การคัดเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิคการย่อยในห้องปฏิบัติการ และการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)

Selection of Soybean Products Using *in vitro* Digestion Technique and Replacement of Fishmeal with Soybean Products in Diets for Yellow Catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชุติมา ตันติกิตติ
ศาสตราจารย์ ดร. สุทธวัฒน์ เบญจกุล

ภาควิชาวาริชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

26 พฤษภาคม 2551

บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลองคือ 1) การคัดเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ โดยการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง และ 2) การนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับ 1 และ 2 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลากดเหลือง

การทดลองที่ 1 นำเมล็ดถั่วเหลืองต้ม (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที) กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองดิบ และปลาป่น บ่มกับเอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าโปรตีนในปลาป่นมีระดับการย่อยเฉลี่ยสูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองต้ม กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ ($p\leq0.05$) โดยมีระดับการย่อยสลายโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 10.21±0.42, 9.08±0.79, 7.76±0.77 และ 5.63±0.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 นำเมล็ดถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลากดเหลืองที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงปลากดเหลืองขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย 3.39 ถึง 3.50 กรัมต่อตัว ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชนิดของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง และระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ($p>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมี น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักอาหารที่กิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ใกล้เคียงกับชุดควบคุม ($p>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนทีโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโต และน้ำหนักอาหารที่กินต่ำที่สุด ($p<0.05$) ชนิดและระดับของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณโปรตีน ($p>0.05$) แต่มีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณไขมัน และเถ้าของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ($p<0.05$) ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่นเฉลี่ยเท่ากับ 87.83±1.07 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่น ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 83.35±3.83 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) และระดับการแทนที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนใกล้เคียงกับชุดควบคุม แต่มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำสุดเมื่อแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์

สำหรับต้นทุนการผลิตอาหาร พบว่าเมื่อมีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิดทดแทนปลาป่นในระดับสูงขึ้นทำให้ราคาอาหารลดลง และการใช้ถั่วเหลืองต้มมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำกว่ากากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน โดยการแทนที่ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยเท่ากับ 31.15$\pm$0.75 และ 33.22$\pm$1.47 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ถั่วเหลืองต้มทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นระดับที่เหมาะสมทั้งในแง่ผลผลิต และเศรษฐศาสตร์ ซึ่งเกษตรกรสามารถนำสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้ผลิตอาหารปลากดเหลือง เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อไป

ABSTRACT

The study was composed of two experiments; Experiment 1, a selection of soybean products by in vitro digestibility method using stomach protease extracts of yellow catfish and Experiment 2, substitution of fishmeal by soybean products in diets for yellow catfish.

In Experiment 1, boiled full fat soybean (at 100^{o}C for 30 minutes, BSB), defatted soybean meal (SBM), raw soybean (RSB) and fishmeal (FM) were incubated with stomach protease extract at 28 ^{o}C for 12 hours. Protein digestibility of fishmeal sample was significantly the highest (10.21±0.42%) followed by BSB (9.08±0.79%), SBM (7.76±0.77%) and RSB (5.63±0.82%), respectively

In Experiment 2, BSB and SBM were used to substitute 0, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 percent of fishmeal protein. The experimental diets were fed to triplicate groups of yellow catfish with an average initial weight of 3.39 – 3.50 g/fish for 8 weeks. There was no interaction between soybean products and substitution levels on growth performance and feed utilization ($p \geq 0.05$) but, there was significant differences under the same factor. The groups of fish fed BSB substituted diets had higher weight gain, specific growth rate, feed intake, feed efficiency, protein efficiency ratio and productive protein value than those of fish fed SBM substituted diets ($p \leq 0.05$). Moreover, fish fed diets with BSB and SBM replacing 10 % of fishmeal protein had good growth comparable to those fed the control diet while those fed 60% substituted diets had the poorest growth performance and feed intake. Both soybean products and substitution levels affected lipid and ash contents of fish however, body protein levels were not significantly different among treatments ($p \geq 0.05$). In vivo protein digestibility of fish fed diets with BSB substituted for fishmeal was higher than those of SBM substituted diets with average values of 87.83±1.07 and 83.35±3.83%, respectively. Replacing fishmeal at 10, 20, 30, 40 and 50% of fishmeal protein did not cause significant differences in protein digestibility while 60% replacement showed the lowest level of digestibility ($p \leq 0.05$).

Feed cost of diets decreased with increasing levels of soybean products replacing fishmeal. Lower cost was achieved when BSB was used in comparison with SBM. At 10% replacement, costs of diets with BSB and SBM were 31.15$\pm$0.75 and 33.22$\pm$1.47 baht/kg of fish, respectively. Therefore, BSB could be used to replace fishmeal at 10% of fishmeal protein with satisfying growth/production at reasonable cost which will benefit fish farmers.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสงขลา คุณวิชัย วัฒนกุล ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับการทดลองในส่วนของการเลี้ยงปลากดเหลือง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
รายการตาราง	vi
รายการภาพ	viii
1. บทนำ	1
2. การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ระบบย่อยอาหารของปลา	2
2.2 เอนไซม์ย่อยโปรตีน	3
2.3 การศึกษาระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอสสกัดจากอวัยวะย่อยอาหารของสัตว์น้ำ	4
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์โปรติเอสจากสัตว์น้ำ	5
2.5 การใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลา	6
3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	7
4. วิธีการทดลอง	
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับการย่อยโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง	8
4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ ในอาหารปลากดเหลือง	13
5. ผลการทดลอง	
5.1 การทดลองที่ 1	
5.1.1 ระดับ pH ในกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง	18
5.1.2 ปริมาณเอนไซม์โปรติเอสจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง	19
5.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส	19
5.1.4 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ	20
5.1.5 การย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบโดยใช้เอนไซม์สกัด	20
5.2 การทดลองที่ 2	
5.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	24
5.2.2 องค์ประกอบกรดอะมิโนของอาหาร	25
5.2.3 การเจริญเติบโต	26
5.2.4 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์	30
5.2.5 องค์ประกอบทางเคมีของปลา	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.2.6 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน	37
5.2.7 ราคาอาหารและต้นทุนการผลิต	39
5.2.8 คุณภาพน้ำ	40
6. วิจารณ์ผลการทดลอง	41
7. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	48
8. เอกสารอ้างอิง	49

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. องค์ประกอบของอาหารทดลอง (% as-fed basis)	15
2. พฤติกรรมการตอบสนองของปลากดเหลืองที่ได้รับการกระตุ้นโดยตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตในปริมาณและระยะเวลาต่าง ๆ	18
3. ระดับ pH ในกระเพาะอาหารปลากดเหลืองหลังกระตุ้นด้วยตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ระยะเวลาต่าง ๆ	19
4. ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สกัดจำนวน 2 ซ้ำ	20
5. องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ (% as-fed basis)	20
6. ปริมาณโปรตีนที่เหลือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ และระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบหลังการย่อยสลายโดยเอนไซม์	22
7. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (% as-fed basis)	24
8. องค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็นและกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น ในสูตรอาหารที่แทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 0 (สูตรควบคุม) 10 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (% as-fed basis)	25
9. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	28
10. การแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	29
11. น้ำหนักอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	32
12. การแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อน้ำหนักอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลากดเหลืองที่เลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์	34
13. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด)	36
14. ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	38

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15. ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิดแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	39
16. ราคาค่าอาหารและต้นทุนการผลิตต่อหน่วยการผลิตปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	40

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ละลายน้ำในวัตถุดิบแต่ละชนิด	23
2. การเจริญเติบโตของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	26
3. น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์	29
4. น้ำหนักอาหารที่ปลากินเฉลี่ย และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์เฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์	33
5. ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์	33

1. บทนำ

ในปัจจุบันธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคตามอัตราการเพิ่มขึ้นของประชากรโลกสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ความต้องการอาหารโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและสัตว์น้ำก็เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่ดีของมนุษย์ ขณะที่ผลผลิตจากการจับปลาในธรรมชาติลดลง เนื่องจากสาเหตุหลายประการ ได้แก่ ปริมาณสัตว์น้ำที่มีอยู่ในธรรมชาติลดน้อยลงจากการจับที่เกินขนาดในอดีต การทำการประมงที่ขาดความรับผิดชอบ เช่น การใช้เครื่องมือประมงที่ผิดกฎหมาย ได้แก่ การใช้ยาเบื่อ การลักลอบจับสัตว์น้ำในฤดูวางไข่ การใช้เครื่องมือประมงที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายทรัพยากรสัตว์น้ำและแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ และที่สำคัญที่สุดในภาวะปัจจุบัน คือ ราคาน้ำมันที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้การทำการประมงจากการจับจากธรรมชาติไม่คุ้มทุน

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเป็นธุรกิจหนึ่งที่เป็นที่นิยมของเกษตรกรอย่างกว้างขวาง และมีความสำคัญเพิ่มขึ้นในอนาคต ด้วยสาเหตุดังกล่าวข้างต้น จากสถิติผู้ประกอบการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในประเทศไทย ปี พ.ศ.2547 มีถึง 423,083 ราย คิดเป็นพื้นที่การเลี้ยง 896,879 ไร่ และสัตว์น้ำจืดที่ได้รับความนิยมจากเกษตรกรผู้เลี้ยง มีหลายชนิดได้แก่ ปลานิล ปลาดุก ปลาตะเพียนขาว ปลาสลิด ปลาสวาย ปลาช่อน และกุ้งก้ามกราม โดยปลาที่นิยมเลี้ยงกันมากที่สุดได้แก่ปลานิล รองลงมาได้แก่ ปลาดุก (กรมประมง, 2547) และในปัจจุบันมีปลากินเนื้ออีกชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้เลี้ยงเพิ่มขึ้นเป็นลำดับได้แก่ ปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) เนื่องจากปลากดเหลืองเป็นปลาที่มีรสชาติดี เลี้ยงง่ายเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศมาเลเซียและประเทศสิงคโปร์ ประกอบกับปลาชนิดนี้มีราคาค่อนข้างสูง โดยในท้องตลาดซื้อขายกันในราคากิโลกรัมละ 120-140 บาท

เกษตรกรนิยมเลี้ยงปลากดเหลืองในบ่อดินและในกระชัง โดยในการเลี้ยงส่วนใหญ่นิยมใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปปลาดุกที่มีระดับโปรตีนอยู่ระหว่าง 30-35 เปอร์เซ็นต์ (สุขาวดี, 2544) ซึ่งเหตุผลที่เกษตรกรใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปใช้เลี้ยงปลานั้นเนื่องจาก สามารถหาซื้ออาหารได้ง่ายในท้องตลาด เมื่อให้ปลากินปลายอมรับอาหารและมีการเจริญเติบโตที่ดีอีกทั้งสะดวกในการนำไปใช้และเก็บรักษา ในการผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีการใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอาหาร แต่ปริมาณการผลิตปลาป่นมีแนวโน้มลดลงไม่เพียงพอต่อความต้องการ และมีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากจำนวนประชากรปลาในธรรมชาติลดน้อยลง และต้นทุนในการจับปลาเพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันที่ราคาน้ำมันที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้มีความจำเป็นต้องหาวัตถุดิบชนิดอื่นมาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ซึ่งวัตถุดิบที่มีสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารปลานั้นมีทั้งที่ผลิตจากพืชและสัตว์ วัตถุดิบจากพืช เช่น ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ สำหรับวัตถุดิบจากสัตว์ เช่น เนื้อป่น เนื้อและกระดูกป่น และขนไก่ป่น เป็นต้น ดังนั้นการหาแหล่งโปรตีนอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งโปรตีนจากพืชเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำที่นำขึ้นมาใช้ทำปลาป่นให้น้อยลงและสามารถนำวัตถุดิบโปรตีนสูงจากพืชที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดอีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนอาหารให้ต่ำลงอีกด้วย โดยต้นทุนค่าอาหารสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นมีสูงถึง 50-60 เปอร์เซ็นต์ (Lovell, 1989)

การพิจารณาเลือกแหล่งโปรตีนจากพืชมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำนั้น คุณภาพโปรตีนในวัตถุดิบถือว่ามีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยวัตถุดิบนั้นต้องมีกรดแอมิโนชนิดจำเป็นในระดับที่เพียงพอและ

สัตว์น้ำสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด และดัชนีที่บ่งบอกถึงคุณภาพของโปรตีนในการนำไปใช้ประโยชน์ในสัตว์น้ำได้ดีอย่างหนึ่งคือการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบ โดยทั่วไปการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสัตว์น้ำ นักวิจัยอาหารสัตว์น้ำใช้โครมิกออกไซด์ผสมในอาหารที่มีวัตถุดิบที่ต้องการศึกษาและเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อเก็บรวบรวมมูล แล้วนำมูลมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยซึ่งเป็นวิธีที่นิยมอย่างมากในการหาค่าประสิทธิภาพการย่อยของสัตว์น้ำ และผลที่ได้สามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการใช้โปรตีนจากวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนได้ (วุฒิพร,2542) แต่วิธีการนี้ค่อนข้างใช้ระยะเวลานานอีกทั้งค่าใช้จ่ายในการดำเนินการทดลองค่อนข้างสูง Bassompierre และคณะ (1997) ได้ศึกษาคุณภาพโปรตีนโดยการนำเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลาเรนโบว์เทร้าท์ ทั้งในส่วนของกระเพาะอาหารและลำไส้มาทดสอบระดับการย่อยโปรตีนจากแหล่งโปรตีนต่าง ๆ เช่น โปรตีนจากสัตว์ และโปรตีนจากพืช ซึ่งผลจากการทดสอบระดับการย่อยโปรตีนที่ได้เป็นที่น่าเชื่อถือ ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายอีกทั้งยังสามารถนำผลการศึกษาระดับการย่อยโปรตีนที่ได้มาใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาเลือกใช้แหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพในอาหารปลาได้เป็นอย่างดี

การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการใช้เอนไซม์โปรติเอสสกัดจากกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง เพื่อทดสอบระดับการย่อยโปรตีนของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ และคัดเลือกวัตถุดิบที่มีระดับการย่อยสูงระดับที่หนึ่งและสองไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลากดเหลืองเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยในปลาและผลที่มีต่อการเจริญเติบโต

2. การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ระบบย่อยอาหารของปลา

ระบบทางเดินอาหารของปลาอาจจะมีความแตกต่างกันบ้างในด้านกายวิภาคหรือทางด้านสรีรวิทยาขึ้นอยู่กับชนิดของปลาและอุปนิสัยการกินอาหารของปลา ซึ่งโดยทั่วไประบบทางเดินอาหารของปลาจะประกอบด้วย ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร และลำไส้ โดยการย่อยอาหารของปลาเริ่มต้นจากเมื่อปลากินอาหารเข้าไปก็จะมีการย่อยขนาดของอาหารให้เล็กลง โดยฟันจะทำหน้าที่ในการบดอาหารขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงหลังจากนั้นอาหารจะเดินทางลงสู่หลอดอาหารเพื่อผ่านต่อไปยังกระเพาะอาหารและลำไส้ซึ่งเป็นอวัยวะที่สำคัญในการย่อยและดูดซึมสารอาหาร ในกระบวนการนี้เอนไซม์หรือน้ำย่อยมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการย่อยสารอาหารให้มีขนาดเล็กลงโดยในกระเพาะอาหารและลำไส้จะประกอบไปด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการย่อยสารอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสารอาหารโปรตีนให้มีขนาดเล็กที่สุดในรูปของกรดอะมิโน ซึ่งกระบวนการย่อยโปรตีนเริ่มต้นที่กระเพาะอาหารโดยเมื่ออาหารผ่านมาสู่กระเพาะอาหารหลังจากที่ถูกบดจนละเอียดแล้วกระเพาะอาหารจะหลั่งกรดเกลือไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปปซิโนเจน (pepsinogens) ให้เปลี่ยนเป็นเปบซิน (pepsin) ที่สามารถย่อยโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงโดยการแยกพันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโนออกจากกันให้เป็นสายสั้นๆ หลังจากนั้นก็จะย่อยต่อที่บริเวณลำไส้โดยที่ตับอ่อนและผนังลำไส้จะทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น ทริปซิโนเจน (trypsinogens) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ เอนเตอโรไคเนส (enterokinases) ให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์ทริปซิน (trypsin) เพื่อย่อยโปรตีนให้มีสายเปปไทด์ที่สั้นลงเรียกว่า เปปโตน (peptone) จากนั้นเอนไซม์หลายชนิดในกลุ่ม แอมิโนเปปติเดส (aminopeptidase) ที่ผลิตจากผนังลำไส้

จะย่อยเปปโตนให้เป็นโพลีเปปไทด์ ไตรเปปไทด์และไดเปปไทด์จนในที่สุดเป็นกรดอะมิโนซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสารอาหารโปรตีน (Bassompierre *et al*.,1997)

สำหรับเอนไซม์ที่ย่อยไขมันได้แก่ ไลเปส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยไตรกลีเซอไรด์ของโมเลกุลของไขมันให้มีขนาดเล็กลงจนเป็นกรดไขมันอิสระที่ปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่วนเอนไซม์เอสเทอเรส จะย่อยเอสเทอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย โดยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีแหล่งกำเนิดมาจากผนังลำไส้และตับอ่อน (De Silva and Anderson,1995) ส่วนเอนไซม์ที่สำคัญสำหรับย่อยคาร์โบไฮเดรตได้แก่ แอลฟาอะไมเลส ที่ได้จากการหลั่งมาจากผนังลำไส้ ผนังกระเพาะอาหาร ตับอ่อนเป็นต้น โดยความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตของปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกันค่อนข้างมาก ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการสร้างน้ำย่อย แอลฟาอะไมเลส เพื่อย่อยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดปลา เช่น ปลากินพืชสามารถสร้างน้ำย่อยแอลฟาอะไมเลสได้มากกว่าปลากินเนื้อ จึงส่งผลให้ปลากินพืชมีประสิทธิภาพในการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้มากกว่าปลากินเนื้อ ดังนั้นการใช้แป้งในอาหารปลากินเนื้อจึงใช้ได้ในระดับหนึ่งซึ่งน้อยกว่าการใช้ในอาหารปลากินพืช

2.2 เอนไซม์และคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยโปรตีน

เอนไซม์จัดเป็นกลุ่มโปรตีนชนิดหนึ่ง ที่มีคุณสมบัติพิเศษคือ มีความจำเพาะต่อสับสเทรท (substrate) สูงมาก ดังเช่นเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนจะไม่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของคาร์โบไฮเดรต หรือพันธะเอสเทอร์ในลิปิด และไม่สามารถย่อยสลายพันธะเปบไทด์ในโปรตีนได้ทั้งหมด (ปราณี, 2543) นอกจากนี้สับสเทรทจะต้องมีโครงสร้างที่เหมาะสมและสอดคล้องกับเอนไซม์และโคแฟกเตอร์ ซึ่งการย่อยสลายสับสเทรทของเอนไซม์นั้นมีลักษณะทางกายภาพคล้ายกับลูกกุญแจ (สับสเทรท) กับแม่กุญแจ (เอนไซม์ และโคแฟกเตอร์) โดยในการทำปฏิกิริยาเอนไซม์และโคแฟกเตอร์จะต้องจับกับสับสเทรทก่อนแล้วจึงเกิดการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสับสเทรท ได้เป็นผลผลิต ดังเช่น การใช้เอนไซม์โปรติเอสย่อยสลายโปรตีน เมื่อสับสเทรทมีโครงสร้างที่เหมาะสมและมีความจำเพาะต่อเอนไซม์แล้วก็จะมีการจับตัวกันและเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายได้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโนเป็นต้น

เอนไซม์โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปบติเดส โปรติเอส โปรติเนส เปบไทด์ไฮโดร-เลส เป็นต้น จัดเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในระบบการย่อยอาหารของสัตว์มีกระดูกสันหลัง โดยเอนไซม์โปรติเอสทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงเป็นโพลีเปบไทด์ หรือกรดอะมิโน (Walker *et al.*,1995) ลักษณะการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในแต่ละกลุ่มจะมีความจำเพาะต่อสับสเทรทที่แตกต่างกัน เช่น เอนไซม์ในกลุ่มเซรีนโปรติเอส ซึ่งประกอบด้วย α -chymotrypsin, trypsin, elastase เป็นต้น เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับพันธะเปบไทด์ในสายโปรตีนที่ประกอบด้วย lysine arginine phenylalanine tryptophan เป็นต้น ส่วนแอสปาร์ติกโปรติเอสเช่น เปบซิน จะมีความจำเพาะต่อพันธะเปบไทด์ที่ประกอบด้วย phenylalanine โดยการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์นี้มีทั้งการย่อยสลายพันธะเปบไทด์โดยอิสระ (randomly) ภายในสายโปรตีน (endopeptidases) และการย่อยพันธะเปบไทด์จากปลายสายโปรตีน (exopeptidases)

2.3 การศึกษาระดับการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาด้วยเอนไซม์โปรติเอสสกัดจากอวัยวะย่อยอาหารของสัตว์น้ำ

การนำวัตถุดิบชนิดต่างๆ มาใช้ในอาหารผสมสำหรับเลี้ยงปลานั้น คุณภาพของวัตถุดิบต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของปลาถือว่ามีความสำคัญที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนซึ่งปลาจำเป็นต้องนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเป็นแหล่งพลังงาน ในปัจจุบันแหล่งโปรตีนที่นิยมนำมาใช้ในอาหารผสมสำหรับปลามีอยู่ด้วยกันหลายแหล่งทั้งจากสัตว์และจากพืช

การเลือกวัตถุดิบชนิดใดมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพิจารณาถึงความสามารถของปลาในการย่อยและดูดซึมสารอาหารจากวัตถุดิบชนิดนั้นๆ มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งการทดสอบหาค่าระดับการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนด้วยเอนไซม์สกัดจากอวัยวะที่ใช้ในการย่อยอาหารของปลา เช่น กระเพาะอาหาร และลำไส้เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถประเมินได้ว่าวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนชนิดใดมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอาหารปลาได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนั้น วิธีการหาค่าระดับการย่อยโปรตีนด้วยกระบวนการทางเอนไซม์ดังที่กล่าวมาเป็นวิธีการที่เชื่อถือได้ ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายได้เป็นอย่างดีอีกด้วย (Dimes and Haard, 1994) ดังเช่นในการทดลองของ Dimes และคณะ (1994) ที่คัดเลือกแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพดีจากปลาป่นก่อนนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสำหรับปลาแซลมอน โดยการศึกษาหาค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนจากปลาป่นที่ได้จากแหล่งวัตถุดิบต่างๆกันได้แก่ Chilean FM Noruega, Chilean FM Negativo, Chilean FM Positivo, Norsea Mink, Herring meal โดยมี casein เป็นชุดควบคุม โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากไส้ติ่ง (pyloric cecae) ของปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ ระดับ pH 7.6 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีน โดยย่อยเป็นเวลา 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบปลาป่นที่ได้จาก Chilean FM Noruega, Chilean FM Negativo, Chilean FM Positivo มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงเป็นอันดับ 1,2 และ 3 ตามลำดับ (21.0, 19.9, 19.7 เปอร์เซ็นต์) สำหรับ Norsea Mink และ Herring meal มีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 17.5และ14.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับโดย casein ซึ่งเป็นชุดควบคุมมีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 25.3 เปอร์เซ็นต์

Bassompierre และคณะ (1997) ทดสอบหาค่าระดับการย่อยโปรตีนในปลาป่นที่มีระดับ water soluble protein ที่แตกต่างกันโดยการใช้เอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารและไส้ติ่งของปลาเรนโบว์เทร้าท์เป็นเอนไซม์ทดสอบพบว่า ปลาป่นที่มีระดับ water soluble protein เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 3.72 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาป่นที่มีระดับ water soluble protein 25 และ 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 3.49 และ 1.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทำให้ทราบว่าคุณภาพปลาป่นมีผลต่อระดับการย่อยโปรตีนเช่นกัน

นอกจากนักวิจัยอาหารสัตว์น้ำจะมีการใช้เอนไซม์สกัดเพื่อทดสอบหาค่าระดับการย่อยโปรตีนจากปลาป่นแหล่งต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกปลาป่นที่มีคุณภาพมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำแล้ว การทดสอบระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบจากพืชและในอาหารที่มีส่วนของวัตถุดิบจากพืชด้วยเอนไซม์สกัดเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้วัตถุดิบพืชเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ก็ได้รับความสนใจจากนักวิจัยอาหารสัตว์น้ำเช่นกัน ดังรายงานของ Grabner และ Hofer (1985) ซึ่งทดสอบคุณภาพของวัตถุดิบจากพืช 2 ชนิดได้แก่ ถั่วเหลือง (soya bean) และ Broad bean (*Vicia faba*) ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่ง โดยศึกษาระดับการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหาร

ของปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ระดับ pH 3.8 เป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่า ถั่วเหลืองมีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 27.1 เปอร์เซ็นต์ และ Broad bean มีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 16.8 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดสอบค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งปลาแซลมอน ในอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิดได้แก่ กากถั่วเหลือง (soy bean meal) และโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง (soy protein concentrate) ที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร พบว่า ระดับการย่อยสลายโปรตีนในสูตรอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 10.35 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับการย่อยโปรตีนในสูตรอาหารที่มีโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่น มีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 11.55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับสูตรควบคุมที่มีโปรตีนจากปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรควบคุมมีค่าระดับการย่อยโปรตีนเท่ากับ 12.42 เปอร์เซ็นต์ (Dimes and Haard,1994)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบอาหารโดยเอนไซม์โปรติเอสจากสัตว์น้ำ

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบโดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสสกัดนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายประการ เช่น วัตถุดิบ pH อุณหภูมิ และระยะเวลาในการย่อยสลายเป็นต้น

1. วัตถุดิบ

ชนิดและองค์ประกอบของวัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบ ความเข้มข้นของวัตถุดิบ มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีน โดย Bassompierre และคณะ (1997) กล่าวว่า ชนิดของวัตถุดิบมีผลต่อค่าระดับการย่อยสลายโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัตถุดิบที่มีสารต้านโภชนาการ (anti-nutritional) อยู่ในระดับสูงซึ่งพบได้ในวัตถุดิบจากพืชหลายชนิด โดยจากการทดลองของ Bassompierre และคณะ (1997) ได้แสดงให้เห็นว่าปลาป่นที่มีระดับ water soluble protein ที่ต่ำมีผลทำให้ค่าระดับการย่อยโปรตีนที่สูงกว่าปลาป่นที่มีระดับ water soluble protein สูงหลังจากการใช้เอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารและไส้ติ่งของปลาเรนโบว์เทร้าท์เป็นเอนไซม์ทดสอบ นอกจากนี้ปริมาณไขมันในวัตถุดิบยังมีผลต่อการย่อยสลายอีกด้วย วัตถุดิบที่มีระดับไขมันสูงอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นขึ้นในระหว่างการย่อยสลาย (Mackie,1982 อ้างโดย วิภาวรรณ, 2544) และวัตถุดิบที่มีส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากก็จะทำให้ค่าระดับการย่อยโปรตีนต่ำได้เช่น การทดลอง ของอัจฉริยา (2542) พบว่าค่าระดับการย่อยโปรตีนของเครื่องในปลาทูน่ามีค่าสูงกว่าค่าระดับการย่อยโปรตีนในหัวปลาทูน่า ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ให้เหตุผลว่า ในส่วนของหัวปลาทูน่ามีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากทำให้ยากต่อการบดและการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2. ระดับ pH ในสารละลายบัฟเฟอร์

ระดับ pH ที่เหมาะสมมีผลต่อเสถียรภาพและแอคติวิตีของเอนไซม์ กล่าวคือ ระดับ pH จะมีผลต่อการแตกตัวของอิออนของ prototropic group ที่อยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติ ซึ่งจะมีผลต่อการเบี่ยงเบนในการจับกับสับสเทรท หรือการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อการเกิดการจับตัวระหว่าง เอนไซม์กับสับสเทรท การแตกอิออนของสับ-สเทรทและโคแฟกเตอร์ซึ่งจะนำไปสู่การจับกับเอนไซม์ที่เปลี่ยนไปด้วย ดังนั้นในปฏิกิริยาจะต้องควบคุม pH ให้เหมาะสมสูงสุดที่ไม่ให้แอคติวิตีของเอนไซม์ถูกยับยั้ง ซึ่งโดยทั่วไปเอนไซม์โปรติเอสแต่ละชนิดจะมีระดับ pH ที่เหมาะสมต่อเสถียรภาพและแอคติวิตีที่แตกต่างกัน เช่น เปปซิน จะมีระดับ pH

ที่เหมาะสำหรับโปรตีนทั่วไป = 2 และมีความเสถียรของเอนไซม์ที่ pH = 2.5 ส่วน ทริปซินจะมีระดับ pH ที่เหมาะสำหรับโปรตีนทั่วไปอยู่ระหว่าง 7 – 11 เป็นต้น (ปราณี, 2543)

3. อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เลือกใช้ในการย่อยสลายโปรตีนควรเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มอัตราการเร่งปฏิกิริยาทำให้เอนไซม์มีการจับตัวกับสับสเทรทได้เร็วขึ้น และโดยปกติการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเร็วขึ้นเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปก็อาจจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพได้ ซึ่งการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์อาจทำได้โดยการบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ระยะเวลาหนึ่งเท่ากับเวลาของการวิเคราะห์และนำมาหาแอคติวิตีของเอนไซม์ในแต่ละอุณหภูมิ (ปราณี, 2543)

4. ระยะเวลาในการย่อยสลาย

ระยะเวลาในการย่อยสลาย มีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราส่วนของกรดอะมิโนไนโตรเจนต่อไนโตนเจนรวม วิภาวรรณ (2544) รายงานว่าโดยทั่วไประดับการย่อยสลายโปรตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเริ่มต้นของการย่อยสลาย และหลังจากนั้นระดับการย่อยสลายจะคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ปกติในการทดลองหาค่าระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบชนิดต่างๆ โดยการใช้เอนไซม์สกัดจากสัตว์น้ำนั้นผู้วิจัยมักจะกำหนดระยะเวลาในการย่อยสลายโดยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติที่สัตว์น้ำแต่ละชนิดใช้เวลาจริงๆในการย่อยอาหารในกระเพาะอาหารหรือลำไส้

2.5 การใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลา

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่นักวิจัยอาหารสัตว์น้ำพบว่าสามารถนำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำได้ดีแหล่งหนึ่ง (แพรวพรรณและดรุณี, 2542) โดยพบว่าเมื่อมีการนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำชนิดต่างๆในระดับที่เหมาะสมแล้วสามารถทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี และอัตราการรอดตายสูง ใกล้เคียงกับสูตรอาหารควบคุมที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว เช่น ปลากะพงขาว (จูอะดีและมะลิ, 2538 ; มะลิและคณะ, 2539) ปลานิล (Viola *et al.,* 1988; Shiau *et al.,*1987; Wee and Shu, 1989) เป็นต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในขณะที่ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์กำลังประสบปัญหาขาดแคลน และราคาสูง การนำโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำจึงเป็นหนทางหนึ่งที่สามารถลดการใช้ปลาป่นให้ลดน้อยลงซึ่งเป็นผลดีต่อปริมาณทรัพยากรสัตว์น้ำโดยเฉพาะประชากรปลาที่นำมาใช้ทำปลาป่นให้คงอยู่ตลอดไป รวมถึงการนำเอาผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่าแต่ระดับการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำที่เหมาะสมจะต้องขึ้นอยู่กับชนิด ปริมาณและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองด้วย ซึ่งชนิดและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำมีดังนี้

1) กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

เป็นวัตถุดิบอาหารที่มีโปรตีนสูงโดย Sitasit (1993) ได้รายงานว่าโปรตีนในกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในประเทศไทย มีมากกว่า 42 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันจะมีคุณค่าทางโภชนาการดีกว่าถั่วเหลืองที่อัดน้ำมัน เนื่องจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันได้ผ่านกระบวนการผลิตโดยใช้ความร้อนสูงทำให้สามารถทำลายสารยับยั้ง ทริปซินได้เกือบทั้งหมด อีกทั้งยังจะป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาเหม็นหืนอีกด้วย (วีรพงศ์, 2536) ในปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะนำกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ซึ่งเป็นวัตถุดิบโปรตีนสูงจากพืชมาผสมในอาหารปลาเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่นซึ่งมีราคาแพงโดย

Chuapoehuk และคณะ (1997) พบว่า กากถั่วเหลืองสามารถนำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำได้ถึง 30 - 50 เปอร์เซ็นต์

2) เมล็ดถั่วเหลือง

เมล็ดถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการที่ใกล้เคียงกับกากถั่วเหลือง แต่ วีรพงศ์ (2536) ได้แนะนำว่า ควรจะนำเมล็ดถั่วเหลืองผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 30 นาที ก่อนเพื่อช่วยลดสารยับยั้งทริปซิน แล้วนำไปบดให้ละเอียดและต้องใช้ที่บดแล้วให้หมดด้วย เนื่องจากเมล็ดถั่วเหลืองที่เหลือใช้เมื่อเก็บไว้อาจจะทำให้เหม็นหืนได้

ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองจะมีระดับโปรตีนสูงเหมาะสำหรับนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำแต่ Chuapoehuk และคณะ (1997) พบว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในปริมาณสูงหรือนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงเกินไปมีแนวโน้มว่าสัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงทั้งนี้เนื่องจากถั่วเหลืองมีปัจจัยต่างๆที่เป็นปัจจัยจำกัด ดังต่อไปนี้

1. ความไม่สมดุลของกรดแอมิโนในถั่วเหลือง โดยในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทุกชนิดจะมีกรดแอมิโน methionine ในปริมาณน้อยไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ในขั้นตอนของการแยกน้ำมัน หรือการทำให้ถั่วเหลืองสุก ถั่วเหลืองจะได้รับความร้อนทำให้ปริมาณของกรดอะมิโน lysine ที่สัตว์น้ำสามารถใช้ได้มีปริมาณลดลงเนื่องจากปฏิกิริยา browning reaction ระหว่าง lysine กับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลือง

2. ถั่วเหลืองดิบมีเอนไซม์ยูริเอส (urease) ซึ่งจะย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองให้สลายไปเรื่อยๆ หากเก็บไว้นานปริมาณโปรตีนจะลดลง (พันทิพา, 2538)

3. ถั่วเหลืองดิบมีสารต้านโภชนาการ (anti–nutritional factor) หลายชนิด เช่น protease inhibitor (trypsin inhibitor), phytohaemaglutinins, phytic acid และ saponins เป็นต้น (Tacon, 1992) ในบรรดาสารเหล่านี้ trypsin inhibitor เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญที่สุด ซึ่งทำปฏิกิริยาขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ trypsin ในการย่อยโปรตีนโดยจะรวมตัวกับ trysinogen ที่ตับอ่อนผลิตออกมาทำให้เอนไซม์ enterokinase ของลำไส้เล็กไม่สามารถเปลี่ยน trypsinogen เป็น trypsin ได้มีผลทำให้การย่อยโปรตีนไม่สมบูรณ์ (จารุรัตน์, 2528)

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาระดับการย่อยโปรตีนของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลากดเหลืองเพื่อเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับการย่อยโปรตีนสูงมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลากดเหลือง

2. ศึกษาผลของระดับการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงแทนที่ปลาป่นในอาหารต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากดเหลือง

3. ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารที่ใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่ระดับต่างๆ

4. วิธีการศึกษา

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆ ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง

1) การหาระดับ pH ในกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง

การทดสอบระดับการย่อยสลายโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆ ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลากดเหลืองนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงระดับ pH ที่อยู่ในอวัยวะย่อยอาหารนั้น เพื่อใช้ในการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ให้มีระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีน โดยการหาระดับ pH ในกระเพาะอาหารของปลากดเหลืองในครั้งนี้ใช้ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าเป็นสารกระตุ้นให้ปลามีความอยากกินอาหารเพื่อให้ปลามีการหลั่งกรดและเอนไซม์ย่อยอาหารออกมา จากนั้นจึงวัดระดับ pH ในกระเพาะอาหารโดยใช้เครื่องวัด pH แบบไมโครโพรบ (micro probe) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1.1) การเตรียมปลากดเหลือง

นำปลากดเหลืองขนาด 250-300 กรัม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสงขลา อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลาจำนวน 32 ตัว พักในถังไฟเบอร์ขนาดความจุน้ำ 1,000 ลิตร จำนวน 2 ถังเป็นเวลา 3 วัน และงดให้อาหารเป็นเวลา 1 วัน เพื่อใช้ศึกษาระดับโปรตีนไฮโดรไลเสต และระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นความอยากกินอาหาร และหาระดับ pH ในกระเพาะอาหาร

1.2) การเตรียมตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต

นำเครื่องในปลาทูน่า มาล้างทำความสะอาด และทำให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อ นำมาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตราส่วน 1 : 1 (ใช้ ทริส–ไฮโดรคลอ-ไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมลาร์) ปรับ pH ให้เท่ากับ 8.0 เติมเอนไซม์อัลคาเลสร้อยละ 1.5 ของปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง นำตัวอย่างไปย่อยสลาย ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วยับยั้งการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนของตัวอย่างที่เหลือจากการหมุนเหวี่ยงผสมกับน้ำกลั่นและเก็บใส่ถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีนแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำมาใช้ในการทดสอบกับปลากดเหลืองถึงประสิทธิภาพในการกระตุ้นการกินอาหาร โดยการสังเกตพฤติกรรมการตอบสนองต่อไป

1.3) การวัดระดับ pH ในกระเพาะอาหารปลากดเหลือง

ในการหาระดับ pH ในกระเพาะอาหารแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ขั้นตอนได้แก่ การสังเกตพฤติกรรมของปลาเมื่อได้รับตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ระดับและระยะเวลาต่าง ๆกัน และการวัดระดับ pH ของกระเพาะอาหารปลาหลังจากปลาได้รับตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตในระดับที่เหมาะสม และในระยะเวลาต่าง ๆ (จากผลการศึกษาในขั้นตอนที่ 1) โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

<u>ขั้นตอนที่</u> 1 แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ทำการทดลองในตู้ทดลองขนาด 45x48x45เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้บรรจุน้ำ 20 ลิตร นำปลากดเหลืองขนาด 250 – 300 กรัมต่อตัว หลังงดอาหารเป็นเวลา 1 วัน ใส่ในตู้ทดลองตู้ละ 1 ตัว โดยทุกตู้ทดลองมีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา หลังจากนั้นจึงดำเนินการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ไม่ใช้ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตละลายในน้ำ ทิ้งไว้เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที

ชุดการทดลองที่ 2 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 200 มิลลิลิตร (ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 1 มิลลิลิตร/ น้ำ100 มิลลิลิตร) ทิ้งไว้เป็น เวลา 10, 20 และ 30 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 400 มิลลิลิตร (ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 2 มิลลิลิตร/ น้ำ 100 มิลลิลิตร) ทิ้งไว้เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 600 มิลลิลิตร (ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 3 มิลลิลิตร/ น้ำ 100 มิลลิลิตร) ทิ้งไว้เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที

สังเกตพฤติกรรมการตอบสนองของปลาในทุกระดับการใช้ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตภายในระยะเวลาที่กำหนด จดบันทึกพฤติกรรมการตอบสนองของปลาเพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นตอนที่ 2 ต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 5 ซ้ำ ทำการทดลองในตู้ทดลองขนาดเดียวกันกับขั้นตอนที่ 1 จำนวน 20 ตู้ แต่ละตู้บรรจุน้ำ 20 ลิตร นำปลากดเหลืองขนาด 250–300 กรัมต่อตัว หลังงดอาหารเป็นเวลา 1 วัน ใส่ตู้ละ 1 ตัว ให้ออกซิเจนตลอดเวลาและดำเนินการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ไม่ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต

ชุดการทดลองที่ 2 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม (จากผลการทดลองขั้นตอนที่ 1) ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที

ชุดการทดลองที่ 3 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ความเข้มข้นระดับเดียวกับชุดการทดลองที่ 2 ทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที

ชุดการทดลองที่ 4 ใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ความเข้มข้นระดับเดียวกับชุดการทดลองที่ 2 ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที

เมื่อครบกำหนดเวลานำปลามาผ่าท้องนำส่วนของกระเพาะอาหารมาวัดระดับ pH โดยใช้เครื่องวัด pH แบบไมโครโพรบ จดบันทึกระดับ pH ของทุกชุดการทดลอง

2) การสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสจากกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง

2.1) การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

เตรียมสารละลายไฮโดรคลอไรด์-ไกลซีน (HCl-glycine) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (Francisco *et al.,* 1999) ให้มีระดับ pH เท่ากับระดับ pH ที่ต้องการศึกษา (จากผลการทดลองข้อ 1.3) เติมสารละลาย Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (วิภาวรรณ, 2544)

2.2) การสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง

นำปลากดเหลืองน้ำหนักประมาณ 250 – 300 กรัม จำนวน 10 ตัว แบ่งออกเป็น 2 ชุด ๆ ละ 5 ตัว หลังงดอาหารเป็นเวลา 1 วัน นำมาผ่าท้องและนำส่วนของกระเพาะอาหาร มาชั่งน้ำหนักพร้อมจดบันทึก จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วใส่ในอลูมิเนียมฟรอยด์ และนำมาแช่ในไนโตรเจนเหลวประมาณ 5 นาที จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องปั่นผสม นำกระเพาะอาหารที่บดละเอียดผสมกับสารละลายไฮโดรคลอไรด์-ไกลซีน (HCl- glycine) ที่ระดับ pH ที่ต้องการศึกษา โดยใช้อัตราส่วนกระเพาะอาหารต่อสารละลายไฮโดรคลอไรด์-ไกลซีนเท่ากับ 1 : 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ผสมตัวอย่างและสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบเท่ากับ 8,500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (ดัดแปลงจาก Francisco *et al.,* 1999) สารละลายส่วนใสที่ได้คือเอนไซม์สกัด นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาทดสอบหากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสต่อไป

2.3) การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (เปบซิน)

นำเอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลาแต่ละซ้ำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ดังนี้

2.3.1) การเตรียมเอนไซม์สกัดก่อนการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

นำเอนไซม์ 0.1 มิลลิลิตรจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ในระดับ pH ที่ต้องการศึกษา ในปริมาตร 9.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำมาเจือจางอีกครั้งให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 100 - 400 เท่า ตามลำดับ โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

N_1 = ความเข้มข้นของสารเริ่มต้น 100 เท่า

V_1 = ปริมาณที่ต้องการจากสารที่เริ่มต้น (มิลลิลิตร)

N_2 = ความเข้มข้นที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรรวมของเอนไซม์ที่เจือจางและบัฟเฟอร์ที่ต้องการ (มิลลิลิตร)

2.3.2) วิธีหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

นำเอนไซม์ที่ได้จากการเจือจางแล้วที่ระดับความเข้มข้น 100 - 400 เท่า มาอย่างละ 1 มิลลิลิตรจากนั้นเติมสารละลายสับสเตรท 1 มิลลิลิตร (ฮีโมโกลบินร้อยละ 0.5 สำหรับหาค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสในกระเพาะอาหาร) นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เติม TCA 40 % ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ดัดแปลงจาก Francisco *et al.,* 1999) นำส่วนใสไป

กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ส่วนใสที่ปราศจากตะกอนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

2.4 การคำนวณ

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส 1 ยูนิตหมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสับสเตรทได้กรดอะมิโนในรูปของไทโรซีน 1 ไมโครโมลในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของไทโรซีน} \times (\text{ปริมาณเอนไซม์} + \text{สับสเตรท} + \text{TCA}) \times \text{จำนวนเท่าของสารละลายเอนไซม์}}{\text{น้ำหนักโมเลกุลของไทโรซีน (กรัมต่อโมล)} \times \text{ระยะเวลาที่บ่ม (นาที)} \times \text{ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ (มิลลิลิตร)}}$$

$$\text{ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิกรัม)} = \frac{\text{ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)}}{\text{ความเข้มข้นของโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)}}$$

3) การเตรียมผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองสำหรับการทดสอบการย่อยในหลอดทดลอง

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ใช้ทดสอบได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเมล็ดถั่วเหลืองดิบ โดยมีปลาป่นเป็นชุดควบคุม เตรียมวัตถุดิบแต่ละชนิดสำหรับการทดสอบดังนี้

3.1) บดวัตถุดิบแต่ละชนิดให้ละเอียดอย่างน้อย 2 ครั้ง แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาดตาความถี่ 30 เมช ยกเว้นเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีต้องผ่านกระบวนการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วจึงนำมาบดให้ละเอียด และร่อนเพื่อคัดสิ่งปลอมปนเช่น เศษหิน กรวด และเปลือกถั่วออกไป

3.2) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบแต่ละชนิดได้แก่ โปรตีน ความชื้น ไขมัน เถ้า และเยื่อใยตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) สำหรับ NFE (Nitrogen Free Extract) ได้จากการคำนวณตามสูตร

NFE (%)= 100 – (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เถ้า + %เยื่อใย)

นำวัตถุดิบแต่ละชนิดบรรจุในถุงพลาสติกแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ในการทดสอบระดับการย่อยสลายโปรตีนต่อไป

4) การทดสอบระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบ

4.1) การวางแผนการศึกษา

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดยมีชุดการทดลองทั้งสิ้น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 2 ซ้ำ (เอนไซม์ 2 ตัวอย่าง) ตัวอย่างวัตถุดิบที่ต้องการทดสอบได้แก่ ปลาป่น (ชุดควบคุม) เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเมล็ดถั่วเหลืองดิบ

4.2) การทดสอบระดับการย่อยสลายโปรตีน

นำวัตถุดิบที่ต้องการทดสอบมาชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักโปรตีนเท่ากับ 1.3 กรัม นำตัวอย่างผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่ระดับ pH 3.0 ในอัตราส่วนวัตถุดิบต่อบัฟเฟอร์เท่ากับ 1 : 3 (W/V) ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยวัตถุดิบแต่ละชนิดแบ่งออกเป็น 2 ชุด (ชุดละ 3 ซ้ำ) ชุด

ที่ 1 ไม่เติมเอนไซม์ และชุดที่ 2 เติมเอนไซม์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสพร้อมเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที โดยใช้ระยะเวลาในการบ่ม 12 ชั่วโมง โดย นพวรรณ (2543) พบว่าเมื่อให้อาหารแก่ปลากดเหลืองแล้วอาหารจะถูกย่อยในกระเพาะอาหารก่อน เดินทางมาถึงลำไส้จะใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง หลังจากบ่มเสร็จแล้วนำตัวอย่างมาหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการเติม TCA 40 % ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเพื่อหาค่าระดับการย่อยสลายโปรตีน

4.3) การหาค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบโดยเอนไซม์สกัด

นำวัตถุดิบแต่ละชนิดที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายโปรตีนทั้งที่ไม่เติมเอนไซม์และเติมเอนไซม์ มาหาปริมาณโปรตีนที่เหลือ และระดับการย่อยโปรตีน ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก AOAC (1999) โดยนำตัวอย่างที่บ่มแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (เศษเหลือค้างในขวดใช้อะซิโตนล้างตัวอย่างออกให้หมดจนไม่เหลือตัวอย่างอยู่ในขวด) จากนั้นนำตัวอย่างบนกระดาษกรองไปทำให้แห้งโดยวิธีการดูดความชื้นด้วยเครื่องดูดความชื้นแบบสูญญากาศ (suction) เมื่อตัวอย่างแห้งแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ AOAC (1999) เพื่อหาปริมาณโปรตีนที่เหลือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ละลายน้ำและระดับการย่อยโปรตีนโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีนที่เหลือ} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างวัตถุดิบ (กรัม)

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่เหลือ} \times 100}{\text{โปรตีนในวัตถุดิบเมื่อเริ่มต้น}}$$

เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ละลายน้ำ

= 100 – เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือในชุดควบคุมที่ไม่เติมเอนไซม์

ระดับการย่อยโปรตีนโดยเอนไซม์ (%)

= (เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือในชุดควบคุม) - (เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือในชุดที่เติมเอนไซม์)

5) การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดสอบระดับการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้ Analysis of Variance และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับต่างๆ ในอาหารปลากดเหลือง

1) การวางแผนการทดลอง

จัดการทดลองแบบ 2 x 7 แฟกทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัย A คือชนิดผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด จากผลการทดลองที่ 1 ที่มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับ 1 (a_0) และ 2 (a_1) ตามลำดับ และ ปัจจัย B คือระดับการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร 7 ระดับ คือ 0 (b_0), 10 (b_1), 20 (b_2), 30 (b_3), 40 (b_4), 50 (b_5) และ 60 (b_6) เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในปลาป่น โดยมีทั้งหมด 14 ชุดการทดลอง ดังนี้

$T_1 = a_0 b_0$	$T_8 = a_1 b_0$
$T_2 = a_0 b_1$	$T_9 = a_1 b_1$
$T_3 = a_0 b_2$	$T_{10} = a_1 b_2$
$T_4 = a_0 b_3$	$T_{11} = a_1 b_3$
$T_5 = a_0 b_4$	$T_{12} = a_1 b_4$
$T_6 = a_0 b_5$	$T_{13} = a_1 b_5$
$T_7 = a_0 b_6$	$T_{14} = a_1 b_6$

เมื่อ T= ชุดการทดลอง

a_0 = ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับที่ 1

a_1 = ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีค่าระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับที่ 2

b_0 = การทดแทนที่ 0 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_1 = การทดแทนที่ 10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_2 = การทดแทนที่ 20 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_3 = การทดแทนที่ 30 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_4 = การทดแทนที่ 40 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_5 = การทดแทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

b_6 = การทดแทนที่ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น

2) การเตรียมการทดลอง

2.1) การเตรียมปลา

นำลูกปลากดเหลืองขนาดความยาว 2.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.7 กรัม มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ตัน จำนวน 2 ใบ โดยปล่อยปลาจำนวน 1,000 ตัวต่อถัง เลี้ยงในน้ำจืด และให้ออกซิเจนตลอดเวลา โดยให้อาหารผงสำเร็จรูป วันละ 2 มื้อ (เช้า – เย็น) เป็นเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ จากนั้นเมื่อลูกปลามีขนาดโตขึ้นจึงค่อย ๆ เปลี่ยนมาให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ วันละ 2 มื้อ เพื่อฝึกให้ปลาชินกับอาหารเม็ดสำเร็จรูป และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง เมื่อลูกปลามีขนาดประมาณ 3-4 กรัม/ตัว จึงคัดลูกปลาที่มีขนาดใกล้เคียง

กันจำนวน 25 ตัว มาใส่ตู้ทดลองที่มีความจุประมาณ 80 ลิตร จำนวน 42 ตู้ แล้วเริ่มฝึกให้ปลาคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อม และอาหารทดลอง โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ จนปลาอิ่ม เลี้ยงจนกระทั่งปลายอมรับอาหารทุกชุดการทดลองเป็นเวลาประมาณ 7 วัน จากนั้นจึงคัดปลาที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันให้เหลือจำนวน 12 ตัวต่อตู้ โดยชั่งน้ำหนักปลาทุกตัว ก่อนชั่งทำให้ปลาสลบด้วยสาร 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร และเก็บตัวอย่างปลาจำนวน 30 ตัว เพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง ตามวิธีการของ AOAC (1990)

2.2) การเตรียมอาหารทดลอง

โดยนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับที่ 1 และ 2 จากการทดลองที่ 1 มาแทนที่ปลาป่นในอาหารที่ระดับต่าง ๆ ตามแผนการทดลองในข้อ 1 (การทดลองที่ 2) โดยมีอาหารทดลองทั้งหมด 14 สูตร มีระดับโปรตีนเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานรวมประมาณ 410 แคลอรีต่ออาหาร 100 กรัมเท่ากันทุกสูตร โดยอาหารสูตรควบคุมมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก องค์ประกอบของอาหารสูตรควบคุม และอาหารทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1 เตรียมอาหารโดยชั่ง และบรรจุวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดของแต่ละสูตรในถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีน นำวัตถุดิบอาหารของแต่ละสูตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร อัดเม็ดอาหารที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 4 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารไปบรรจุในถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีนและเก็บในถุงดำเพื่อป้องกันแสง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอการใช้งาน นำอาหารทุกสูตรวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการของ AOAC (1990) และหาปริมาณโครมิกออกไซด์ ตามวิธีการของ Furukawa และ Tsukahara (1966)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอาหารทดลอง (% as-fed basis)

วัสดุอาหาร	สูตรอาหาร (กรัม / อาหาร 1 กิโลกรัม)												
	1 และ 8	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14
ปลาป่น (โปรตีน 65.49%)	522	470	417	365	315	260	207	470	417	365	315	260	207
ถั่วเหลืองต้ม (โปรตีน 44.56%)	0	76	155	230	310	385	465	0	0	0	0	0	0
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (โปรตีน 39.62%)	0	0	0	0	0	0	0	86	173	260	347	434.3	522
รำ	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53	53
แป้งข้าวเจ้า	232	215	197	182	160	147	123	200	177	145	113	80	48
น้ำมันถั่วเหลือง	34	28	22	16	10	4	0	39	40	45	50	55	60
วิตามินรวม[1]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
แร่ธาตุรวม[2]	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
แป้งมัน	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
BHT	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
แกลบ	103.8	102.8	100.8	98.8	96.8	95.8	96.8	96.8	84.8	76.8	69.8	62.5	54.8
โครมิคออกไซด์	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

[1]วิตามินรวม (มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) ประกอบด้วย Thiamine (B_1) 10 ; Riboflavin (B_2) 20; Pyridoxine (B_6) 10; Cobalamin (B_{12}) 2; Retinal (A) 4; Cholecalciferol (D_3) 0.4; Phylloquinone (K_1) 80; Folic acid 5; Calcium pantothenate 40; Inositol 400 ; Niacin 150; Tocopherol (E) 60; Choline 6000; Ascorbic acid (C) 500

[2]แร่ธาตุรวม (กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) ประกอบด้วย NaCl 0.25 ; MgO 1.10 ; KCl 4 ; $Ca(H_2PO_4)_2$ 9 ; $FeSO_4$ 0.72; Calcium lactate 0.88 ; $ZnSO_4\ 7H_2O$ 0.088 ; $MnSO_4\ 7H_2O$ 0.040 ; $CuSO_4\ 5H_2O$ 0.008; $CoSO_4$ 0.0025; KI 0.0008

2.3 การศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ติดป้ายทุกชุดการทดลอง และซ้ำที่ได้สุ่มตัวอย่างไว้ ตามแผนการทดลองข้อ 1 และให้อาหารตามชุดการทดลอง โดยให้อาหารแบบให้ปลากินจนอิ่ม (satiation) วันละ 2 มื้อ (เช้า-เย็น) บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลากินในแต่ละวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ภายในตู้ทดลองมีการให้อากาศและจัดให้มีน้ำไหลเวียนตลอดเวลาและทำการดูดตะกอนทุกวันจนเสร็จสิ้นการทดลอง สุ่มตัวอย่างปลาจำนวน 30 ตัว หรือประมาณ 100 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาเมื่อเริ่มต้นศึกษา ในระหว่างการเลี้ยงชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละชุดการทดลองทุก 2 สัปดาห์ โดยก่อนชั่งน้ำหนักแต่ละครั้งจะทำให้ปลาสลบด้วยยาสลบ 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร และชั่งปลาแต่ละตัวในแต่ละตู้ ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง สังเกตอาการผิดปกติ และการตายของปลาทุกวัน หากมีอาการผิดปกติจะนำไปตรวจเชื้อแบคทีเรีย และปรสิต

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่งน้ำหนักปลาทุกตัวในแต่ละตู้ทดลอง นับจำนวนปลาที่เหลือและสังเกตอาการพร้อมทั้งบันทึกและเก็บตัวอย่างปลาจากทุกตู้ทดลองเพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าต่าง ๆ ได้แก่ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) การรอดตาย (survival rate) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed efficiency)ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (productive protein value) (Halver, 1989) ของปลาในแต่ละชุดการทดลอง จากสูตรดังนี้

$$\text{การรอดตาย (survival rate,\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (weight gain) = น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม/ตัว) - น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม/ตัว)

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (feed efficiency)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, \% ต่อวัน)} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} \times 100$$

W_1 = น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น

W_2 = น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย

t_1 = วันเริ่มต้นทำการทดลอง

t_2 = วันที่สิ้นสุดการทดลอง

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

$$\text{โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (productive protein value)} = \frac{\text{โปรตีนของตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

2.4) การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน

ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในตัวปลา ด้วยวิธีทางอ้อมที่มีโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นอินดิเคเตอร์ (indicator) ในอาหารโดยให้ปลาทดลองกินอาหารที่มีส่วนผสมของโครมิกออกไซด์ 50% ร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักอาหาร หลังปลายอมรับอาหารที่มีส่วนผสมของโครมิกออกไซด์แล้วเป็นเวลา 15 วัน จึงเริ่มเก็บมูลปลา หลังจากให้อาหารเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากผลการศึกษาของ นพวรรณ (2543) พบว่าเมื่อให้อาหารแก่ปลากดเหลืองแล้วอาหารเดินทางมาถึงลำไส้จะใช้เวลาประมาณ 12 ชั่วโมง และ 15 ชั่วโมง หลังจากให้อาหารปลาจะขับมูลออกมา ทำการเก็บรวบรวมมูลปลาโดยวิธีกาลักน้ำลงสู่ถุงกรอง และเก็บรวบรวมนำไปแช่แข็ง ระยะเวลาในการเก็บมูลปลาประมาณ 30 วัน เพื่อให้ได้ตัวอย่างเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ จากนั้นนำมูลปลาที่เก็บได้ไปทำแห้ง โดยวิธี lyophilization บดมูลปลาที่แห้งแล้วและเก็บไว้ในตู้แช่แข็งจนกว่าจะวิเคราะห์ คือ ปริมาณโปรตีนในมูลปลาตามวิธีการของ AOAC (1990) หาปริมาณ โครมิกออกไซด์ในอาหารและมูลปลา ตามวิธีการของ Furukawa และ Tsukahara (1966)

คำนวณประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน เมื่อใช้โครมิกออกไซด์เป็นอินดิเคเตอร์ (De Silva and Anderson, 1995) โดยใช้สมการ

ประสิทธิภาพการย่อย = $[\ 1-(a' / a) \times (b / b')\ ] \times 100$

a = เปอร์เซ็นต์สารอาหารในอาหารแห้ง

a' = เปอร์เซ็นต์สารอาหารในมูลแห้ง

b = เปอร์เซ็นต์โครมิกออกไซด์ในอาหารแห้ง

b' = เปอร์เซ็นต์โครมิกออกไซด์ในมูลแห้ง

2.5 การศึกษาต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลากดเหลือง

$$\text{ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (ก.ก) x ราคาอาหาร (บาท)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (ก.ก)}}$$

2.6 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

วิเคราะห์คุณภาพน้ำของทุกซ้ำในทุกชุดการทดลองทุก 2 สัปดาห์ โดยนำตัวอย่างน้ำก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำมาวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ค่า pH ด้วย pH meter ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ด้วย DO meter และวิเคราะห์หาแอมโมเนียรวม ตามวิธีการของ Boyd และ Tucker (1992) ไนไตรท์ ไนเตรท ตามวิธีการของ Clesceri และคณะ (1989)

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน นำมาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5. ผลการศึกษา

5.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง

5.1.1 ระดับ pH ในกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง

ผลการศึกษาพฤติกรรมของปลากดเหลืองหลังการใส่ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตในปริมาณและระยะเวลาต่าง ๆ กันดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 พฤติกรรมการตอบสนองของปลากดเหลืองที่ได้รับการกระตุ้นโดยตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตในปริมาณ และระยะเวลาต่าง ๆ

ปริมาณตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต (มิลลิลิตร) ต่อน้ำ 20 ลิตร	ระยะเวลา (นาที)	พฤติกรรม
0 (ชุดควบคุม)	10	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
	20	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
	30	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
200	10	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
	20	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
	30	ว่ายน้ำปกติ ไม่มีอาการตอบสนอง
400	10	ฮุบน้ำเป็นระยะ ๆ มีอาการตอบสนอง
	20	ฮุบน้ำเป็นระยะ ๆ มีอาการตอบสนอง
	30	ฮุบน้ำเป็นระยะ ๆ มีอาการตอบสนอง
600	10	มีอาการขาดอากาศ ลอยหัว
	20	ลอยหัว สีลำตัวเริ่มซีด
	30	สีลำตัวซีดมากขึ้น และอาจตายได้

พบว่าปริมาณความเข้มข้นของการใช้ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่เหมาะสมที่สุดคือที่ระดับ 400 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต 2 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

ผลการศึกษาระดับ pH ในกระเพาะอาหารปลากดเหลืองขนาดน้ำหนัก 250–300 กรัม หลังการใช้ตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสตของเครื่องในปลาทูน่า เป็นสารกระตุ้นให้ปลามีความอยากกินและหลั่งน้ำย่อยที่ระยะเวลาต่างกัน พบว่า ระดับ pH ในกระเพาะอาหารทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยมีระดับ pH เฉลี่ยเท่ากับ 3.06 ± 0.75

ตารางที่ 3 ระดับ pH ในกระเพาะอาหารปลากดเหลืองหลังกระตุ้นด้วยตะกอนโปรตีนไฮโดรไลเสต ที่ระยะ เวลาต่าง ๆ[1]

ระยะเวลา (นาที)	น้ำหนักปลา (กรัม/ตัว)	ระดับ pH ในกระเพาะอาหาร[2]
0	256.18±18.08	3.16 ±0.98
10	274.12±19.18	2.80 ±0.50
20	282.05±19.77	3.12 ±1.08
30	265.10±35.34	3.19 ±0.45
เฉลี่ย		3.06 ±0.75

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 5 ยกเว้นชุดการทดลองที่ 3 และ 4 N = 4)
[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

5.1.2 ปริมาณเอนไซม์โปรติเอสจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง

ปลากดเหลืองซ้ำที่ 1 จำนวน 5 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 311.37±40.38 กรัม ได้น้ำหนักกระเพาะอาหารรวมเท่ากับ 12.21 กรัม และสกัดเอนไซม์โปรติเอสได้ เท่ากับ 35 มิลลิลิตร

สำหรับปลากดเหลืองซ้ำที่ 2 จำนวน 5 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 290.66±26.82 กรัม ได้น้ำหนักกระเพาะอาหารรวมเท่ากับ 10.92 กรัม และได้ปริมาณเอนไซม์โปรติเอส เท่ากับ 30 มิลลิลิตร

5.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

ตัวอย่างเอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง ซ้ำที่ 1 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 7.31±0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสเท่ากับ 193.77 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เปบซินเท่ากับ 26.50 ยูนิตต่อมิลลิกรัม

สำหรับตัวอย่างเอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลืองซ้ำที่ 2 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 11.29±0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสเท่ากับ 188.67 ยูนิต/มิลลิลิตร และมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เปบซินเท่ากับ 16.71 ยูนิต/มิลลิกรัม ตามลำดับ โดยค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เปบซิน จำนวน 2 ซ้ำ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สกัด จำนวน 2 ซ้ำ

ซ้ำที่	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เปบซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัม)
1	7.31±0.06	193.77	26.50
2	11.29±0.02	188.67	16.71

5.1.4 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ ปลาป่น เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และเมล็ดถั่วเหลืองดิบ ดังแสดงในตารางที่ 5 (วิเคราะห์โปรตีน, ไขมัน, เถ้า และความชื้น ที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และวิเคราะห์เยื่อใย ที่ศูนย์ปฏิบัติการวิเคราะห์กลาง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่นำมาทดสอบระดับการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (% as-fed basis)

วัตถุดิบ	องค์ประกอบทางเคมี[1]					
	โปรตีน	ไขมัน	NFE	เถ้า	เยื่อใย	ความชื้น
ปลาป่น	65.49±0.07	12.67±0.18	-	13.72±0.13	-	7.33±0.09
ถั่วเหลืองต้ม[2]	44.56±0.24	16.20±0.19	22.68±0.81	4.81±0.02	4.16±0.35	7.67±0.27
กากถั่วเหลือง[3]	39.62±0.05	2.68±0.09	35.02±0.11	7.59±0.10	6.09±0.20	9.00±0.10
ถั่วเหลืองดิบ	42.27±0.16	19.69±0.30	22.63±0.69	5.56±0.09	3.82±0.10	4.06±0.11

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3)
[2]เมล็ดถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง
[3]กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

5.1.5 การย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบโดยใช้เอนไซม์สกัด

1) โปรตีนที่ละลายน้ำ

จากการบ่มตัวอย่างวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ กับบัฟเฟอร์โดยไม่มีการเติมเอนไซม์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เหลือ จากนั้นนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ (ตารางที่ 6) เปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนในตัวอย่างก่อนบ่ม เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่ละลายได้ พบว่า ถั่วเหลืองดิบมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ละลายได้สูงที่สุดรองลงมาได้แก่ ปลาป่น เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และกากถั่วเหลืองสกัด

น้ำมัน โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.18±0.86, 17.85±0.60, 8.34±0.65 และ 7.07±0.52 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

2) ระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบ

ปริมาณโปรตีนที่เหลือ และเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือของปลาป่น เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ หลังการบ่มกับเอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลืองจำนวน 2 ซ้ำ และเมื่อนำโปรตีนที่เหลือของแต่ละตัวอย่างเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ใส่เอนไซม์สกัดเพื่อหาค่าระดับการย่อยสลายโปรตีน (ตารางที่ 6) พบว่า ปลาป่นมีค่าระดับการย่อยโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ ($P<0.05$) โดยมีระดับการย่อยสลายโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 10.21±0.42, 9.08±0.79, 7.76±0.77 และ 5.63±0.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

จากการศึกษาระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ โดยการใช้เอนไซม์โปรติ-เอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลืองเป็นเอนไซม์ทดสอบ จึงสรุปได้ว่าระดับการย่อยโปรตีนในปลาป่นมีค่าสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ เป็นชุดการทดลองที่มีระดับการย่อยโปรตีนต่ำที่สุด ดังนั้นเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับการย่อยโปรตีนเป็นอันดับ 1 และ 2 ตามลำดับ จึงนำมาใช้ในการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารในการทดลองที่ 2 ต่อไป

ตารางที่ 6 ปริมาณโปรตีนที่เหลือ เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ และระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบหลังการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์[1]

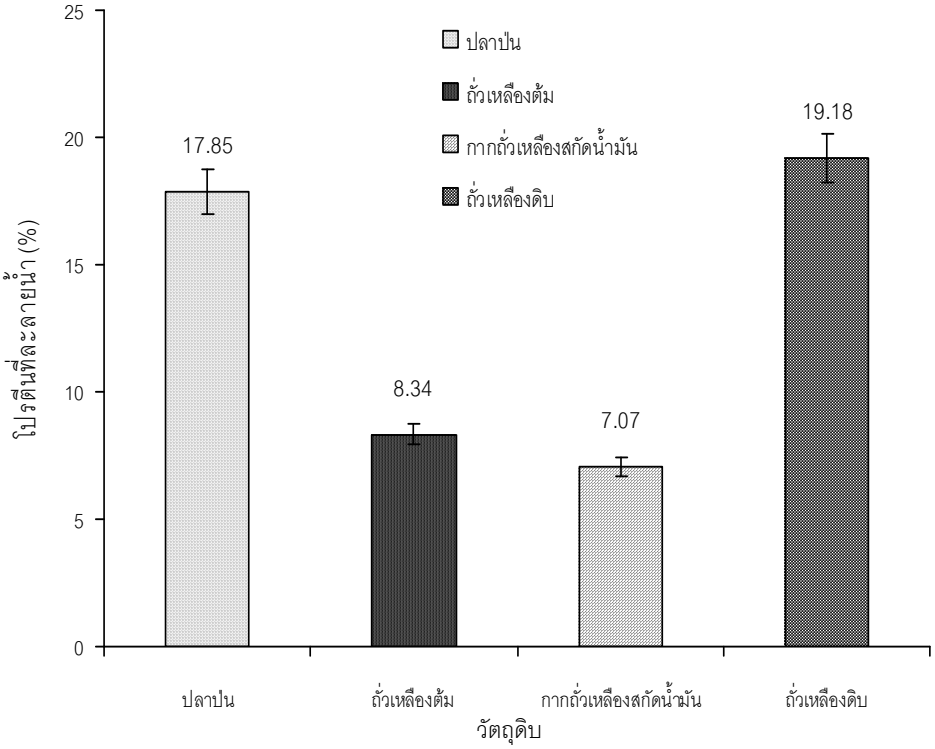
วัตถุดิบ[2]	ปริมาณโปรตีนที่เหลือ (เปอร์เซ็นต์)		เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลือ		ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
	ไม่ใส่เอนไซม์	หลังบ่มด้วยเอนไซม์	ไม่ใส่เอนไซม์	หลังบ่มด้วยเอนไซม์	
ปลาป่น	53.76±0.39	47.12±0.27	82.14±0.60	71.99±0.42[a]	10.21±0.42[a]
ถั่วเหลืองต้ม[3]	40.84±0.28	36.79±0.34	91.65±0.65	82.57±0.79[b]	9.08±0.79[b]
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	36.89±0.23	33.73±0.30	92.92±0.52	85.16±0.77[c]	7.76±0.77[c]
ถั่วเหลืองดิบ	33.96±0.36	31.49±0.34	80.82±0.86	74.94±0.82[d]	5.63±0.82[d]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 2)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$))

[2] ระดับโปรตีนของวัตถุดิบ (% as-fed basis) : ปลาป่น 65.49; ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที 44.56; กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน 39.62; ถั่วเหลืองดิบ 42.27 ตามลำดับ

[3] ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ละลายน้ำในวัตถุดิบแต่ละชนิด
ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 2)

5.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ ในอาหารปลากดเหลือง

5.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

อาหารทดลองที่ใช้ในการศึกษามีองค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 7) โดยมีระดับโปรตีนร้อยละ 36.73±0.46 ถึง 39.64±0.21 ไขมันร้อยละ 11.62±0.20 ถึง 16.00±0.79 เถ้าร้อยละ 8.70±0.01 ถึง 10.97±0.12 ความชื้นร้อยละ 3.78±0.12 ถึง 5.96±0.03 และเยื่อใยร้อยละ 5.38±0.11 ถึง 7.18±0.21 ของน้ำหนักอาหารเปียก

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (% as-fed basis)[1]

สูตรอาหาร	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ความชื้น	พลังงานรวม (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)
1 และ 8 (0%)	38.69±0.19	12.51±0.32	10.97±0.12	5.38±0.11	4.22±0.14	4522±1.43
2 (10%)[2]	38.70±0.21	12.91±0.10	10.36±0.05	5.73±0.14	4.28±0.11	4551±1.69
3 (20%)	37.73±0.47	13.47±0.35	9.97±0.05	6.48±0.01	5.96±0.03	4476±1.12
4 (30%)	37.87±0.98	12.92±1.18	9.49±0.04	6.57±0.22	5.04±0.06	4486±8.78
5 (40%)	37.74±0.40	15.10±0.37	9.05±0.05	6.16±0.11	4.51±0.03	4666±1.73
6 (50%)	36.73±0.46	14.67±0.29	8.97±0.05	6.47±0.01	4.08±0.09	4650±2.30
7 (60%)	37.84±0.24	16.00±0.79	8.70±0.01	5.55±0.11	3.86±0.28	4767±1.04
9 (10%)[3]	38.84±0.40	12.11±0.80	10.57±0.07	5.38±0.03	3.78±0.12	4557±1.75
10 (20%)	39.36±0.09	12.33±0.46	10.27±0.09	6.21±0.12	3.95±0.10	4533±2.29
11 (30%)	39.33±0.04	12.27±0.12	10.07±0.02	6.17±0.00	3.70±0.11	4547±0.34
12 (40%)	38.47±0.74	11.83±0.27	9.95±0.01	6.81±0.06	3.96±0.02	4488±1.20
13 (50%)	39.64±0.21	11.62±0.20	9.49±0.06	7.18±0.21	4.10±0.03	4487±1.06
14 (60%)	38.98±0.10	11.88±0.12	9.20±0.05	7.16±0.04	4.85±0.16	4468±0.41

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3)

[2] อาหารสูตรที่ 2–7 มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

[3] อาหารสูตรที่ 9–14 มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

5.2.2 องค์ประกอบกรดอะมิโนของอาหารทดลอง

พบว่าการแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด มีผลต่อระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหาร โดยการแทนที่ที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็น เมทไธโอนีน ฮีสทิดีน และไลซีน ต่ำกว่าที่มีในอาหารสูตรควบคุม ขณะที่กรดแอมิโนที่จำเป็นได้แก่ ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน และอาร์จินีน เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม และเมื่อพิจารณาสัดส่วนระหว่างกรดอะมิโนที่จำเป็นและไม่จำเป็น พบว่ามีสัดส่วนที่ลดน้อยลงเท่ากับ 0.93 และ 0.89 ในสูตรที่แทนที่ที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ ด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันตามลำดับ ขณะที่สูตรควบคุมมีสัดส่วนเท่ากับ 0.99 (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid) และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non essential amino acid) ในสูตรอาหารที่แทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 0 (สูตรควบคุม) 10 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (% as-fed basis)

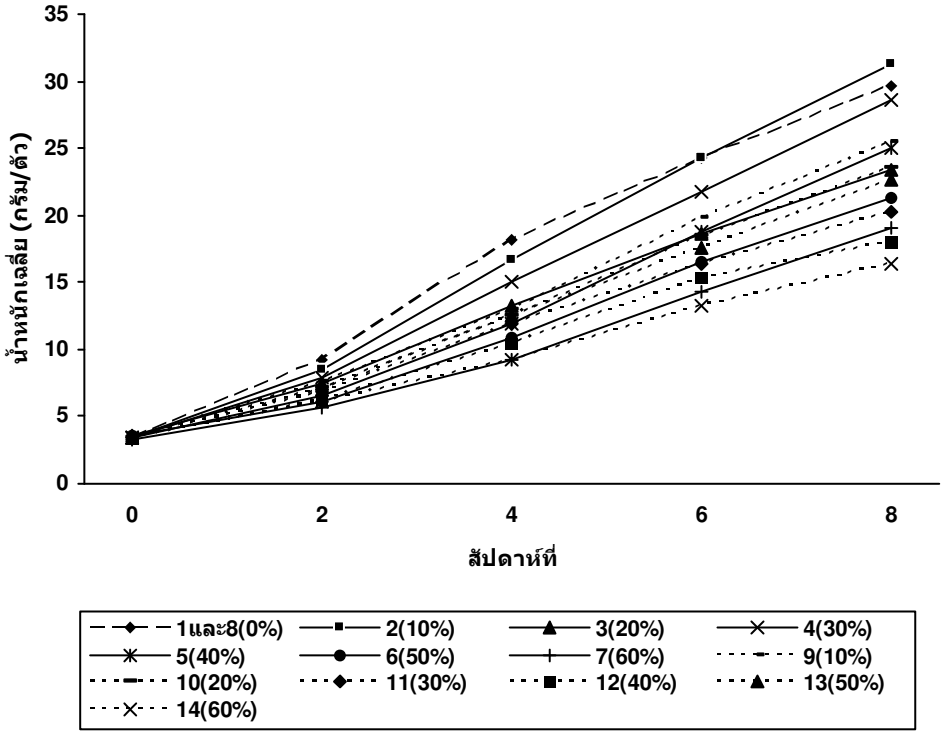
กรดอะมิโน[1]	สูตรควบคุม	ถั่วเหลืองต้ม[2] (%)		กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (%)	
		10	60	10	60
Essential amino acid					
Arginine	2.06	2.12	2.56	2.10	2.43
Histidine	1.29	1.31	1.18	1.23	1.16
Isoleucine	1.21	1.12	1.41	1.28	1.30
Leucine	2.70	2.73	2.92	2.75	2.90
Lysine	2.65	2.52	2.53	2.6	2.44
Methionine	0.84	0.95	0.64	0.84	0.57
Phenylalanine	1.51	1.56	1.97	1.59	1.99
Threonine	1.56	1.54	1.62	1.57	1.51
Tryptophan	0.21	0.23	0.27	0.19	0.32
Valine	1.42	1.35	1.43	1.48	1.40
Non-essential amino acid					
Alanine	2.16	2.21	1.32	2.21	1.89
Aspartic acid	3.28	3.44	4.04	3.41	3.98
Cystine	0.34	0.29	0.48	0.33	0.41
Glycine	0.71	0.73	0.42	0.71	0.61
Glutamic acid	4.80	5.20	6.21	5.06	6.12
Proline	1.64	1.6	1.94	1.66	1.76
Serine	1.48	1.54	1.84	1.51	1.78
Tyrosine	1.14	1.22	1.44	1.15	1.45
Total EAA	15.45	15.43	16.53	15.63	16.02
Total NEAA	15.55	16.23	17.69	16.04	18.00
EAA / NEAA	0.99	0.95	0.93	0.97	0.89

[1]องค์ประกอบกรดอะมิโนจากการวิเคราะห์ (กรัมต่ออาหาร 100 กรัม)

[2]ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง

5.2.3 การเจริญเติบโต และการรอดตาย

ปลากดเหลืองขนาดเฉลี่ย 3.45 กรัม หลังได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ60 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 31.30±1.84 กรัม รองลงมาได้แก่ชุดควบคุม ซึ่งมีน้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 29.70±1.59 กรัม ในขณะที่กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่โปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตสูงเป็นอันดับ 3 โดยมีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 28.56±2.89 กรัม ส่วนกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่โปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดการทดลองที่มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.42±2.38 กรัม ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ที่มีผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิดทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่าชนิดผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง และระดับของการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิดที่นำมาใช้ในอาหารทดลองให้ผลน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของปลาแตกต่างกัน ($P<0.05$) คือ กลุ่มของปลาที่ได้รับอาหารทดลอง

ที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่น โดยน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.83±2.82 และ 18.49±2.70 กรัมต่อตัวตามลำดับ (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (ตารางที่ 10) มีผลทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนแต่เพียงอย่างเดียว (P≥0.05) โดยมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย เท่ากับ 25.04±4.28 กรัมต่อตัว ขณะที่ชุดควบคุมมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 26.15±1.71 กรัมต่อตัว สำหรับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 20 , 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน (P≥0.05) โดยมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 20.00±2.17, 20.96±2.72, 18.09±2.80, 18.55±3.20 กรัมต่อตัวตามลำดับ ขณะที่ชุดการทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยต่ำที่สุด โดยมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 14.3±1.80 กรัมต่อตัว และมีความแตกต่างทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05) ยกเว้นชุดการทดลองที่มีการใช้ โปรตีนจากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่าชนิด และระดับของการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (P≥0.05) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิดที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาต่างกัน (P<0.05) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น คือ กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่น โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.53±0.21 และ 3.25±0.24 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกับชุดควบคุม (P≥0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.78±0.29 และ 3.81±0.21 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ สำหรับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 20 , 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกัน (P≥0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.39±0.20, 3.44±0.23, 3.24±0.24 และ 3.28±0.28 เปอร์เซ็นต์ต่อวันตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยต่ำที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับเท่ากับ 2.94±0.18 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และมีความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05) กับทุกชุดการทดลองและในทุกระดับการแทนที่ ยกเว้นชุดการทดลองในกลุ่มที่มีการใช้ โปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

การรอดตาย

พบว่าอัตราการรอดตายของปลาในทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วง 91.66–100 เปอร์เซ็นต์ โดยชนิด และระดับของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของปลา (P>0.05) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	ระดับการแทนที่ (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว)[4]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)[5]	การรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)[6]
ถั่วเหลืองต้ม[2]	0	26.15±2.41	3.81±0.21	100.00±0.00
	10	27.97±1.79	4.00±0.08	97.22±4.80
	20	19.90±3.47	3.38±0.26	88.88±9.62
	30	25.07±2.96	3.74±0.22	94.44±4.80
	40	21.60±4.47	3.55±0.34	94.44±4.80
	50	17.86±3.38	3.21±0.26	100.00±0.00
	60	15.73±1.30	3.10±0.14	100.00±0.00
กากถั่วเหลือง [3]	0	26.15±2.41	3.81±0.21	100.00±0.00
	10	22.12±6.75	3.55±0.50	86.11±17.34
	20	20.10±0.87	3.41±0.13	100.00±0.00
	30	16.85±2.47	3.15±0.24	100.00±0.00
	40	14.59±1.13	2.93±0.13	97.22±4.80
	50	19.23±3.03	3.34±0.29	83.33±28.86
	60	12.98±2.29	2.78±0.22	91.60±0.00
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (Pr>F)				
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง		**	**	ns
ระดับการแทนที่		**	**	ns
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง x ระดับการแทนที่		ns	ns	ns

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3)

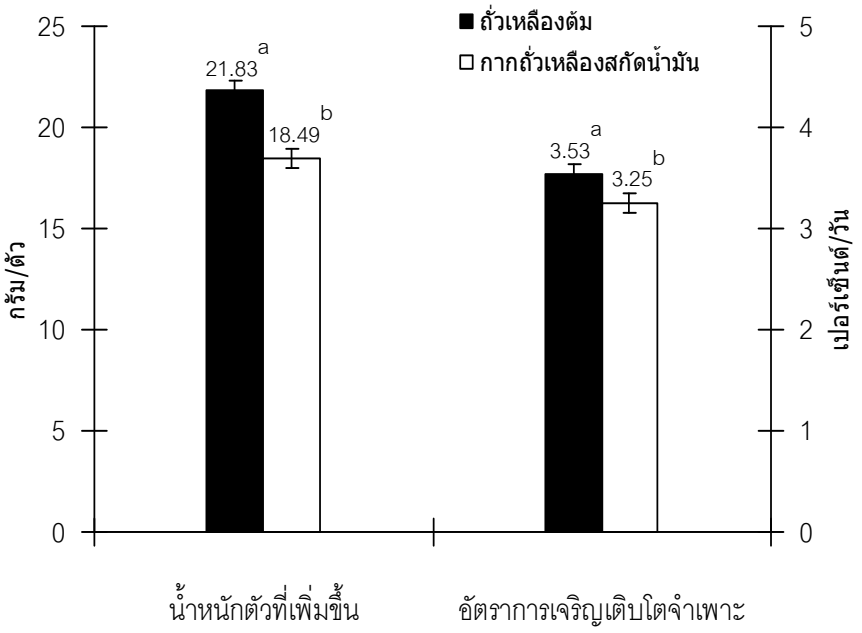
[2] ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง

[3] กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

[4] น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม/ตัว) – น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม/ตัว)

[5] อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = $(\ln w_2 - \ln w_1) \times 100 / t_2 - t_1$

[6] การรอดตาย = จำนวนปลาที่เหลือ x 100 / จำนวนปลาเริ่มต้น



ภาพที่ 3 น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

ตารางที่ 10 การแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และการรอดตายของปลากดเหลืองที่เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ระดับการแทนที่ (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัมต่อตัว)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	การรอดตาย[2] (เปอร์เซ็นต์)
0	26.15±2.41 ^{a}	3.81±0.16 ^{a}	100.00±0.00
10	25.04±4.27 ^{a}	3.78±0.29 ^{a}	91.66 ±11.08
20	20.00±2.17 ^{b}	3.39±0.20 ^{b}	94.44±2.40
30	20.96±2.72 ^{b}	3.44±0.23 ^{b}	97.22±2.40
40	18.09±2.80 $^{b\,c}$	3.24±0.24 ^{bc}	95.83±4.81
50	18.55±3.20 ^{b}	3.28±0.28 ^{b}	91.66±14.43
60	14.35±1.80 ^{c}	2.94±0.18 ^{c}	95.83±0.00

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 6 เนื่องจากไม่มี interaction ของ 2 ปัจจัยจึงทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระดับการแทนที่) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$)

[2] อัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

5.2.4 น้ำหนักอาหารที่กิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์

น้ำหนักอาหารที่กิน

น้ำหนักอาหารที่กินของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่าชนิดและระดับของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อน้ำหนักอาหารที่ปลากิน ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองให้ผลน้ำหนักอาหารที่ปลากินแตกต่างกัน ($P < 0.05$) คือ ในกลุ่มของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีค่าน้ำหนักอาหารที่ปลากินสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นโดยน้ำหนักอาหารที่ปลากินของปลาทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25.68 ± 2.88 และ 21.01 ± 2.83 กรัมต่อตัว (ภาพที่ 4) นอกจากนี้ พบว่า ชุดควบคุม และชุดการทดลองที่มีการใช้ โปรตีนจากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักอาหารที่ปลากินใกล้เคียงกัน โดยมีน้ำหนักอาหารที่ปลากินเฉลี่ยเท่ากับ 32.79 ± 3.85 และ 28.89 ± 4.47 กรัมต่อตัวตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($P \geq 0.05$) สำหรับชุดการทดลองที่มีการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 20 , 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักอาหารที่ปลากินเฉลี่ยเท่ากับ 23.66 ± 2.75, 23.62 ± 2.17, 21.11 ± 3.03 และ 21.42 ± 2.82 กรัมต่อตัวตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ส่วนชุดการทดลองที่มีการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาหารที่กินน้อยที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 16.66 ± 1.63 กรัมต่อตัว และมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) กับทุกชุดการทดลองและในทุกระดับการแทนที่ (ตารางที่ 6)

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

สำหรับประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่าชนิด และระดับของการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา ($P < 0.05$) คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น โดยประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.87 ± 0.02 และ 0.83 ± 0.04 ตามลำดับ (ภาพที่ 5) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ พบว่ามีประสิทธิภาพการใช้อาหารใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม มีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำที่สุด เท่ากับ 0.79 ± 0.02 (ตารางที่ 6)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่ามีความสอดคล้องกับประสิทธิภาพการใช้อาหาร คือชนิด และระดับของการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลา ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลา ($P < 0.05$) คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น โดยประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.31 ± 0.07 และ 2.13 ± 0.11 ตามลำดับ (ภาพที่ 5) ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ พบว่ามีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำที่สุด เท่ากับ 2.06 ± 0.05 (ตารางที่ 6)

โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์

โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลาหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่าชนิด และระดับของการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลา ($P < 0.05$) คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีค่าโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์สูงกว่าปลาในกลุ่มที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น โดยโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลาทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 34.41 ± 2.10 และ 31.12 ± 2.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 4) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 30, 10, 40, 20 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ใกล้เคียงกันเฉลี่ยเท่ากับ 34.89 ± 2.63, 33.39 ± 1.63, 33.00 ± 1.36, 32.82 ± 1.98 และ 32.33 ± 1.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ($P \geq 0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์เฉลี่ยเท่ากับ 31.65 ± 0.96 และ 30.52 ± 4.18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) กับทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 11 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ ของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	ระดับการแทนที่ (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร[4]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[5]	โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (เปอร์เซ็นต์)[6]
ถั่วเหลืองต้ม[2]	0	32.79±3.14	0.79±0.02	2.06±0.05	30.52±4.18
	10	31.35±1.71	0.89±0.01	2.30±0.02	35.82±0.86
	20	23.64±3.38	0.84±0.04	2.22±0.11	33.72±1.39
	30	27.78±2.33	0.90±0.06	2.38±0.16	37.34±4.51
	40	24.13±4.82	0.89±0.01	2.37±0.03	34.51±1.25
	50	20.76±3.23	0.85±0.03	2.33±0.08	33.47±2.11
	60	16.99±1.55	0.92±0.03	2.46±0.07	34.17±0.40
กากถั่วเหลือง[3]	0	32.79±3.14	0.79±0.02	2.06±0.05	30.52±4.18
	10	23.43±7.24	0.83±0.03	2.14±0.07	30.95±2.40
	20	23.68±2.12	0.85±0.04	2.16±0.10	31.93±2.57
	30	19.46±2.00	0.86±0.04	2.19±0.10	32.45±0.74
	40	18.10±1.23	0.80±0.05	2.09±0.12	31.49±1.47
	50	22.07±2.41	0.87±0.06	2.19±0.16	31.19±2.26
	60	16.33±1.71	0.79±0.07	2.02±0.18	29.13±1.50
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (Pr>F)					
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง		**	**	**	**
ระดับการแทนที่		**	ns	ns	ns
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง x ระดับการแทนที่		ns	ns	ns	ns

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3)

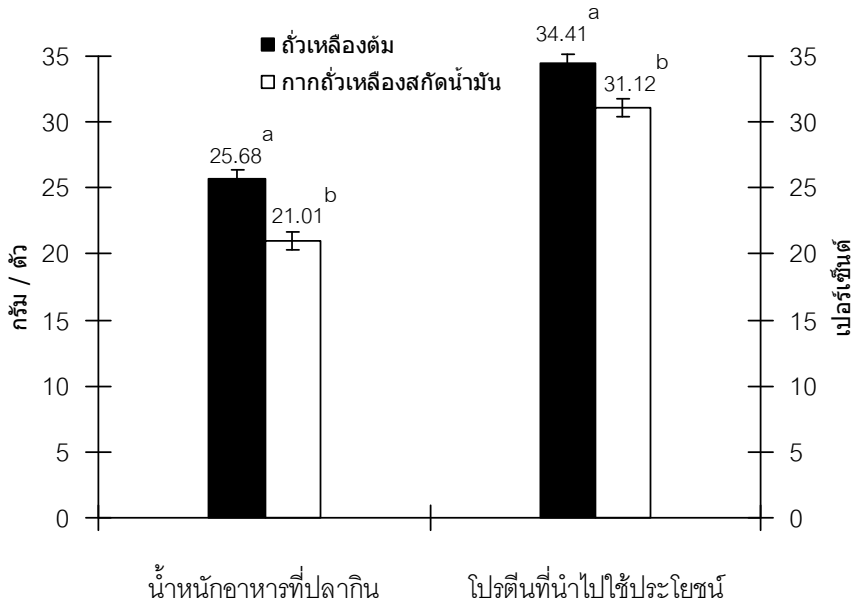
[2]ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง

[3]กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

[4]ประสิทธิภาพการใช้อาหาร = น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม) / น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม)

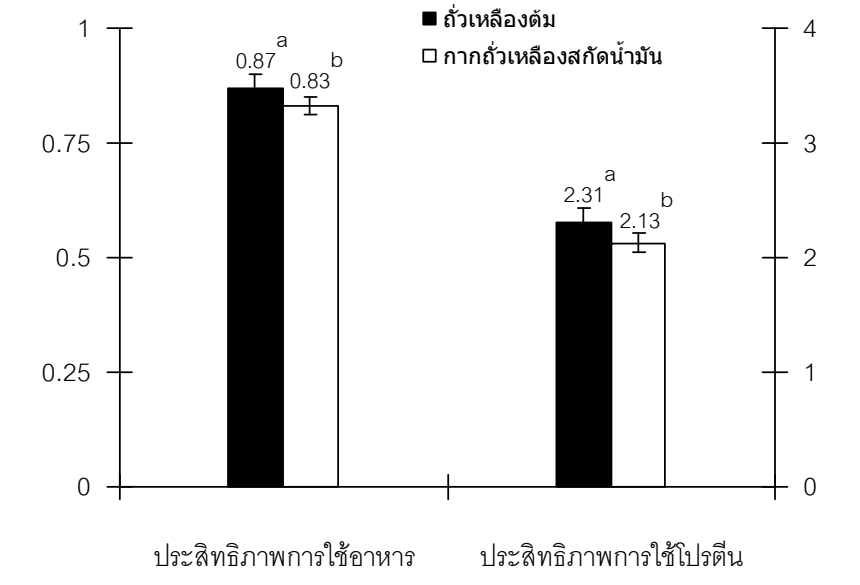
[5]ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม) / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)

[6]โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ = โปรตีนของตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)x100 /น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)



ภาพที่ 4 น้ำหนักอาหารที่กินเฉลี่ย และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์เฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ($P \geq 0.05$)



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ($P \geq 0.05$)

ตารางที่ 12 การแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับต่าง ๆ ต่อน้ำหนัก อาหารที่กิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ของปลากดเหลืองที่เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ระดับการแทนที่ (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัมต่อตัว)	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (เปอร์เซ็นต์)
0	32.79±3.85[a]	0.79±0.02	2.06±0.05	30.52±4.18
10	28.89±4.47[a]	0.86±0.02	2.22±0.05	33.39±1.63
20	23.66±2.75[b]	0.84±0.04	2.19±0.11	32.82±1.98
30	23.62±2.17[b]	0.88±0.05	2.28±0.13	34.89±2.63
40	21.11±3.03[b]	0.85±0.03	2.23±0.08	33.00±1.36
50	21.42±2.82[b]	0.86±0.04	2.26±0.12	32.33±1.36
60	16.66±1.63[c]	0.85±0.05	2.24±0.13	31.65± 0.96

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 6 เนื่องจากไม่มี interaction ของ 2 ปัจจัยจึงทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระดับการแทนที่) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \geq 0.05$) สำหรับประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างระดับของการแทนที่ ($P \geq 0.05$)

5.2.5 องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลือง

โปรตีน

โปรตีนในปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ พบว่าชนิด และระดับการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ($P \geq 0.05$) ต่อระดับโปรตีนในเนื้อปลา (ตารางที่ 13) นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลอง ไม่มีผลต่อระดับโปรตีนในเนื้อปลา ($P \geq 0.05$) เช่นกัน โดยระดับโปรตีนในเนื้อ กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีค่าเท่ากับ 14.88±0.88 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีโปรตีนในเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 14.78±0.71 เปอร์เซ็นต์

ไขมัน

ไขมันในปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ พบว่าชนิด และระดับการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารมีอิทธิพลร่วมกัน ($P \leq 0.05$) ต่อระดับไขมันในเนื้อปลา (ตารางที่ 13) และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อระดับไขมันในเนื้อปลา ($P < 0.05$) โดยระดับไขมันในเนื้อปลา กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีระดับไขมันสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองที่มีกากถั่ว

เหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น โดยไขมันในเนื้อปลาทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 11.05±0.41 และ 9.78±0.74 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับการแทนที่ 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไขมันในตัวต่ำที่สุดใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) เท่ากับ 7.80±0.38 และ 7.83±0.21 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่าง ($P \geq 0.05$) กับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มที่ระดับการแทนที่ 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับการแทนที่ 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณไขมันเท่ากับ 9.52±0.58, 10.15±0.29, 9.16±0.61 และ 9.46±0.85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณไขมันในตัวสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่าง ($P \geq 0.05$) กับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มที่ระดับการแทนที่ 10, 20, 30, 40 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับการแทนที่ 10, 20 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณไขมันเท่ากับ 12.78±0.21, 12.17±0.56, 10.68±0.35, 11.10±0.40, 11.59±0.50, 11.90±1.98 และ 10.55±0.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เถ้า

ปริมาณเถ้าในตัวปลาหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ พบว่าชนิด และระดับการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารมีอิทธิพลร่วมกัน ต่อปริมาณเถ้าในเนื้อปลา ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 13) และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อปริมาณเถ้าในเนื้อปลาเช่นกัน ($P<0.05$) โดยปริมาณเถ้า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีค่าสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่น ปริมาณเถ้าในเนื้อปลาทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.44±0.13 และ 3.17±0.83 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้าต่ำที่สุดเท่ากับ 2.97±0.23 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) กับทุกชุดการทดลอง

ความชื้น

ระดับความชื้นของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ พบว่าชนิด และระดับของการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อระดับความชื้นในเนื้อปลา ($P \geq 0.05$) (ตารางที่ 13) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อระดับความชื้นในเนื้อปลา ($P<0.05$) โดยระดับความชื้นกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่น มีค่าสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่น ระดับความชื้นของปลาทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 71.10±0.61 และ 69.71±0.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และทุกชุดการทดลองมีค่าความชื้นอยู่ระหว่าง 68.19±0.01 ถึง 73.25±0.31 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้โปรตีน จากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1] (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด)

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด)				
	ระดับการแทนที่	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น
ปลาก่อนทดลอง		14.11±0.34	4.24±0.14	3.22±0.29	78.40±0.24
ถั่วเหลืองต้ม[2]	0	14.84±1.48^{a}	12.78± 0.21^{a}	3.46±0.16^{a}	68.19± 0.02^{c}
	10	15.72±0.35^{a}	12.17±0.56^{ab}	3.34±0.07^{a}	68.88±0.75^{c}
	20	15.07±1.21^{a}	10.68±0.35^{abcd}	3.22±0.04^{a}	69.97±0.68^{b}
	30	15.54±0.86^{a}	11.10±0.40^{abcd}	3.27±0.18^{a}	68.80±0.60^{ab}
	40	14.69±0.77^{a}	11.59±0.50^{abc}	3.11±0.13^{a}	69.91±0.92^{ab}
	50	14.40±0.86^{a}	9.52±0.58^{cde}	2.97±0.23^{a}	70.91±0.28^{a}
	60	14.17±0.54^{a}	10.15±0.29^{bcde}	2.99±0.11^{a}	70.37±0.79^{a}
กากถั่วเหลือง[3]	0	14.84±1.48^{a}	12.78±1.48^{a}	3.46±0.16^{a}	68.19±0.02^{c}
	10	14.43±0.74^{a}	11.90±1.98^{ab}	3.22±0.24^{a}	68.95±2.22^{c}
	20	14.78±0.79^{a}	10.55±0.96^{abcd}	3.16±0.13^{a}	70.58±0.74^{b}
	30	14.95±0.44^{a}	9.16±0.61^{de}	3.63±0.35^{a}	71.83±0.85^{ab}
	40	15.09±0.18^{a}	9.46±0.85^{cde}	3.69±0.23^{a}	71.31±0.31^{ab}
	50	14.94±0.60^{a}	7.80±0.38^{e}	3.47±0.31^{a}	73.69±1.09^{a}
	60	14.53±0.74^{a}	7.83±0.21^{e}	3.44±0.27^{a}	73.26±0.32^{a}
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (Pr>F)					
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง		ns	**	**	**
ระดับการแทนที่		ns	**	ns	**
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง x ระดับการแทนที่		ns	**	**	ns

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P≥0.05)

[2] ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และอบแห้ง

[3] กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

5.2.6 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลือง

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ดังในตารางที่ 14 พบว่าชนิดของผลิตภัณฑ์ และระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (no interaction) ต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ($P \geq 0.05$) แต่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด ที่นำมาใช้ในอาหารทดลองมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ($P<0.05$) คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่น มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 87.83 ± 1.07 และ 83.35 ± 3.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และอาหารที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยโปรตีนสูงใกล้เคียงกัน ($P \geq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 89.77 ± 0.52, 88.17 ± 0.64 และ 88.46 ± 0.64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนใกล้เคียงกันรองลงมา ขณะที่กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำที่สุดเท่ากับ 77.58 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ ($P<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง ยกเว้นกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	ระดับการแทนที่ (%)[2]	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
ถั่วเหลืองต้ม[3]	0	89.77±0.52	87.83±1.07[a]
	10	89.57±0.52	
	20	88.35±0.97	
	30	88.43±0.25	
	40	86.79±0.99	
	50	88.00±2.45	
	60	84.55±1.76	
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	0	89.77±0.52	83.35±3.83[b]
	10	86.77±3.05	
	20	88.58±0.30	
	30	86.23±1.78	
	40	78.28±11.60	
	50	85.36±1.24	
	60	70.60±8.31	
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (Pr>F)			
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง		**	
ระดับการแทนที่		**	
ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง xระดับการแทนที่		ns	

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 3)

[2] ระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

[3] ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 2 ชนิด แทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ระดับการแทนที่ (%)[2]	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%)
0	89.77[a]
10	88.17[a]
20	88.46[a]
30	87.33[ab]
40	82.54[bc]
50	86.68[ab]
60	77.58[c]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (N = 6 เนื่องจากไม่มี interaction ของ 2 ปัจจัย จึงทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระดับการแทนที่)
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ($P \geq 0.05$)

[2] ระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน

5.2.7 ราคาอาหารและต้นทุนการผลิต

จากการคำนวณราคาอาหารในส่วนของวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตอาหารทดลองแต่ละสูตร พบว่าสูตรควบคุมมีราคาอาหารสูงที่สุดเท่ากับ 28.58 บาทต่อ 1 กิโลกรัม สำหรับอาหารสูตรอื่น ๆ มีราคาอาหารลดลงตามสัดส่วนการเพิ่มระดับการใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร โดยสูตรอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้มแทนที่โปรตีนจากปลาป่น มีราคาระหว่าง 24.93 - 27.96 บาทต่อ 1 กิโลกรัม ส่วนสูตรอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นมีราคาระหว่าง 22.11 - 27.52 บาทต่อ 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 16) และจากการวิเคราะห์ต้นทุนค่าอาหารสูตรต่าง ๆ ต่อการผลิตปลากดเหลือง 1 กิโลกรัม พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีต้นทุนการผลิตปลาต่อหน่วยสูงที่สุด เท่ากับ 35.92±0.63 บาทต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม สำหรับสูตรที่มีการแทนที่ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปลามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม พบว่าสูตรที่ใช้ถั่วเหลืองต้มมีต้นทุนการผลิตปลาต่อหน่วยเท่ากับ 31.15±0.75 บาทต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม ในขณะที่สูตรที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีต้นทุนการผลิตปลาต่อหน่วยเท่ากับ 33.22±1.47 บาทต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม และเมื่อมีการเพิ่มระดับการแทนที่ถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในสูตรอาหารตั้งแต่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป พบว่าต้นทุนการผลิตต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม ลดลงเป็นลำดับ แต่ปลามีการเจริญเติบโตช้ากว่าสูตรควบคุมและสูตรอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ราคาค่าอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิตปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	ระดับการแทนที่ (%)	ราคาอาหาร[1] (บาทต่อกิโลกรัมอาหาร)	ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา[2] (บาทต่อกิโลกรัม)
ถั่วเหลืองต้ม	0	28.58	35.92±0.63
	10	27.96	31.15±0.75
	20	27.35	31.03±0.23
	30	26.73	29.01±2.13
	40	26.23	29.26±1.30
	50	25.50	29.56±1.11
	60	24.93	26.78±0.16
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	0	28.58	35.92±0.52
	10	27.52	33.22±1.47
	20	26.36	30.71±0.10
	30	25.34	30.29±1.14
	40	24.36	27.01±2.35
	50	23.20	29.35±7.80
	60	22.11	28.88±3.20

[1]คิดเฉพาะค่าวัตถุดิบอาหาร โดยไม่รวมค่า โครมิกออกไซด์ และ BHT (บาทต่อกิโลกรัมอาหาร)

[2]ต้นทุนการผลิตต่อหน่วย = น้ำหนักอาหารที่กิน (กิโลกรัม) X ราคาอาหาร (บาท) / น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม

5.2.8 คุณภาพน้ำ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลอง พบว่าอุณหภูมิมีค่าอยู่ระหว่าง 27.60 – 27.80 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 6.89 – 7.15 ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ 5.00 – 5.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนไตรท์ 0.03 – 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนเตรท 1.02 – 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแอมโมเนียรวมอยู่ระหว่าง 0.06 – 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงที่ปลากดเหลืองสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติ

6. วิจารณ์ผลการทดลอง

6. 1 ระดับการย่อยโปรตีนของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองโดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง

การคัดเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลากดเหลืองโดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลืองเป็นเอนไซม์ทดสอบครั้งนี้พบว่าเอนไซม์เปปซินในกระเพาะอาหารปลากดเหลืองหลังจากได้วิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โดยการใช้ HCl และ glycine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ระดับ pH 3.00 เป็นบัฟเฟอร์เร่งปฏิกิริยาโดยมีฮีโมโกลบินเป็นสับสเตรท พบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 2 ซ้ำ มีค่าเท่ากับ 193.77 และ 188.67 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสอาจมีความแตกต่างจากการทดลองของนักวิจัยท่านอื่นๆ เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายปัจจัย (ฐิรารัตน์, 2541) เช่น ชนิดปลา แหล่งเอนไซม์ที่นำมาสกัด ระดับ pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสายโปรตีน ฤดู และระยะเวลาในการจับเป็นต้น ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้มีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวกับพฤติกรรมของปลากดเหลืองที่มีการเลี้ยงที่มีสภาพเหมือนจริงก่อนที่จะนำข้อมูลพื้นฐานที่ได้มาใช้ในการทดลองเพื่อให้การศึกษาในครั้งนี้มีความคล้ายคลึงกับสภาพแวดล้อมมากที่สุด เช่น อุณหภูมิของน้ำในบ่อเลี้ยง ระดับ pH ในกระเพาะอาหารเพื่อประโยชน์ต่อการบ่มเอนไซม์ในระดับอุณหภูมิและระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เป็นต้น ซึ่งผลที่ได้น่าจะมีความใกล้เคียงกับความเป็นจริงอย่างมากและอาจมีความแตกต่างหรือสอดคล้องกับงานวิจัยในลักษณะเดียวกันของผู้วิจัยท่านอื่นๆ เช่น Francisco และ Laurent (2001) ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์โปรติเอสจากกระเพาะอาหารปลา seabream ทดสอบระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบชนิดต่างๆ และพบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสหลังจากใช้ HCl และ glycine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ระดับ pH 2.00 เป็นบัฟเฟอร์เร่งปฏิกิริยาโดยมีฮีโมโกลบินเป็นสับสเตรท และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที มีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสเท่ากับ 498 ยูนิตต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ฐิรารัตน์ (2541) พบว่าการสกัดเอนไซม์จากเครื่องในรวมปลาทูน่าครีบเหลืองโดยใช้สารละลายคาร์บอเนต – ไบคาร์บอเนตที่ระดับ pH 10.00 เป็นบัฟเฟอร์เร่งปฏิกิริยาและมีเคซีนเป็นสับสเตรทบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส (ทริปซิน) สูงที่สุดเท่ากับ 72.17 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส (ทริปซิน) มีค่าสูงกว่าการทดลองของวิภาวรรณ (2544) ที่ทดลองสกัดเอนไซม์จากเครื่องในรวมปลาทูน่าครีบเหลืองโดยใช้สารละลายคาร์บอเนต – ไบคาร์บอเนตที่ระดับ pH 10.00 เป็นบัฟเฟอร์เร่งปฏิกิริยา และมี เคซีนเป็นสับสเตรทบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเพียง 16.88 ยูนิตต่อมิลลิลิตรเท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างกันของค่ากิจกรรมของเอนไซม์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น สำหรับระดับการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบแต่ละชนิดโดยเอนไซม์โปรติ-เอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลืองทั้ง 2 ซ้ำในครั้งนี้ พบว่าปลาป่นมีระดับการย่อยโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Francisco และ Laurent (2001) ที่นำเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลา seabream เพื่อย่อยโปรตีนในวัตถุดิบ 2 ชนิด ได้แก่ ปลาป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน โดยพบว่าระดับการย่อยโปรตีนจากปลาป่นสูงกว่ากากถั่ว

เหลืองสกัดน้ำมันอย่างมีนัยสำคัญโดยมีค่าเท่ากับ 7.30 และ 3.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารต้านโภชนาการที่อยู่ในถั่วเหลืองมีผลทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยสลายสายโปรตีนในวัตถุดิบต่ำลง นอกจากนี้คุณภาพของวัตถุดิบโดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) ที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีน้อยกว่าปลาป่นจึงทำให้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนได้น้อยลง เช่นเดียวกับการทดลองของ Dim และ Haard (1994) และ Haard และคณะ (1996) ที่ศึกษาระดับการย่อยโปรตีนในอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ โดยพบว่าสูตรอาหารที่มีการใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูงขึ้นทำให้ระดับการย่อยโปรตีนต่ำลงตามลำดับ สำหรับผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับย่อยโปรตีนสูงที่สุดในการทดลองครั้งนี้คือ ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งระดับการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบดังกล่าวสูงกว่าผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเมล็ดถั่วเหลืองเมื่อผ่านการให้ความร้อนในอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมจะทำให้สารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอสหรือสารต้านโภชนาการ (protease inhibitor) น้อยลงไปหรือหมดไป (Helena *et al*, 2003) นอกจากนี้จะทำให้โปรตีนที่เกาะเป็นก้อนกลมมีการยืดหยุ่นและเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ จึงทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายสายโปรตีนในวัตถุดิบได้สูงขึ้น (Haard *et al*, 1996) แต่แตกต่างจากการทดลองของ Grabner และ Hofer (1985) ที่พบว่าถึงแม้เมล็ดพืชตระกูลถั่วได้แก่ broad bean จะมีสารต้านโภชนาการน้อยกว่าเมล็ดถั่วเหลืองเพียงเล็กน้อยหลังจากนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิด มาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีแต่พบว่าระดับการย่อยโปรตีนหลังการใช้เอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาเรนโบว์เทร้าท์ทดสอบเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ระดับการย่อยโปรตีนของเมล็ดถั่วเหลืองมีค่าสูงกว่า broad bean อย่างมีนัยสำคัญ โดยระดับการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 27.10 และ 10.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยผลที่ได้ดังนี้อาจเป็นเพราะคุณภาพโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่อาจสูญเสียไปในระหว่างการผลิต ระดับคาร์โบไฮเดรตในวัตถุดิบ และวิธีการในการผลิตวัตถุดิบที่แตกต่างกัน (Eldred and Rodney, 1946; Carpenter, 1958 อ้างโดย Grabner and Hofer, 1985)

อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่า ถั่วเหลืองต้มที่อุณหภูมิ100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่มีระดับการย่อยโปรตีนสูงอันดับ 1 และ 2 จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลากดเหลืองซึ่งแตกต่างกับ เมล็ดถั่วเหลืองดิบที่มีระดับการย่อยโปรตีนที่ต่ำเนื่องมาจากสาเหตุหลัก คือ ถั่วเหลืองดิบไม่มีกระบวนการผ่านความร้อนซึ่งอาจทำให้มีสารต้านโภชนาการอยู่ในระดับสูง จึงทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนต่ำลง จึงไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลากดเหลือง

6.2 การนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆในอาหารปลากดเหลือง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองหลังได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา โดยอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในระดับที่สูงขึ้นทำให้การเจริญเติบโตลดลง ซึ่งการแทนที่โปรตีนในปลาป่นที่ระดับสูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้น้ำหนักสุดท้ายของปลากดเหลืองลดลงเป็นลำดับ แสดงให้เห็นว่า การนำโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปใช้ในอาหารปลากดเหลืองสามารถนำมาใช้ได้เพียงระดับหนึ่งเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุเช่น ปลากดเหลืองเป็นประเภทปลากินเนื้อซึ่งมีปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตน้อยกว่าปลากินพืช (วีรพงศ์, 2536) จึงส่งผลให้ความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานน้อยลง สอดคล้องกับการทดลองของ จูอะดีและมะลิ (2538) ที่ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และข้าวโพดทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว ในอัตราส่วนกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและข้าวโพด 5:3 และระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นเท่ากับ 0, 25, 50, 75 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวเริ่มลดลง และอัตราการแลกเนื้อเพิ่มสูงขึ้นในสูตรอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและข้าวโพดที่ระดับ 50, 75 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สูตรควบคุม และสูตรอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและข้าวโพดที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเนื้อใกล้เคียงกัน ซึ่งจากการทดลองการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลากดเหลืองในครั้งนี้พบว่าการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารเท่านั้นที่ส่งผลให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก นอกจากนี้พบว่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ สอดคล้องกับปลากดอเมริกันที่ ถึงแม้ไม่มีโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารแต่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันอยู่ในสูตรอาหารร้อยละ 72 ของน้ำหนักอาหาร แต่ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนก็ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารที่มีปลาป่นอยู่ในสูตรอาหารร้อยละ 12 และ 6 และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันร้อยละ 54 และ 63 ตามลำดับ (Belal and Assem,1995)

คุณภาพของโปรตีนในวัตถุดิบขึ้นอยู่กับระดับกรดอะมิโนที่จำเป็นที่ปลาไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ซึ่งในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทุกชนิดมีระดับของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและไลซีน ที่มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีนในปริมาณน้อย (Dabrowski *et al* ,1989) ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำจึงมีขีดจำกัด เมื่อพิจารณาถึงระดับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและไลซีน ของสูตรควบคุมแล้วพบว่าระดับกรดอะมิโนเมทไธโอนีน และไลซีนมีค่าเท่ากับ 0.84, 2.65 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม และเมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 2.17 และ 6.84 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ แล้วพบว่าสูตรที่ใช้ถั่วเหลืองต้ม มีระดับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและไลซีน เท่ากับ 0.64 และ 2.53 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม และเมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 1.69 และ 6.68 ตามลำดับ สำหรับสูตรที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีระดับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและไลซีน เท่ากับ 0.57 และ

2.44 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม และเมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 1.46 และ 6.25 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ นั้นอาหารมีระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน ที่จำเป็นต่อความต้องการในปริมาณน้อย และไม่สมดุลเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม จึงส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาสูตรที่ใช้ถั่วเหลืองต้มทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน เท่ากับ 0.95, 2.52 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม และเมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 2.45 และ 6.51 ตามลำดับ สำหรับสูตรอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน เท่ากับ 0.84, 2.60 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม และเมื่อคิดเป็นร้อยละของโปรตีนในอาหารมีค่าเท่ากับ 2.16 และ 6.69 ซึ่งระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน ทั้ง 2 สูตรดังกล่าว มีค่าใกล้เคียงกับสูตรควบคุมจึงส่งผลให้การเจริญเติบโตของปลาไม่แตกต่างกับสูตรควบคุม ($P\geq0.05$) ซึ่งผลที่ได้อาจแตกต่างจากการทดลองของ ชุติมา และคณะ (2545) ที่ศึกษาความต้องการกรดแอมิโนในปลากดเหลืองโดย พบว่าระดับเมทไธโอนีน และไลซีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองอยู่ที่ร้อยละ 2.69 และ 3.47 ของโปรตีนในอาหาร แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งนี้เป็นระดับทดแทนปลาป่นที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งส่งผลให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tantikitti และคณะ (2005) ที่ศึกษา การเจริญเติบโตของปลากะพงขาว โดยใช้อาหารทดลองที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 0, 10, 20, 30,40, 50 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงปลากะพงขาว เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และพบว่า ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก สำหรับกลุ่มปลากะพงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และปลาเป็ด พบว่ามีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงเป็นลำดับ

การเจริญเติบโตของปลากดเหลืองที่ลดลง เมื่อมีการแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในระดับที่สูงขึ้นยังมีผลเนื่องมาจากปริมาณอาหารที่กินลดน้อยลง โดยน้ำหนักอาหารที่กินมีความผันแปรไปตามระดับการแทนที่ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง คือเมื่อมีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่นในระดับสูงขึ้นจะส่งผลให้ปลากดเหลืองกินอาหารน้อยลงเป็นลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของ Mundheim และคณะ (2004) ที่ศึกษาระดับการแทนที่ปลาป่นด้วย ข้าวโพด : ถั่วเหลืองอุดมไขมัน ในอัตราส่วน (2 :1) ในสูตรอาหารปลาแซลมอน โดยพบว่าเมื่อมีการใช้ข้าวโพด : ถั่วเหลืองอุดมไขมัน ในระดับ สูงขึ้น จะส่งผลต่อน้ำหนักอาหารที่กิน และการเจริญเติบโตลดลงเป็นลำดับ ซึ่งผลการศึกษามีความสอดคล้องกับการทดลองของ Opstvedt และคณะ (2003) ที่ศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยข้าวโพด และ ถั่วเหลืองอุดมไขมันที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของปลาแซลมอนเช่นกัน เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ ซึ่งพบว่าเมื่อมีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่นตั้งแต่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จะส่งผลให้น้ำหนักอาหารที่ปลากินลดลงเป็นลำดับ เนื่องจาก ความน่ากินของอาหารลดน้อยลง เมื่อมีการลดปริมาณปลาป่นในสูตรอาหาร เพราะปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อการกระตุ้นความอยากกินอาหารของปลาให้เพิ่มสูงขึ้น (palatability) ซึ่งสอดคล้องกับ

การทดลองของ Tantikitti และคณะ (2005) โดยพบว่าเมื่อมีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ส่งผลให้น้ำหนักอาหารที่ปลากะพงขาวกินลดลงเป็นลำดับ ซึ่งปริมาณอาหารที่ปลากินมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลาทดลองพบว่าในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่นมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นทั้งนี้เนื่องมาจากถั่วเหลืองต้มได้ผ่านความร้อนในอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสม ซึ่งสามารถทำลายสารต้านโภชนาการโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ (trypsin Inhibitor) ในถั่วเหลืองให้น้อยลง หรือหมดไป ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ทริปซินมีความสามารถในการย่อยสลายสารอาหารโปรตีนได้สูงขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Helena และคณะ (2003) ที่ศึกษาการนำกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน คือ 0, 5, 10, 20 และ 40 นาที มาใช้ในอาหารปลากดอเมริกัน และพบว่าชุดการทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เป็นชุดการทดลองที่ปลากดอเมริกันมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันได้ผ่านความร้อน และระยะเวลาที่เหมาะสม ทำให้ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ถูกทำลายจนเกือบหมดจึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองพบว่าปริมาณโปรตีนในตัวปลาไม่มีความแตกต่างกัน ($P\geq0.05$) ในทุกชุดการทดลอง แต่กลุ่มปลาที่ใช้ถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีระดับโปรตีนในเนื้อปลาสูงที่สุด และสูตรที่ใช้ถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่นในระดับสูงขึ้น มีระดับโปรตีนในเนื้อปลาน้อยลงตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มปลาที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่น โดยพบว่าการแทนที่ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อสูงที่สุด ส่วนปลาที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีนในเนื้อต่ำที่สุด โดยทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 14.17 ± 0.54 ถึง 15.72 ± 0.35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าโปรตีนในเนื้อปลาก่อนการทดลองที่มีค่าเท่ากับ 14.11 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์สำหรับปริมาณไขมันในตัวปลาพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรควบคุมมีค่าสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มที่ระดับการแทนที่ 10, 20, 30, 40 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 10, 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มที่ระดับการแทนที่ 50, 60 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 30, 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีปริมาณไขมันต่ำที่สุดใกล้เคียงกัน อาจเนื่องมาจากปริมาณอาหารที่ปลากิน โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักอาหารที่กินน้อยกว่าสูตรอื่น ๆ เช่นเดียวกับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 30, 40 , 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้ปลาได้รับพลังงานไม่เพียงพอต่อความต้องการสำหรับกระบวนการเมทาบอลิซึม และกิจกรรมต่าง ๆ ของร่างกาย ทำให้มีไขมันสะสมในตัวน้อยกว่ากลุ่มปลาที่กินอาหารได้มากกว่า ซึ่งจะมีการสะสมไขมันในตัวปลาสูงกว่า สำหรับปริมาณเถ้าในเนื้อปลาพบว่ากลุ่มปลาที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่ปลาป่นมีปริมาณมากกว่ากลุ่มปลาที่ใช้ถั่วเหลืองต้มแทนที่ปลาป่น

สำหรับการคำนวณราคาต้นทุนการผลิตอาหารโดยคิดเฉพาะราคาวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการทำอาหาร พบว่าเมื่อมีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ถั่วเหลืองดิบ และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับที่สูงขึ้นทำให้ราคาอาหารลดลงตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบราคาอาหารระหว่าง สูตรอาหารที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแล้วพบว่า การใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นในอาหารมีต้นทุนค่าอาหารต่อ 1 กิโลกรัม น้อยกว่าถั่วเหลืองต้มในทุกระดับการแทนที่ ทั้งนี้เนื่องจาก กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีราคาต่ำกว่าเมล็ดถั่วเหลือง แต่เมื่อพิจารณาถึงต้นทุนการผลิตต่อหน่วยแล้ว พบว่าการใช้ถั่วเหลืองต้มทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารยังมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สูตรอาหารที่มีการแทนที่ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปลามีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับสูตรควบคุม พบว่าอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้มมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำกว่าการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน โดยมีค่าเท่ากับ 31.15$\pm$0.75 และ 33.22$\pm$1.47 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังนั้น การใช้ถั่วเหลืองต้มทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลากดเหลืองจึงมีความเหมาะสมที่สุด ทั้งในแง่ผลผลิต และเศรษฐศาสตร์ ซึ่งเกษตรกรสามารถนำสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้ผลิตอาหารปลากดเหลือง เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อไป

จากการทดลองการใช้โปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในครั้งนี้ พบว่าการใช้โปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีการเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็น สามารถทำให้ น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ของปลากดเหลืองมีค่าใกล้เคียงกับสูตรควบคุมที่มีการใช้โปรตีนจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก นอกจากนี้การใช้ถั่วเหลืองต้มทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลากดเหลืองมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อีกทั้งยังมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำกว่าอีกด้วย

7. สรุปผลการศึกษา

ระดับการย่อยสลายโปรตีนของปลาป่น และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 3 ชนิด ในหลอดทดลอง โดยการบ่มกับเอนไซม์สกัดจากกระเพาะอาหารปลากดเหลือง พบว่าปลาป่นมีระดับการย่อยโปรตีนเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และถั่วเหลืองดิบ ($P<0.05$) โดยมีระดับการย่อยสลายโปรตีนเฉลี่ยเท่ากับ 10.21 ± 0.42, 9.08 ± 0.79, 7.76 ± 0.77 และ 5.63 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อนำถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 20 30 40 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลากดเหลืองในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทุกระดับมีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ ดีกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดสามารถใช้แทนที่ปลาป่นได้ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในปลาป่น โดยปลามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนแต่เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทุกระดับมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน แต่การแทนที่ปลาป่นด้วยถั่วเหลืองต้ม และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารลดลง

สำหรับต้นทุนการผลิตอาหาร พบว่าเมื่อมีการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิด ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับสูงขึ้นทำให้ราคาอาหารลดลง และการใช้ถั่วเหลืองต้มมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยต่ำกว่ากากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ตัวอย่างเช่นสูตรที่มีการแทนที่ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (การเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม) พบว่าอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองต้มและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยเท่ากับ 31.15 ± 0.75 และ 33.22 ± 1.47 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

การศึกษาระดับการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบชนิดต่างๆ ในหลอดทดลองครั้งนี้ ใช้เอนไซม์ที่สกัดจากกระเพาะอาหารปลาเป็นเอนไซม์ทดสอบเพียงแหล่งเดียวเท่านั้น ซึ่งค่าระดับการย่อยโปรตีนที่ได้จึงเป็นเพียงค่าที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนของเอนไซม์เปบซิน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ทริบซิน หรือ คัยโมทริปซินที่มีอยู่ในลำไส้ปลาด้วย และควรทำการทดลองเสริมกรดแอมิโนสังเคราะห์ในสูตรอาหารที่มีผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองต่อไปอีก เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและอื่นๆ

8. เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2547. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย. http://www.fisheries.go.th/it_stat/data_2547/menu_2547.htm เข้าถึงเมื่อวันที่ 26 ธันวาคม 2549.

จารุรัตน์ เศรษฐภักดี. 2528. อาหารสัตว์เศรษฐกิจสงขลา : คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 264 หน้า.

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุณยรัตผลิน. 2538. การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2538. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง. 12 หน้า.

ฐิรารัตน์ ประชุมรัตน์. 2541. ชนิดและคุณสมบัติของเอนไซม์จากเครื่องในปลาทูน่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นพวรรณ ฉิ้มสังข์. 2543. ความต้องการกรดอะมิโนไลซีนของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv.& Val.). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 440 หน้า.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2538. หลักการอาหารสัตว์ เล่ม 2 : หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์. กรุงเทพมหานคร : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 576 หน้า.

แพรวพรรณ ห้องทองแดง และดรุณี กอเซาะ. 2542. คู่มือการตรวจวิเคราะห์อาหารสัตว์ทางกล้องจุลทรรศน์ เล่ม 1 : วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีน. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 132 หน้า.

มะลิ บุณยรัตผลิน, ประวิทย์ สุรนีนาถ และชำมรงค์ ตันภิบาล. 2539. การแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆในอาหารปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2539. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง. 30 หน้า.

วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล. 2544. การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากเครื่องในปลาทูน่าในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและปุ๋ยน้ำ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 216 หน้า.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2542. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ. เอกสารคำสอนวิชา อาหารสัตว์น้ำเบื้องต้น. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 225 หน้า.

สุขาวดี กสิสุวรรณ. 2544. การอนุบาลปลากดแก้วในกระชังด้วยอาหารชนิดต่าง ๆ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 13/2544. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดสงขลา กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 17 หน้า.

อัจฉริยา เชื้อช่วยชู. 2542. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาโอแถบโดยวิธีการทางเอนไซม์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1985. Official Methods of Analysis. Washington, DC : AOAC.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1999. Official Methods of Analysis. Maryland : AOAC International.

Bassompierre, M., Kjaer, A. and Mclean, E. 1997. Simulating protein digestion on trout. A rapid and inexpensive method for documenting fish meal quality and screening novel protein sources for use in aquafeeds. Ribarstvo 55: 137 – 145.

Belal, I.E.H and Assem, H. 1995. Subtitution of soybean meal and oil for fish meal in practical diets fed to channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) : effects on body composition. Aquacult. Res. 26: 141 – 145.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S. 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Alabama Agriculture Experiment Station, Auburn University, Alabama.

Carter, C.G. and Hauler, R.C. 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture 185: 299 – 311.

Clesceri, L., Greenberg, A.E. and Trussell, R.R. 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, DC : American Public Health Association.

Chuapoehuk, W., Piadang, S. and Tinnungwattana, W. 1997. Pond feeding of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.) with irradiated activated sludge from the beer industry. Thai J. Agric. Sci., 30: 389 – 397.

De Silva, S.S. and Anderson, T.A. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. London : Chapman & Hall.

Dimes, L.E. and Haard, N.F. 1994. Estimation of protein digestibility – **I**. Development of an *in vitro* method for estimating protein digestibility in salmonids (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol. 108A: 349 – 362.

Dimes, L.E., Haard, N.F., Dong, F.M., Rasco, B.A., Forster, I.P., Fairgrieve, W.T., Arndt, R., Hardy, R.W., Barrows, F.T. and Higgs, D.A. 1994. Estimation of protein digestibility – **II**. *in vitro* assay of protein in salmonid feeds. Comp. Biochem. Physiol. 108A: 363 – 370.

Dabrowski, K., Poczyczynski, P., Kock, K. and Berger, B. 1989. Effect of partially replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). new in vivo test for exocrine pancreatic secretion. Aquaculture 77: 29 – 49.

Francisco, J.A., Francisco, J.M. and Manuel, D. 1999. Effect of inhibitors in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparus aurata*). Aquat. Living Res. 12: 233 - 238.

Francisco, J.A. and Laurent, S. 2001. Comparison of *in vitro* system of protein digestion using either mammal or fish proteolytic enzymes. Comp. Biochem. Physiol. 128A: 359 – 368.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish food. Bull. Jpn. Soc. Fish. 32: 502 - 506.

Grabner, M. and Hofer, R. 1985. The digestibility of the proteins of broad bean *(Vicia faba)* and soya bean *(Glycine Max)* under *in vitro* conditions simulating the alimentary tracts of rainbow trout *(Salmo gairdneri)* and carp *(Cyprinus carpio)*. Aquaculture 48: 111–122.

Haard, N.F., Dimes, L.E., Arndt, R.E. and Dong, F.M. 1996. Estimation of protein digestibility-IV. digestive proteinases from the pyloric caeca of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets containing soybean meal. Comp. Biochem. Physiol. 115B: 533–540.

Halver, J.E. 1989. Fish Nutrition 2nd edition. New York : Academic Press.

Helena, P., Chhorn, L. and Phillip, H.K. 2003. Nutritional value of heat – treated soybean meal for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 225: 67 – 82.

Lovell, R.T. 1989. Diet and fish husbandry. pp. 550 - 604. *In* J.E Halver (ed.). Fish Nutrition. 2nd edition, New York : Academic Press.

Mundheim, H., Anders, A. and Hope, B. 2004. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. Aquaculture 237: 315 – 331.

Meng, H. and Robinson, E.H. 1998. Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture 163: 297 – 307.

Mohsen, A.A. and Lovell, R.T. 1990. Partial substitution of soybean meal with animal protein sources in diets for channel catfish. Aquaculture 90: 303 – 311.

Opstvedt, J., Aksnes, A., Hope, B. and Pike, I.H. 2003. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. Aquaculture 221: 365 – 379.

Storebakken, T., Kvien, I.S., Shearer, K.D., Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Berge, G.M. 1998. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*) : evaluation of different faecal collection methods. Aquaculture 169: 195 – 210.

Shiau, S.Y., Chuang, J.L. and Sun, C.L. 1987. Inclusion of soybean meal in tilapia, *(Oreochromis niloticus x O. aureus)* diets at two protein levels. Aquaculture 65: 251–261.

Sitasit, P. 1993. Feed ingredients and quality control, pp. 75 - 86. *In* M.B. New, A.G.J. Tacon and I. Csavas (eds.) Farm Made Aquafeeds. Proceedings of the FAO/AADCP Regional Expert Consultation on Farm Made Aquafeeds, 14 - 18 December 1992, Bangkok, Thailand. FAO - RAPA/AADCP, Bangkok, Thailand.

Tantikitti, C., Sangpong, W. and Chiavareesajja, S. 2005. Effect of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture 248: 41 – 50.

Tacon, A.G.J. 1992. Nutritional Fish Pathology : Morphological Signs of Nutrient Deficiency and Toxicity in Farmed Fish. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nation.

Viola, S., Arieli, Y. and Zohar, G. 1988. Animal protein free for feeds hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x O. aureus*) in intensive culture. Aquaculture 75: 115 – 125.

Webster, C.D., Tidwell, J.H., Goodgame, L.S., Yancey, D.H. and Mackey, L. 1992. Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus.* Aquaculture 106: 301 – 309.

Webster, C.D., Tiu, L.G., Tidwell, J.H. and Grizzle, J.M. 1997. Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal. Aquaculture 150: 103 – 112.

Wee, K.L. and Shu, S.W. 1989. The nutritive value of boiled full–fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquaculture 81: 303 – 314.