^a	0.014 ± 0.014^{ab}	0.003 ± 0.002^a	0.032 ± 0.046^a
4	0.032 ± 0.010^{ab}	0.169 ± 0.027^b	0.049 ± 0.014^{ab}	0.744 ± 0.070^b
5	0.185 ± 0.003^d	0.733 ± 0.068^c	0.147 ± 0.015^d	1.686 ± 0.013^{de}
6	0.594 ± 0.012^e	1.759 ± 0.070^g	0.360 ± 0.008^f	1.753 ± 0.003^e
7	1.163 ± 0.073^f	2.547 ± 0.174^a	0.547 ± 0.004^h	3.211 ± 0.001^h
8	0.858 ± 0.011^g	1.205 ± 0.161^f	0.352 ± 0.006^f	1.711 ± 0.002^e
9	0.366 ± 0.035^h	1.085 ± 0.042^f	0.282 ± 0.020^e	1.705 ± 0.004^e
10	0.304 ± 0.040^h	0.625 ± 0.149^e	0.134 ± 0.021^{cd}	1.636 ± 0.041^d
11	0.084 ± 0.005^c	0.487 ± 0.008^c	0.064 ± 0.001^{cb}	1.508 ± 0.030^c
12	0.068 ± 0.009^{cb}	0.437 ± 0.056^c	0.034 ± 0.001^{ba}	1.453 ± 0.011^c
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส $\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 10 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	0.245 ± 0.081^d	0.450 ± 0.080^{df}	0.548 ± 0.060^c	0.515 ± 0.068^d
3	0.039 ± 0.043^e	0.1208 ± 0.062^g	0.027 ± 0.017^e	0.029 ± 0.006^d
4	0.044 ± 0.023^e	0.108 ± 0.025^g	0.288 ± 0.018^{de}	0.023 ± 0.006^d
5	0.012 ± 0.005^e	0.180 ± 0.096^{fg}	0.032 ± 0.016^e	0.022 ± 0.008^d
6	0.222 ± 0.076^d	0.691 ± 0.029^e	0.266 ± 0.090^{de}	0.300 ± 0.277^d
7	0.238 ± 0.110^d	0.395 ± 0.091^{ef}	0.407 ± 0.253^{de}	7.313 ± 0.212^b
8	0.628 ± 0.077^c	1.336 ± 0.285^c	0.523 ± 0.062^{cd}	7.481 ± 0.110^b
9	0.839 ± 0.126^b	3.252 ± 0.311^a	1.601 ± 0.466^b	21.456 ± 0.957^a
10	0.228 ± 0.130^d	1.485 ± 0.165^c	0.856 ± 0.345^c	1.542 ± 0.551^c
11	0.453 ± 0.209^c	0.299 ± 0.185^{fg}	0.211 ± 0.036^{de}	0.487 ± 0.067^d
12	1.574 ± 0.134^a	2.566 ± 0.215^b	2.387 ± 0.804^a	0.487 ± 0.067^d
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส $\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ของปลาสร้อย 30 กรัม ในช่วงพีเอช 2-12

pH	กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)			
	กระเพาะอาหาร	ลำไส้ส่วนต้น	ลำไส้ส่วนปลาย	ตับ
2	0.342 ± 0.133^h	2.562 ± 1.036^{ef}	0.358 ± 0.120^c	3.012 ± 0.173^{bce}
3	4.685 ± 0.043^{ef}	2.066 ± 0.339^f	0.254 ± 0.161^e	0.348 ± 0.028^c
4	0.204 ± 0.055^h	0.206 ± 0.031^f	0.425 ± 0.212^e	5.301 ± 0.914^{bce}
5	0.541 ± 0.354^h	2.372 ± 0.328^f	0.876 ± 0.310^d	6.712 ± 2.804^b
6	4.361 ± 0.345^f	4.746 ± 0.617^{de}	1.753 ± 0.482^c	5.678 ± 1.782^{bce}
7	5.409 ± 0.558^e	5.699 ± 0.984^{cd}	1.753 ± 0.482^{bc}	7.068 ± 0.896^b
8	6.596 ± 0.227^d	7.999 ± 0.384^{bc}	2.065 ± 0.072^b	5.636 ± 1.881^{bce}
9	13.768 ± 0.1578^b	20.631 ± 3.904^a	3.736 ± 0.181^a	7.195 ± 1.619^b
10	14.266 ± 0.263^b	6.483 ± 0.194^{bcd}	1.326 ± 0.155^c	1.081 ± 0.760^{ce}
11	11.759 ± 0.5296^c	4.958 ± 0.226^d	0.828 ± 0.304^d	33.841 ± 4.545^a
12	22.008 ± 1.219^a	8.114 ± 0.865^b	3.858 ± 0.097^a	34.119 ± 6.608^a
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยกำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวดิ่งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางวรรณภา รังสินธุ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	4 กรกฎาคม 2511
สถานที่เกิด	จังหวัดนครสวรรค์
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ประมง) คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการประมง
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนการศึกษาแก่บุคลากรด้านการวิจัยการเกษตร สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การ มหาชน)