การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมี และเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)

Replacement of Fishmeal by Soybean Meal on Growth Performance, Feed Efficiency, Chemical Composition and Histology of Digestive Tract in Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)

นิฮารีฟัร เจษฎาภา

Nihareefun Chessadapa

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Aquatic Science
Prince of Songkla University
2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมี และเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)

ผู้เขียน นายนิฮารีฟัร เจษฎาภา

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

..... (รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

..... (ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ตันติกิตติ)

.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....กรรมการ (ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

.....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พ้วน เพ่งเช้ง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมี และเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)

ผู้เขียน นายนิฮารีฟัร เจษฎาภา

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

ปีการศึกษา 2553

บทคัดย่อ

ศึกษาระดับของกากถั่วเหลือง ทดแทนปลาป่นในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) ระยะวัยรุ่น ใช้อาหารทดลองที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในอาหาร ใช้ปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 1.08 ± 0.05 ถึง 1.12 ± 0.07 กรัมต่อตัว เป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 15 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ยังพบว่า ปลาที่ได้รับอาหาร ที่มีกากถั่วเหลือง 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนแตกต่าง ทางสถิติกับปลาที่ได้อาหาร ที่มีกากถั่วเหลือง 60 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 15 เปอร์เซ็นต์ แตกต่าง ทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหาร ที่มีกากถั่วเหลือง 60 เปอร์เซ็นต์ ค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 15 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหาร ที่มีกากถั่วเหลือง 60 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อัตราการรอดตายในกลุ่มปลา ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่าและ แตกต่าง ทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ในการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของระบบทางเดินอาหาร (กระเพาะอาหาร ตับ ลำไส้ตอนต้น และลำไส้ตอนปลาย) และไต ไม่พบความผิดปกติ ในปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกชุดการทดลอง

Thesis Title	Replacement of fishmeal by soybean meal on growth performance, feed efficiency, chemical composition and histology of digestive tract in Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)
Author	Mr. Nihareefun Chessadapa
Major Program	Aquatic Science
Academic Year	2010

ABSTRACT

The study on the effects of fishmeal replacement by soybean meal in Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhofii*) juveniles was undertaken by feeding the fish (average weight of 1.08 ± 0.05 - 1.12 ± 0.07 g) with the test using soybean meal replacing fishmeal protein at the levels 0, 15, 30, 45 and 60 % for 14 weeks. The results found that the average weight, weight gain and specific growth rate of the fish fed test diets with 15 % soybean meal replacement of fishmeal protein were significantly different ($p<0.05$) from those fed test diet with 60 % soybean meal replacement of fishmeal protein. Protein efficiency ratio (PER) of the fish fed test diets with 15 % and 30% soybean meal replacement of fishmeal protein were significantly different ($p<0.05$) from the fish fed a diet with 60 % soybean meal replacement of fishmeal protein. The apparent net protein utilization (ANPU) in the fish fed test diets with 15 % soybean meal replacement of fishmeal protein was significantly different ($p<0.05$) from those fed test diet with 60 % soybean meal replacement of fishmeal protein. The digestibility of protein in the fish fed test diets with 15 % soybean meal replacement of fishmeal protein was significantly different ($p<0.05$) from those fed test diet with 60 % soybean meal replacement of fishmeal protein. Survival of the fed test diet with 60 % soybean meal replacement of fishmeal protein was lowest and different ($p<0.05$) from others treatments. Histology of digestive tract (stomach, liver, and intestine) and kidney in Nieuhofii's catfish did not find any abnormalities in fish fed all experimental diets.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(9)
รายการตารางภาคผนวก	(10)
รายการภาพประกอบ	(11)
บทที่1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
1. ปลาดุกลำพัน	3
1.1 อนุกรมวิธาน	3
1.2 แหล่งที่อยู่อาศัย	4
1.3 การเพาะพันธุ์	5
1.4 อาหารปลาดุกลำพัน	5
2. อาหารสัตว์น้ำ	6
2.1 สารอาหาร	7
2.2 โปรตีน	7
2.3 โครงสร้างของโปรตีน	7
2.4 หน้าที่ของโปรตีน	8
2.5 กรดอะมิโน	9
3. ความต้องการโปรตีนของปลา	10
4. แหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์น้ำ	10
4.1 ปลาป่น	11
4.2 ผลิตภัณฑ์จากพืชที่ใช้เป็นโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลา	14
4.3 กากถั่วเหลือง	14
5. การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ	21
6. ประสิทธิภาพการย่อย	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	27
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	28
1. วัสดุ	28
2. อุปกรณ์	28
3. วิธีการทดลอง	31
3.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง	31
3.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง	31
3.3 การเตรียมอาหารทดลอง	31
4. แผนการทดลอง	32
5. การเก็บรวบรวมข้อมูล	35
6. การวิเคราะห์ข้อมูล	38
3. ผลการทดลอง	39
3.1 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหาร	39
3.2 ความผิดปกติและพฤติกรรมของปลาดุกลำพัน	39
3.3 การตรวจสอบการเจริญเติบโต และอัตราการรอด	39
3.3.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว	39
3.3.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย	43
3.3.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ, ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน, การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร	45
3.3.4 ส่วนประกอบทางเคมีของตัวปลาหลังการทดลอง	47
3.4 เนื้อเยื่อวิทยาของระบบทางเดินอาหาร	49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	57
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	64
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	78
ประวัติผู้เขียน	91

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง	15
2. องค์ประกอบของกรดอะมิโนของกากถั่วเหลือง	16
3. สูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง	34
4. ปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร จากการคำนวณ	35
5. ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง ที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่แตกต่างกัน	42
6. น้ำหนักปลาดุกลำพัน (กรัม/ตัว) ที่ได้รับอาหารทดลอง แต่ละสูตรตลอดระยะเวลาในการทดลอง	44
7. เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตาย ของปลาดุกลำพันที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ	45
8. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ, ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน, การใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ และประสิทธิภาพการย่อย โปรตีนในอาหาร ของปลาดุกลำพันที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ	47
9. ค่าองค์ประกอบทางโภชนาการของปลาดุกลำพันทั้งก่อน และหลังการทดลอง	49

รายการตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1. ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ	88
2. การย้อมสีมีขั้นตอนต่าง ๆ	90

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
1. สายเพปไทด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อของกรดอะมิโน 2 ตัว	8
2. ปริมาณปลาป่นของโลกที่ได้จากประเทศหลักๆในการผลิตปลาป่น (1976 - 2003)	12
3. การนำเข้าปลาป่นมาใช้ในประเทศหลักๆ ที่ผลิตปลาป่น (1976 - 2003)	12
4. ราคาเฉลี่ยของปลาป่น และกากถั่วเหลืองป่นในตลาดโลกในปี 1997 – 2004	13
5. เปรียบเทียบราคาของปลาป่น และกากถั่วเหลืองป่นใน 2002 – 2003	14
6. การเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหาร ที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น ในระดับต่างๆ เป็นเวลา 14 สัปดาห์	42
7. เนื้อเยื่อตับของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์	51
8. เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์	53
9. เนื้อเยื่อลำไส้ตอนต้นของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์	54
10. เนื้อเยื่อลำไส้ตอนปลายของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์	55
11. เนื้อเยื่อไตของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์	56

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปลาดุกลำพัน เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด มีการแพร่กระจายตัวในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นปลาที่มีแหล่งที่อยู่อาศัยจำกัดเฉพาะในป่าพรุรกทึบและบริเวณน้ำตกบางแห่งที่มีสภาพของดินและน้ำเป็นกรด ในประเทศไทยพบได้ในบริเวณภาคใต้ และบางบริเวณของภาคตะวันออก ปลาดุกลำพันเป็นปลาน้ำจืดที่มีรสชาติดีและเป็นที่นิยมบริโภค และยังสามารถนำมาเลี้ยงเป็นปลาสวยงามได้อีกด้วย (สัมพันธ์, 2545) ปัจจุบันปลาดุกลำพันในธรรมชาติพบจำนวนน้อยมาก โดยสามารถพบได้ในพรุน้ำจืดในบางพื้นที่ของภาคตะวันออก และภาคใต้เท่านั้น เนื่องจากการจับปลาจากธรรมชาติมาบริโภคมากเกินกำลังผลิต รวมถึงมีการบุกทำลายพื้นที่อยู่อาศัยของปลาดุกลำพัน จึงทำให้ปลาชนิดนี้ในธรรมชาติอาจสูญพันธุ์ไปอย่างรวดเร็ว (พันธสิทธิ์และคณะ, 2551) ซึ่งสำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม (2540) ได้จัดว่าปลาดุกลำพันเป็นปลาที่มีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ ซึ่งอาจมีสาเหตุจากแหล่งที่อยู่อาศัยเสื่อมโทรม และมีการบุกรุกแหล่งที่อยู่อาศัย การเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพันเป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุ์ปลาได้ทางหนึ่ง โดยพรพนม (2538) รายงานว่า สามารถใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในการผสมเทียมปลาดุกลำพันได้ ขณะที่ Kiriratnikom และคณะ (2007) ได้ทดลองผสมเทียมปลาดุกลำพัน และอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน ด้วยอาร์ทีเมีย และไข่ตุ๋นผสมปลาป่น จนถึงระยะปลานิ้ว พบว่ามีอัตราการรอดตายสูง นอกจากนี้ สุภฎา และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษาผลของโปรตีนในอาหารของปลาดุกลำพันในระดับต่าง ๆ คือ 32, 36, 40 และ 44 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดของปลาดุกลำพันในระยะปลานิ้ว โดยใช้ลูกปลาดุกลำพันที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 8.35-8.46 กรัมต่อตัว เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 40 และ 44 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด และแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 32 และ 36 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 40 และ 44 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด นิฮารีฟัร และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาผลของโปรตีนในอาหารของปลาดุกลำพัน (น้ำหนักเริ่มต้น 4.98±0.04-5.04±0.04 กรัม) ในระดับต่าง ๆ คือ 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 และ 42 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10

สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 38-42 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด โดยที่มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีน 38-42 เปอร์เซ็นต์ ยังมีค่าการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิสูงที่สุด และพบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าสูงสุดเฉพาะในปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์

เนื่องจากการเลี้ยงปลาดุกลำพันจำเป็นต้องใช้อาหารที่ระดับโปรตีนสูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองที่เคยมีรายงานได้ทำการศึกษาโดยใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียวทำให้ค่าอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาดุกลำพันมีต้นทุนสูง ดังนั้น การที่จะลดต้นทุนค่าอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาดุกลำพันจึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาการใช้โปรตีนทดแทนปลาป่น เช่น แหล่งโปรตีนทดแทนจากสัตว์ แหล่งโปรตีนทดแทนจากพืช และแหล่งโปรตีนทดแทนจากจุลินทรีย์ (Hertrampf and Piedad-Pascaul, 2000) ทั้งนี้ กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบทดแทนโปรตีนที่มีปริมาณมากและมีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น (ยุพร, 2550) แม้ว่าจะมีข้อจำกัดด้านความไม่สมดุลของกรดอะมิโน (Hertrampf and Piedad-Pascaul, 2000) และสารต้านโภชนาการหลายชนิด (จารุวัฒน์, 2528) แต่จากการรายงานในปลาชนิดอื่น พบว่า การใช้กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับที่เหมาะสมทำให้ปลามีการเจริญเติบโตและมีสุขภาพดี เช่น ในปลากะรังดอกแดง (*Epinephelus coioides*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในอาหารโดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (อัตรา และคณะ, 2546) ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในอาหารโดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (Tantikitti *et al*., 2005) ในปลาไน (*Cyprinus carpio*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในอาหาร (Dabrowski and Kozak, 1979) เป็นต้น

การวิจัยครั้งนี้ ดำเนินการเพื่อหาระดับของกากถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร คุณภาพซาก เนื้อเยื่อวิทยา และประสิทธิภาพการย่อยในปลาดุกลำพัน ซึ่งคาดหวัง ว่างานวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาสูตรอาหารที่มีต้นทุนต่ำลงสำหรับเลี้ยงปลาดุกลำพันต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. ปลาดุกลำพัน

1.1 อนุกรมวิธานของปลาดุกลำพัน (Smith, 1945)

Kingdom Animalia

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Class Actinopterygii

Order Siluriformes

Family Clariidae

Genus Clarias

Species *nieuhofii*

Common Name: Nieuhofii's Catfish

ปลาดุกลำพัน เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด จัดอยู่ในครอบครัว Clariidae เช่นเดียวกันกับปลาดุกทั่วไป แต่ต่างกันที่ครีบหลัง ครีบหาง และครีบก้นเชื่อมต่อกัน ในขณะที่ปลาดุกทั่วไปมีครีบที่แยกออกจากกันชัดเจน โดยในประเทศไทยพบปลาดุกลำพัน 1 สกุล 2 ชนิด คือ

1. *Prophagorus nieuhofii* มีลักษณะที่สำคัญ คือ ความลึกของลำตัว 1 ใน 8.0-9.3 ของความยาวมาตรฐาน และก้านครีบหลัง 87-106 ก้าน ก้านครีบก้น 69-95 ก้าน

2. *P. cataractus* ความลึกของลำตัว 1 ใน 6.5 ของความยาวมาตรฐาน และก้านครีบหลัง 67 ก้าน ก้านครีบก้น 54 ก้าน

โสภา (2513) ได้จำแนกปลาดุกลำพันตามลักษณะ ดังนี้

1. ครีบหลัง ครีบก้น และครีบหาง ติดต่อกันเป็นพืด โดยที่ตรงปลายของครีบไม่แยกออกจากกัน เรียกพวกนี้ว่า *Prophagorus* sp.

2. ครีบหลัง ครีบก้น และครีบหาง ติดต่อกัน แต่ตอนปลายของครีบทั้ง 3 แยกออกจากกันอย่างเห็นได้ชัดแบ่งเป็น

2.1 ความลึกของลำตัวประมาณ 1 ใน 8.0-9.3 ของความยาวมาตรฐาน ครีบหลังมีก้านครีบ 87-106 อัน ครีบก้นมีก้านครีบ 69-95 อัน ฟันที่กระดูกส่วนกลางเพดานปากเป็นแถบโค้ง แต่บริเวณตรงกึ่งกลางของแถบยื่นยาวออกไปทางด้านหลัง เรียกว่า *Prophagorus nieuhofii* พบที่ จ. พัทลุง และที่ อ. หลังสวน จ. ชุมพร

2.2 ความลึกของลำตัวประมาณ 1 ใน 6.5 ของความยาวมาตรฐาน ครีบหลังมีก้านครีบ 54-67 อัน ครีบก้นมีก้านครีบ 51-54 อัน ฟันที่กระดูกส่วนกลางเพดานปากเป็นแถบโค้ง เรียกว่า *Prophagorus cataractus* พบที่ จ. นครศรีธรรมราช

มีนักอนุกรมวิธานหลายท่านเสนอว่าปลาดุกสกุล *Prophagorus* น่าจะเป็นปลาที่อยู่ในสกุล *Clarias* เนื่องจากลักษณะการติดกันของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหาง ที่ใช้ในการจำแนกเป็นลักษณะที่ไม่แน่นอน โดยอาจเกิดจากบริเวณหางปลาได้รับความเสียหายจากการกัดกันเอง หรือจากสิ่งแวดล้อม จึงกล่าวได้ว่าปลาดุกลำพัน *Prophagorus nieuhofii* เป็นปลาชนิดเดียวกับ *Clarias nieuhofii* และ *Prophagorus cataractus* เป็นปลาชนิดเดียวกับ *Clarias cataractus* (Lim and Ng, 1999; Rainboth, 1996; Teugels, 1986)

Lim (1994) ได้ศึกษาข้อมูลทางชีววิทยาในปัจจุบัน พบว่าปลาชนิดนี้มีครีบดังกล่าวแยกจากกัน จึงถูกจัดจำแนกใหม่ เนื่องจากตัวอย่างปลาที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดมีครีบหาง ครีบหลัง และครีบก้น เชื่อมติดกันทั้งหมด ซึ่งเกิดขึ้นจากความไม่สมบูรณ์ของตัวอย่างที่นำมาจำแนกชนิด โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhofii* (Lim and Ng, 1999) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังมีการรายงานพบปลาที่มีลักษณะคล้ายปลาดุกลำพันในเกาะเบอร์เนียว แต่มีสัดส่วนลำตัวที่แตกต่างกันเล็กน้อย และจากการศึกษาความแตกต่างของอะโลไซม์ (allozyme) พบว่า โลคัส (locus) ของ ฟอสโฟกลูโคมูเทส (phosphoglucomutase, PGM*) ก็มีความแตกต่างกันจึงทำให้จัดจำแนกปลาชนิดดังกล่าวให้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias pseudonieuhofii* (Guy *et al*., 2004)

1.2 แหล่งที่อยู่อาศัย และการแพร่กระจายในประเทศไทย

ปลาดุกลำพันเป็นปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณป่าพรุที่รกทึบมีกระแสน้ำไหลเอื่อย ๆ หรือเป็นแอ่งน้ำที่ค่อนข้างนิ่ง มักอยู่ตามพื้นท้องน้ำที่เป็นดินโคลน มีซากวัชพืชหรือใบไม้ทับถม นอกจากนี้ยังพบปลาดุกลำพันหลบซ่อนและหาอาหารในบริเวณป่าเสม็ด ดงสาคู หลุมพี กระจูด กระจูดหนูหรือหญ้ากระทงเทียม หญ้าคมบาง และป่ากก เป็นต้น (สัมพันธ์, 2545)

การแพร่กระจายของปลาดุกลำพันพบที่บริเวณป่าพรุโต๊ะแดง พรุปิเหล็ง พรุปรักปลา พรุกาบแดง และพรุบาเจาะ จ. นราธิวาส พรุน้ำดำ อ. ทุ่งยางแดง จ. ปัตตานี พรุท่าธง พรุนางพญา อ. รามัน และพรุคอกช้าง อ.เมือง จ. ยะลา พรุกระจูด อ. เทพา จ. สงขลา พรุควนเคร็ง ที่เป็นรอยต่อของ 3 จังหวัด คือ อ. ควนขนุน จ. พัทลุง อ. ชะอวด และ อ. หัวไทร จ. นครศรีธรรมราช และ อ. ระโนด จ. สงขลา (ศราวุธ และคณะ, 2538) นอกจากนี้ Smith (1945) ได้รายงานว่า ยังพบปลาดุกลำพันในแม่น้ำตราด บริเวณเขาสมิง จ. ตราด อีกด้วย

1.3 การเพาะพันธุ์ปลาดุกลำพัน

ศราวุธ และคณะ (2538) รายงานว่าปลาดุกลำพันมีฤดูวางไข่อยู่ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง ธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนสูงที่สุดในรอบปี โดยปลาที่มีขนาดเล็กที่สุดที่มีพัฒนาการของไข่ในรังไข่มีน้ำหนัก 230 กรัม และมีไข่ 3,340 ฟอง ขณะที่ปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่มีการพัฒนาของรังไข่มีน้ำหนัก 700 กรัม และมีปริมาณไข่ 10,435 ฟอง อุดมชัย และสุวรรณี (2529) รายงานว่าปลาดุกลำพันสามารถเพาะขยายพันธุ์ได้เช่นเดียวกันกับปลาดุกชนิดอื่นๆ โดยการฉีดต่อมใต้สมองปลาเพศเมีย 1 โดส หลังจากนั้น 6-8 ชั่วโมง จึงฉีดครั้งที่ 2 เป็นปริมาณ 2 โดส ในระยะเวลา 12-14 ชั่วโมง ปลาจะพร้อมในการวางไข่ สามารถผสมเทียมได้ด้วยวิธีการผสมแบบเปียก ลูกปลาฟักออกเป็นตัวใน 30-36 ชั่วโมง และเริ่มกินอาหารในวันที่ 4 หลังฟักออกเป็นตัว ทั้งนี้ พรพนม (2538) ได้รายงานว่าสามารถผสมเทียมปลาดุกลำพันได้โดยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ลูเทียไนซิงฮอร์โมน-รีลิสซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone-relieasing hormone; LH-RH) ร่วมกับดอมเปอริโดน (domperidone) โดยฉีดฮอร์โมนลูเทียไนซิงฮอร์โมน-รีลิสซิงฮอร์โมนในระดับ 10 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับดอมเปอริโดน 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ในครั้งแรก หลังจากนั้น 6 ชั่วโมง จึงฉีดลูเทียไนซิงฮอร์โมน-รีลิสซิงฮอร์โมน ในระดับ 5-15 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับดอมเปอริโดน 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ปลาจะพร้อมในการวางไข่ในระยะเวลา 14 ชั่วโมงหลังการฉีดเข็มที่ 2

1.4 อาหารของปลาดุกลำพัน

ปลาดุกลำพันเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบอาหารในกระเพาะของปลาที่จับจากธรรมชาติ โดยศราวุธ และคณะ (2538) พบว่าอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของปลาดุกลำพันประกอบด้วยเนื้อปลา 73.6 เปอร์เซ็นต์ เนื้อปู และกุ้ง 12.3 เปอร์เซ็นต์ แมลง 1.7 เปอร์เซ็นต์ ซากอินทรีย์ 1.2 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 11.2 เปอร์เซ็นต์ จากการวัดความยาว

ลำไส้ต่อความยาวตัว พบว่าปลาดุกลำพันมีอัตราส่วนความยาวลำไส้ต่อความยาวตัว 0.652 $\pm$ 0.04 เท่า ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่สามารถจัดให้อยู่ในกลุ่มปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ และอาจจัดอยู่ในกลุ่มปลาที่กินเนื้อเป็นอาหารได้เช่นกัน

2. อาหารสัตว์น้ำ

อาหารสัตว์น้ำ หมายถึง สิ่งที่สัตว์น้ำบริโภคเข้าไปแล้วไม่ก่อให้เกิดโทษ แต่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย โดยช่วยทำให้ร่างกายเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ให้พลังงานทำให้กระบวนการทำงานของร่างกายเป็นไปอย่างปกติ อาหารสัตว์น้ำมีส่วนสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพผลผลิตสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ต้นทุนประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวกับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งผู้เลี้ยงจะต้องทำความเข้าใจในเรื่องของอาหารและการให้อาหารที่ถูกต้อง การให้อาหารอย่างถูกต้องและเหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการเลี้ยงสัตว์น้ำให้ประสบความสำเร็จ หากสัตว์น้ำได้รับอาหารที่มีคุณภาพดี มีสารอาหารครบถ้วนและเพียงพอจะส่งผลให้มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง มีความต้านทานต่อโรคสูง เจริญเติบโตเร็วและให้ผลผลิตสูงดังนั้นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องคำนึงถึงคุณค่าและปริมาณที่เหมาะสมของอาหาร เพื่อให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตดี มีสุขภาพแข็งแรง (Landau, 1992; Van Weed, 1995)

สัตว์น้ำหรือสิ่งมีชีวิตต่างๆ ต้องการอาหารบริโภคเพื่อดำรงชีวิต มีการเจริญเติบโตและสามารถแพร่ขยายพันธุ์ ถ้าสัตว์น้ำได้รับอาหารอย่างเพียงพอและเป็นอาหารที่มีคุณภาพดี สัตว์น้ำก็จะมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว สุขภาพดี แข็งแรง และมีประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ที่ดี อันเป็นสิ่งที่อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องการ อาจกล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะประสบผลสำเร็จหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับคุณภาพ ปริมาณ และราคาของอาหารสัตว์น้ำเป็นสำคัญ (มงคล, 2548; นฤมล, 2550)

อาหารสัตว์น้ำมีผลต่อสุขภาพสัตว์น้ำหลายด้าน การที่สัตว์น้ำได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ หรือในภาวะบกพร่องทางโภชนาการ ย่อมทำให้การเจริญเติบโตของร่างกายไม่สามารถดำเนินต่อเนื่องไปได้ปกติ เกิดความผิดปกติของร่างกายทั้งทางด้านโครงสร้าง รูปร่าง และขนาด ถ้าเหตุการณ์เช่นนี้เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำในระยะวัยอ่อน ย่อมส่งผลกระทบต่อเนื่องถึงการทำงานของสมองและระบบประสาทในระยะต่อมา บางกรณีอาจรุนแรงจนทำให้การทำงานของสมอง และระบบประสาทเสื่อมได้ (Halver and Hardy, 2002)

2.1 **สารอาหาร** (Nutrients)

สารอาหาร หมายถึง สารเคมีที่อยู่ในอาหาร ซึ่งเมื่อสัตว์น้ำบริโภคเข้าไปแล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการมีชีวิต สามารถจำแนกได้ 2 กลุ่ม คือ

สารอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย ได้แก่ สารประกอบอินทรีย์ จำพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน

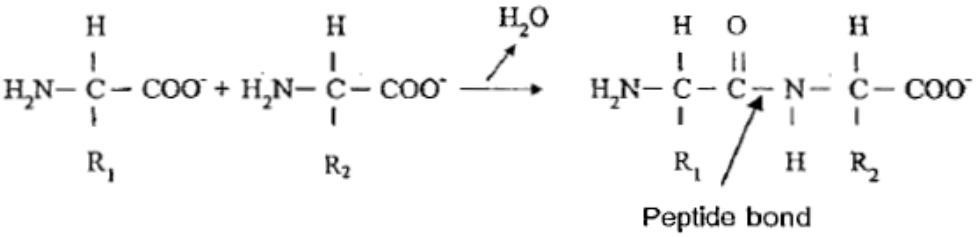
สารอาหารที่ไม่ให้พลังงานแก่ร่างกาย ได้แก่ วิตามิน และสารประกอบอนินทรีย์จำพวกเกลือแร่และน้ำ (Halver and Hardy, 2002)

2.2 **โปรตีน** (Protein)

โปรตีนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของร่างกายทั้งในเรื่องของการสร้างการเจริญเติบโต เป็นโครงสร้างของร่างกาย และยังสำคัญในแง่ของเอนไซม์และสารประกอบอื่น ๆ ที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึม และการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต โปรตีนจึงเป็นส่วนประกอบ ที่สำคัญในอาหารทั้งในคุณภาพและปริมาณ และที่สำคัญในด้านอาหาร คือวัตถุดิบโปรตีนที่มีคุณภาพนั้นมักหายากและมีราคาแพง (ชุติมา, 2549)

2.3 **โครงสร้างของโปรตีน**

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนและมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วย กรดอะมิโน (amino acid) จำนวนหลายชนิดเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว โดยมี พันธะเพปไทด์ (peptide bond) เชื่อมระหว่างหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) ของกรดอะมิโน ตัวหนึ่งและหมู่อะมิโน (amino group) ของกรดอะมิโนอีกตัวหนึ่ง โดยการกำจัดน้ำออกไปหนึ่งโมเลกุล โดยมีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสายเพปไทด์เดียวกันหรือต่างกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond), พันธะซัลไฮดริล (sulhydryl bond) หรือแรงยึดเหนี่ยววานเดอร์วาล (Van der Waals) (ชุติมา,. 2549) (ดังแสดงในภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 สายเพปไทด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อของกรดอะมิโน 2 ตัว
ที่มา: Branden และ Tooze (1991)

2.4 หน้าที่ของโปรตีน (วีรพงศ์, 2536)

1. เอนไซม์ (enzyme) มีหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น เอนไซม์ในกระบวนการหายใจ การสังเคราะห์โปรตีน ถ้าเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยอาหาร เรียกว่า น้ำย่อย เช่น อะไมเลส (amylase) และเพปซินไลเปส (pepsin lipase)

2. โปรตีนขนส่ง (transport protein) ได้แก่ โปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่งสารต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น เฮโมโกลบิน (hemoglobin) ขนส่งออกซิเจนในเลือด ไมโอโกลบิน (myoglobin) ช่วยลำเลียงออกซิเจนในเซลล์กล้ามเนื้อลาย อัลบูมิน (albumin) ช่วยขนส่งไขมัน

3. โปรตีนโครงสร้าง (structural protein) เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างของร่างกาย เช่น เคราติน (keratin) ในเส้นผมและขนสัตว์ คอลลาเจน (collagen) ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกระดูก โปรตีนพวกนี้จะมีกรดอะมิโน ซีสเทอีน ซึ่งมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่มาก ทำให้มีการคงตัวสูง

4. โปรตีนสะสม (storage protein) เป็นโปรตีนที่สะสมเป็นคลังอาหาร เช่น อัลบูมิน (albumin) ในไข่

5. โปรตีนฮอร์โมน (protein hormone) เป็นโปรตีนที่ควบคุมการทำงานของร่างกายให้ปกติ เช่น ฮอร์โมนเจริญเติบโต (growth hormone) อินซูลิน (insulin) ฮอร์โมนกระตุ้นต่อมไทรอยด์ (thyroid stimulating hormone)

6. โปรตีนป้องกัน (protective protein) เป็นโปรตีนที่ป้องกันไม่ให้ร่างกายได้รับอันตราย หรือเกิดการเจ็บป่วย เช่น แอนติบอดี (antibody) ช่วยกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย โปรตีนโพรทรอมบิน (prothrombin) และไฟบริโนเจน (fibrinogen) ช่วยในการแข็งตัวของเลือดเมื่อเกิดบาดแผล

7. โปรตีนเคลื่อนไหว (contractile protein) เป็นโปรตีนที่ทำให้เกิดการเคลื่อนไหว เช่น โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของไมโครทูบูล (microtublue) แฟลกเจลลา (flagella) ซิเลีย (cilia) โปรตีนในเซลล์กล้ามเนื้อ ได้แก่ แอกทิน (actin) และไมโอซิน (myosin)

2.5 กรดอะมิโน

กรดอะมิโนเป็นสารประกอบที่มีความสำคัญมากทั้งในส่วนของการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการเมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและไขมัน และการสังเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ ที่มีความสำคัญในกระบวนการเมทาบอลิซึม (ชุติมา, 2549) กรดอะมิโนที่พบในร่างกายสัตว์มีประมาณ 20 ชนิด แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

1. กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acid หรือ EAA) หมายถึง กรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ หรือสังเคราะห์ขึ้นมาได้ในปริมาณน้อยไม่เพียงพอแก่ความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่กินเข้าไปเท่านั้น ถ้าปลาหรือสัตว์น้ำอื่น ๆ ได้รับกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายไม่ครบทั้งคุณภาพและปริมาณ จะทำให้การเจริญเติบโตช้าลงเบื่ออาหาร และการใช้โปรตีนมีประสิทธิภาพลดลง ปลาและสัตว์น้ำส่วนมากมีความต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย 10 ชนิด คือ อาจีนีน (arginine) ฮิสทิดีน (histidine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ลิวซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เมไธโอนีน (methionine) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ธรีโอนีน (threonine) ทริปโตแฟน (tryptophan) และวาลีน (valine) (วีรพงศ์, 2536)

2. กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (non-essential amino acid หรือ NEAA) หมายถึง กรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้มากเพียงพอแก่ความต้องการของร่างกาย โดยสร้างจากสารประกอบชนิดอื่น ปลาและสัตว์น้ำส่วนมากสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นแก่ร่างกายได้ 9 ชนิด คือ อะลานีน (alanine) ไกลซีน (glycine) ซีสเตอีน (cysteine) กรดกลูตามิก (glutamic acid) กรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) ไทโรซีน (tyrosine) เซอรีน (serine) โปรลีน (proline) และไฮดรอกซีโปรลีน (hydroxyproline) (วีรพงศ์, 2536)

3. ความต้องการโปรตีนของปลา

สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความต้องการโปรตีนที่แตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นสัตว์น้ำชนิดเดียวกันความต้องการโปรตีนแตกต่างกันตามสภาพร่างกายและสิ่งแวดล้อม เช่น อายุและช่วงเวลาของการสืบพันธุ์ อุณหภูมิ อัตราการให้อาหาร ระบบการเลี้ยง ตลอดจนคุณภาพโปรตีนหรือความสมดุลของกรดอะมิโน ที่มีอยู่ในอาหารสัตว์น้ำมีความต้องการโปรตีนเพื่อ

1. การเจริญเติบโต โปรตีนจะช่วยให้ร่างกายเจริญเติบโต มีขนาดและน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างสมส่วน

2. การดำรงชีวิต โปรตีนจะช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ เป็นเอนไซม์ ฮอร์โมนและภูมิคุ้มกันที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต

3. การสืบพันธุ์ โปรตีนจะทำให้พ่อแม่พันธุ์สมบูรณ์เพศและสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ การพัฒนาอาหารย่อมทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโต มีสุขภาพแข็งแรงสามารถสืบพันธุ์และดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่ในเรื่องการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นการเลี้ยงเพื่อหวังผลผลิต ซึ่งผลผลิตที่ต้องการอาจจะเป็นช่วงใดช่วงหนึ่งของชีวิตและยังต้องพิจารณาถึงต้นทุนการผลิตด้วย การพัฒนาอาหารจึงมุ่งหวังไปที่ผลผลิตหรือประโยชน์ที่จะได้รับมากกว่า เช่น สูตรอาหารเฉพาะสำหรับพ่อแม่พันธุ์หรือสูตรอาหารที่เน้นเรื่องการเจริญเติบโตเพียงอย่างเดียว เป็นต้น (โชคชัย, 2547)

4. แหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์น้ำ

แหล่งโปรตีนที่ดีสำหรับอาหารสัตว์น้ำนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารสัตว์น้ำ ส่วนใหญ่แหล่งโปรตีนที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างพืชกับสัตว์ แหล่งโปรตีนที่มาจากสัตว์ย่อมดีกว่าที่มาจากพืชทั้งนี้เพราะแหล่งโปรีตนที่มาจากพืชมักมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายไม่ครบถ้วน ดังนั้น การผลิตอาหารที่มีแหล่งโปรตีนที่มาจากพืชจึงต้องผสมแหล่งโปรตีนที่มาจากสัตว์ควบคู่กันเสมอ

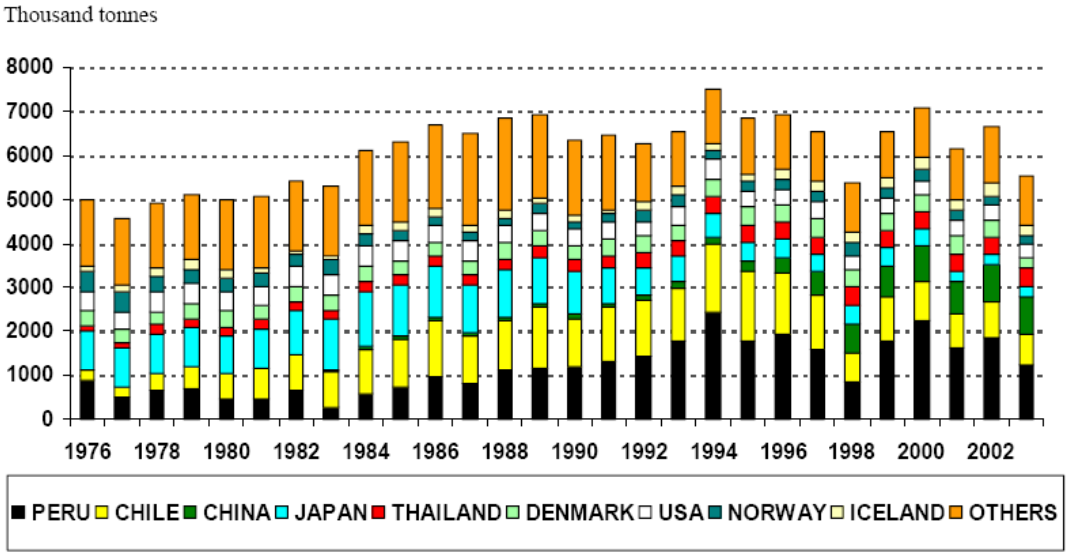
แหล่งโปรตีนที่มาจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น ไรแดง หนอนแดง เนื้อป่น ปลาป่น เปลือกและหัวกุ้งป่น เลือดป่น ปลาเป็ด (เนื้อปลาสด) นมและไข่เป็นต้น ส่วนแหล่งโปรตีนที่มาจากพืช ได้แก่ พืชผักทุกชนิดที่ประกอบด้วยโปรตีน เช่น เมล็ดถั่วเหลือง กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากถั่วเขียว และใบกระถินป่น เป็นต้น (โชคชัย, 2547)

4.1 ปลาป่น

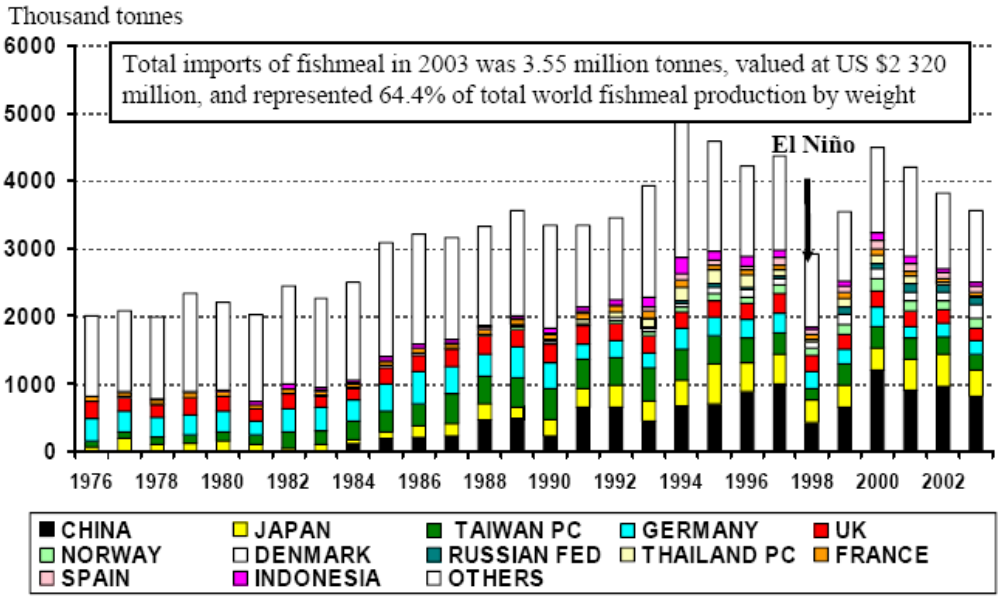
ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญให้โปรตีนสูงและมีคุณภาพดี ทำมาจากปลาเป็ดเศษปลาเล็กปลาน้อย หรือหัวปลาที่เหลือ จากโรงงานทำปลากระป๋อง ทำให้ปลาป่นที่ผลิตได้มีคุณภาพหลากหลาย ดังนั้น ในการซื้อขายปลาป่น จึงมีการแบ่งเกรด ตามเปอร์เซ็นต์โปรตีนในปลาป่น โดยปลาป่นชั้นคุณภาพที่ 1 จะมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่น ชั้นคุณภาพที่ 2 มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ และปลาป่นชั้นคุณภาพที่ 3 มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ปลาป่นนอกจากจะเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีในอาหารปลา ยังมีรสชาติเป็นที่ชื่นชอบของปลา ดังนั้น ปลาป่นจึงเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหารปลา ความต้องการปลาป่นได้เพิ่มขึ้นเนื่องจากความต้องการอาหารโปรตีนของประชากรโลกเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะโปรตีนจากปลาเพราะคนได้หันมาบริโภคปลาทดแทน ไก่ หมู มากขึ้น เพราะปลามีคุณค่าทางโภชนาการดีกว่าโดยเฉพาะไขมันในปลาทะเลจะช่วยลดปัญหาโรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง (Lovell, 1998)

สถานการณ์ปลาป่นโลกในช่วงปี ค.ศ. 1977 มีการผลิตปลาป่นได้ต่ำเพียง 4.57 ล้านตัน และมีการผลิตได้เพิ่มมากขึ้นและมีการผลิตได้สูงที่สุดในปี ค.ศ. 1994 ถึง 7.48 ล้านตัน แต่หลังจากนั้นการผลิตปลาป่นมีความผันผวนเป็นอย่างมากซึ่งมีผลกระทบจากเหตุการณ์เอลนิโน (El Nino) ในปี ค.ศ. 1998 ที่เปรู (แสดงในภาพที่ 2) ซึ่งเปรูเป็นประเทศที่สามารถผลิตปลาป่นได้สูงที่สุดในโลกอีกด้วย จากผลกระทบของเหตุการณ์เอลนิโนทำให้การผลิตปลาป่นได้น้อยลงยังส่งผลกระทบต่อการขายปลาป่นในตลาดโลกมีน้อยลงด้วยเช่นกัน เมื่อประเทศหลัก ๆ ที่ผลิตปลาป่นส่งออกทำการผลิตปลาป่นได้น้อยลง ประเทศเหล่านั้นจึงต้องมีการนำเข้าปลาป่นเข้ามาใช้ในประเทศให้เพียงพอกับความต้องการภายในประเทศ (แสดงในภาพที่ 3)



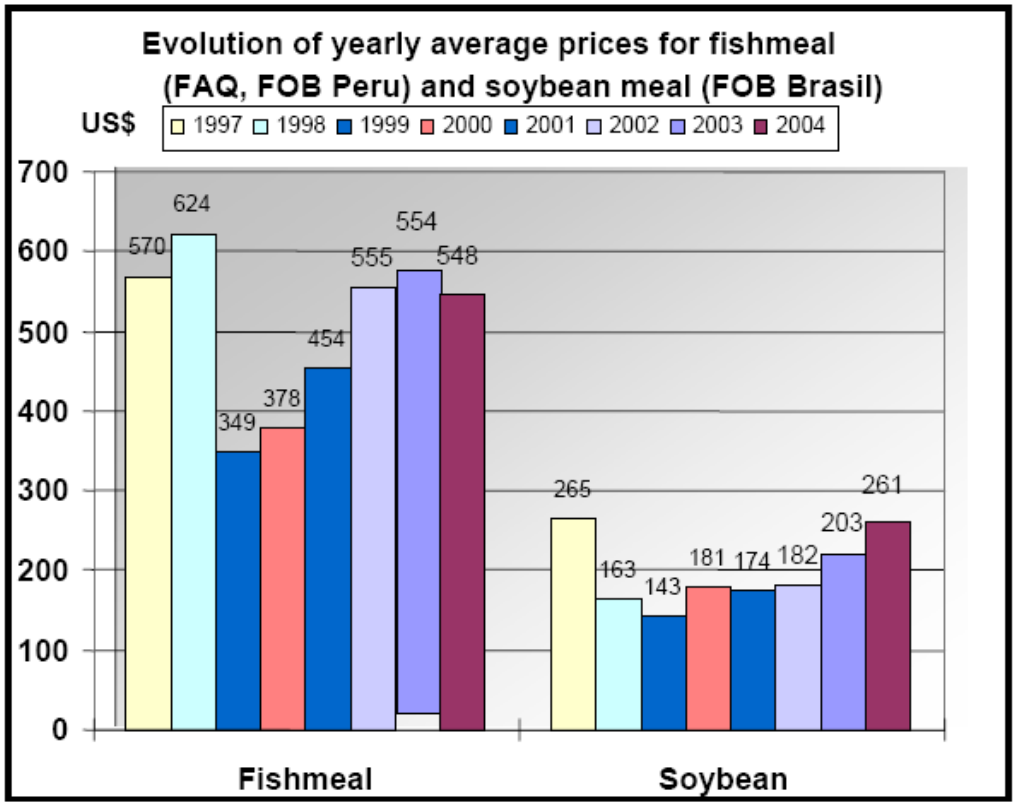
ภาพที่ 2 ปริมาณปลาป่นของโลกที่ได้จากประเทศหลัก ๆ ในการผลิตปลาป่น (1976-2003)
ที่มา: FAO (2006)



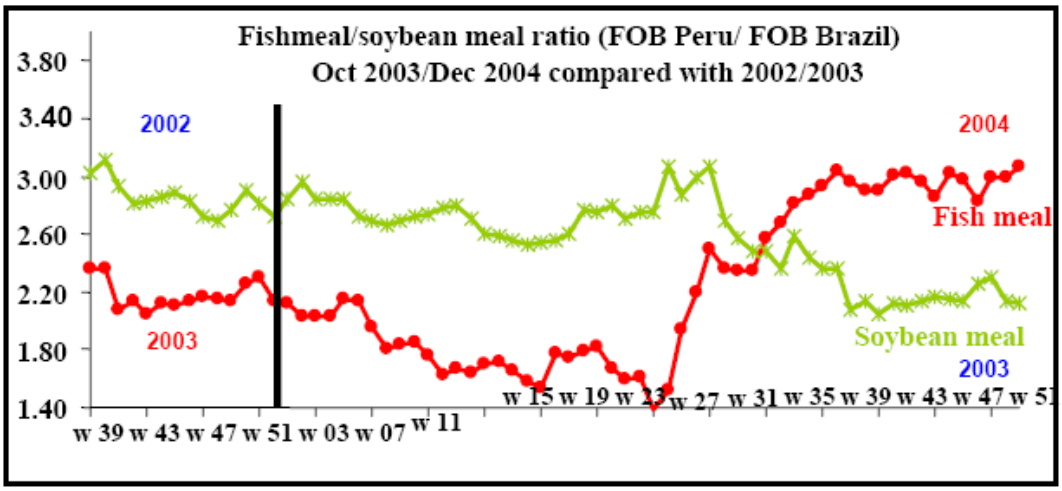
ภาพที่ 3 การนำเข้าปลาป่นมาใช้ในประเทศหลัก ๆ ที่ผลิตปลาป่น (1976-2003)
ที่มา: FAO (2006)

ปลาป่นส่วนใหญ่มักนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และสัตว์น้ำ จึงทำให้ความต้องการใช้ปลาป่นในแต่ละประเทศมีมากขึ้น ทั้งนี้เพราะปลาป่นมีความสมดุลของกรดอะมิโนต่าง ๆ และยังสามารถย่อยเป็นพลังงานได้ง่าย อีกทั้งอุดมสมบูรณ์ไปด้วยแร่ธาตุและวิตามินที่จำเป็นต่าง ๆ และที่สำคัญยังมีกรดไขมันจำเป็นจำพวกโอเมกา 3 มากอีกด้วย ดังนั้นจึงทำให้ราคาของปลาป่นในตลาดโลกมีราคาสูงมากขึ้นตามไปด้วย (Howe, 1996; Thompson *et al.,* 1996; Steffens, 1997; Simopoulous *et al.,* 1999; Sargent and Tacon, 1999; Elvevoll and James, 2000; Lall, 2000; Hasan, 2001)

Tacon และ Forster (2001) รายงานว่า กากถั่วเหลืองมีคุณภาพที่ใกล้เคียงกับปลาป่นมากที่สุด และมีความเหมาะสมหากจะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์และสัตว์น้ำ ซึ่งราคาของกากถั่วเหลืองในช่วงเวลา ค.ศ. 1997-2004 มีราคาต่ำกว่าราคาของปลาป่น 3.8 เท่า ตลอดในช่วงเวลาดังกล่าว (แสดงในภาพที่ 4 และ 5)



ภาพที่ 4 ราคาเฉลี่ยของปลาป่น และกากถั่วเหลืองป่นในตลาดโลกในปี 1997–2004
ที่มา: FAO (2006)



ภาพที่ 5 เปรียบเทียบราคาของปลาป่น และกากถั่วเหลืองป่นใน 2002-2003
ที่มา: FAO (2006)

4.2 ผลิตภัณฑ์จากพืชที่ใช้เป็นโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลา

ผลิตภัณฑ์จากพืชที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลา มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน ซึ่งผลิตภัณฑ์จากพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนโปรตีนจากปลาป่นมีมากมายหลายชนิด เช่น กากถั่วเหลืองป่น เรปซีดป่น ข้าวโพดป่น ลูปินป่น ลินซีดป่น เป็นต้น ในที่นี้นำกากถั่วเหลืองมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน เพราะกากถั่วเหลืองมีแนวโน้มในการผลิตที่เพิ่มขึ้น และราคาถูกกว่าปลาป่นมาก อีกทั้งยังมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่ใกล้เคียงกับปลาป่น (FAO, 2006)

4.3 กากถั่วเหลือง (Soybean Meal)

กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพ และเป็นแหล่งโปรตีนที่มีกรดอะมิโนจำเป็นในสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งพบว่ามีปริมาณของไลซีน ทริปโตเฟนและทรีโอนินในระดับสูง แต่พบว่ามีปริมาณของเมทไธโอนินต่ำ (กิตติวรรณ, 2548)

ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน ที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำได้ดี โดยพบว่าการนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้กับสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ในระดับที่เหมาะสมสามารถทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี และมีอัตราการรอดที่ดีซึ่งใกล้เคียงกับการใช้ปลาป่น (Lim and Akiyama, 1992) ดังนั้น การนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในการผลิตอาหารให้กับสัตว์น้ำ

สามารถช่วยลดการใช้ปลาป่นซึ่งมีราคาสูงได้ แต่การใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในสัตว์น้ำให้เหมาะสมนั้นจะต้องคำนึงถึงชนิด ปริมาณ และคุณภาพด้วย

กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรม การเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูงรองจากปลาป่น ซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นสูง (NRC, 1993) คุณค่าทางอาหารของกากถั่วเหลืองที่นำมาเป็นอาหารสัตว์ขึ้นอยู่กับความร้อนในขั้นตอนการผลิตของกากถั่วเหลือง ถ้ามีความร้อนที่พอเหมาะจะช่วยเพิ่มคุณค่าของโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อสัตว์ กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันถั่วเหลืองที่แยกเอาน้ำมันออก

กากถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งนิยมใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในอาหารสัตว์ โดยใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น กากถั่วเหลืองจะมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
โปรตีน	44
ไขมัน	1
เถ้า	6
เยื่อใย	7

ที่มา: Hertrampf และ Piedad-Pascual (2000)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนของกากถั่วเหลือง

กรดอะมิโน	ปริมาณ (g/16g N)
อาร์จินีน	6.94
อิสติดีน	2.64
ไอโซลูซีน	5.01
ลูซีน	7.54
ไลซีน	6.28
เมทไธโอนีน	1.38
เฟนิลอะลานีน	5.03
ทรีโอนีน	4.92
ทริปโตเฟน	1.18
เวลีน	4.72

ที่มา: Hertrampf และ Piedad-Pascual (2000)

แม้ว่ากากถั่วเหลืองจะมีคุณค่าโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในสัตว์น้ำ แต่ Chuapoehuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่า การใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตลดลงและประสิทธิภาพการใช้อาหารจะลดลงด้วย ทั้งนี้เพราะผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมีปัจจัยต่าง ๆ ที่จำกัด ดังนี้

1. ความไม่สมดุลของกรดอะมิโน ในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทุกชนิดจะมีกรดอะมิโนเมทไทโอนิน ในปริมาณน้อย (ตารางที่ 2) ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ในกระบวนการการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงทำให้กรดอะมิโนไลซีน ลดลงอีกด้วย เนื่องจากปฏิกิริยา บราวนิง (browning reaction) ระหว่าง ไลซีนกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลือง (พันทิพา, 2538)

2. ในถั่วเหลืองดิบมีเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ซึ่งจะย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองไปเรื่อย ๆ หากเก็บรักษาไว้นานเกินไปผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ได้จะมีคุณค่าโปรตีนต่ำ และเปอร์เซ็นต์โปรตีนจะลดลง และคุณภาพโปรตีนจะลดลงด้วย (พันทิพา, 2538)

3. กากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนาการ (anti-nutritional factor) หลายชนิด เช่น ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ (trypsin inhibitor) และเลคติน (lectin) ซึ่งจัดเป็นสารต้านโภชนาการในกลุ่มไม่ทนร้อน (heat-labile) ส่วนซาโปนิน (saponin) ไลซิโนอะลานีน (lysinoalanine) แทนนิน (tannin) และกรดไฟติค (phytic acid) จัดเป็นสารต้านโภชนาการกลุ่มทนร้อน (Liu, 1997) ในกลุ่มสารต้านโภชนาการเหล่านี้ ทริปซิน อินฮิบิเตอร์และเลคติน มีบทบาทสำคัญที่สุดซึ่ง ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ นี้จะไปทำปฏิกิริยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริบซิน ในกระบวนการย่อยโปรตีน โดยจะทำงานร่วมกับทริบซิโนเจน (trypsinogen) ที่ตับอ่อนผลิตออกมาทำให้เอนไซม์เอนเทอโรคิเนส (enterokinase) ของลำไส้เล็กไม่สามารถเปลี่ยนทริบซิโนเจนให้เป็นทริบซินได้ ซึ่งทำให้การย่อยสลายโปรตีนเกิดได้ไม่สมบูรณ์ (Halver and Hardy, 2002) ส่วน เลคตินนั้นจะมีสารพิษ ชื่อว่า ฮีมากลูตินิน (hemaglutinin) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งฮีมากลูตินินนั้นจะมีผลต่อการทำงานของเม็ดเลือดแดง รวมไปถึงสร้างความผิดปกติให้กับลำไส้ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อผนังลำไส้ชั้นมูโคซา (mucosa) และไมโครวิลไล (micro- villi) ซึ่งจะทำให้การดูดซึมสารอาหารทำได้น้อยลง (Halver and Hardy, 2002)

ถึงแม้ว่ากากถั่วเหลืองจะมีสารต้านโภชนาการอยู่สูงก็ตาม แต่สามารถทำลายสารต้านโภชนาการ เช่น ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ ฮีมากลูตินิน และไฟเตส ได้โดยการใช้ความร้อนสูงในกระบวนการผลิต (Liener, 1980) นอกจากนี้ความร้อนยังสามารถยับยั้งเอมไซน์ทริปซิน และเอมไซน์ยูรีเอส (urease) ที่มีอยู่ในถั่วเหลืองได้อีกด้วย (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000)

ลักษณะคุณภาพของกากถั่วเหลืองที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ ควรเป็นกากถั่วเหลืองที่มีคุณภาพไม่ต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ใน ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์ (2548) ดังนี้ โปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 7 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 8 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 13 และเถ้า ไม่มากกว่า ร้อยละ 7 ซึ่งมาตรฐานคุณภาพของกากถั่วเหลืองที่นิยมนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนี้

- กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีอัดน้ำมัน มีโปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 3.5 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 6.5 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 11 เถ้า ไม่มากกว่า ร้อยละ 6

- กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี มีโปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 44 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 0.5 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 7 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 10 เถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 6

กากถั่วเหลืองที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ (สุกัญญา, 2539) มีดังนี้

1. กากถั่วเหลืองบด (ground soybean) คือ ถั่วเหลืองบดทั้งเมล็ดโดยไม่สกัดเอาน้ำมันออก

2. ถั่วเหลืองบดทั้งต้น (ground soybean hay) คือ ต้นถั่วเหลืองบดทั้งใบ ลำต้น และเมล็ด ซึ่งไม่มีพืชชนิดอื่นหรือวัชพืชปะปนเลย และมีปริมาณของเยื่อใยจะต้องไม่เกินมาตรฐานสินค้าที่กำหนดไว้ในแต่ละประเภท (โปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 7 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 8 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 13 และเถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 7)

3. เปลือกถั่วเหลือง (soybean hulls) ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยเปลือกชั้นนอกสุดของเมล็ดถั่วเหลือง

4. กากถั่วเหลืองซึ่งได้จากการสกัดน้ำมันด้วยการหีบหรืออัด (soybean meal mechanical extracted) คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันโดยวิธีหีบอัดทางกายภาพ วิธีนี้จะต้องใช้ความร้อนในกรรมวิธีในการผลิต ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอื่นใดเจือปนอยู่เกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณของเยื่อใยจะต้องไม่เกินมาตรฐานสินค้าที่กำหนดไว้ในแต่ละประเทศ (มีโปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 3.5 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 6.5 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 11 เถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 6)

5. กากถั่วเหลืองซึ่งได้จากการสกัดน้ำมันด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal solvent extracted) คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันโดยวิธีสกัดโดยสารละลายอินทรีย์ วิธีการนี้จะต้องใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิตเช่นกัน ผลพลอยได้ชนิดนี้จะต้องไม่มีสารพิษหรือสารอื่นใดเจือปนและมีปริมาณของเยื่อใยจะต้องไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ (มีโปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 44 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 0.5 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 7 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 10 เถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 6)

6. กากถั่วเหลืองที่กะเทาะเอาเปลือกนอกออกและสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (soybean meal dehulled, solvent extracted) คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลืองที่เอาเปลือกนอกออกแล้ว สกัดด้วยสารละลายอินทรีย์สกัด วิธีนี้ต้องใช้ความร้อนในกรรมวิธีการผลิตและต้องไม่มีสิ่งเจือปนตลอดจนปริมาณเยื่อใยไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ (โปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 7 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 8 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 13 และเถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 7)

7. ซอยบีนมิลล์ฟีด (soybean mill feed) เป็นผลพลอยได้จากเปลือกนอกของเมล็ดถั่วเหลือง และส่วนหางของเมล็ดถั่วเหลืองจากเครื่องบดถั่วเหลืองจากอุตสาหกรรมการทำแป้งถั่วเหลืองปริมาณโปรตีนและเยื่อใยจะต้องตรงตามมาตรฐานที่แต่ละประเทศกำหนดไว้ (โปรตีนไม่น้อยกว่า ร้อยละ 42 ไขมันไม่มากกว่า ร้อยละ 7 กากไม่มากกว่า ร้อยละ 8 ความชื้นไม่มากกว่า ร้อยละ 13 และเถ้าไม่มากกว่า ร้อยละ 7)

8. ซอยบีนมิลล์รัน (soybean mill run) คือ เปลือกนอกและเนื้อถั่วเหลืองที่ติดมากับเปลือก ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการทำกากถั่วเหลืองชนิดที่กะเทาะเอาเปลือกออกแล้วสกัดด้วยสารละลาย

9. ถั่วเหลืองนึ่งหรืออบ (heat processed soybean) คือ การเอาถั่วเหลืองทั้งเมล็ดมานึ่ง อบ คั่ว ทั้งเมล็ดแล้วอาจนำมาบดอัดเป็นเม็ด ทำเป็นเกล็ด หรือเป็นผงก็ได้ และมักขายในราคาตามปริมาณโปรตีนของผลผลิต

10. กราวด์เอ็ดทรูเด็ด โฮล ซอยบีน (ground extruded whole soybean) คือ ผลที่ได้จากการนำเอาเมล็ดถั่วเหลืองทั้งเมล็ดไปอบด้วยไอน้ำ แล้วอัดผ่านเครื่องอัดแรงดันสูง (Extruder) เพื่อให้เกิดความร้อน ผลที่ได้มักจะขายในราคาตามปริมาณโปรตีนของผลผลิต

สำหรับกากถั่วเหลืองในประเทศไทยได้จากวิธีการผลิต 2 วิธี (อุทัย, 2529) คือ

1. กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีการอัดน้ำมัน คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีนี้ คือ การนำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว ทำให้แตกก่อนแล้วทำให้แห้งโดยผ่านเข้าไปที่ถังทำความร้อนด้วยไอน้ำ เพื่อลดความชื้น แล้วส่งไปในเครื่องบีบอัดเพื่อเอาน้ำมันออกจากเมล็ดถั่วเหลือง เครื่องบีบอัดมีลักษณะเป็นลูกกลิ้งเหล็กทรงกระบอก 2 ลูกที่บังคับให้บีบเข้ามาอยู่ชิดติดกันด้วยแรงจากการขันสกรูหรือแรงจากไฮดรอลิค และตัวลูกกลิ้งเหล็กสามารถทำให้ร้อนขึ้นได้ในขั้นตอนการผลิต ในขณะที่กำลังบีบอัดนี้จะมีการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 183-302 องศาฟาเรนต์ไฮน์ อัดนาน 3 นาที ที่ลูกกลิ้งพร้อมกันไปด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ถั่วเหลืองสุกและน้ำมันไหลออกจากเมล็ดถั่วเหลืองได้มากขึ้น น้ำมันที่ได้จากการอัดและกากถั่วเหลืองจะแยกออกจากกัน อุทัย (2529) และ Abel และคณะ กล่าวว่า กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีนี้ ได้รับการให้ความร้อนที่ลูกกลิ้งและความร้อนจากการเสียดสีในกระบวนการบีบอัดน้ำมันเป็นความร้อนแห้ง ซึ่งความร้อนที่ได้นี้ไม่เพียงพอที่จะสามารถทำลายสารยับยั้งการทำงานของทริปซิน อินฮิบิเตอร์ได้หมด

2. กากถั่วเหลืองที่ได้จากวิธีการสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี วิธีนี้จะเลือกใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติละลายไขมัน ได้ดี เป็นตัวสกัดไขมันออกจากเมล็ดถั่วเหลือง เช่น เฮกเซน (Hexane)

เป็นต้น ข้อสำคัญสารเคมีตัวนี้จะต้องไม่มีพิษตกค้างและสามารถชะไขมันออกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ กากถั่วเหลืองที่ได้จากการใช้สารละลายเอาน้ำมันออกจากเมล็ดถั่วเหลืองโดยใช้สารเฮกเซนเป็นตัวละลาย มีวิธีการสกัดเอาน้ำมันจากเมล็ดถั่วเหลืองออก ดังนี้ นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วไปทำการบดให้แตกก่อน จากนั้นผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 140 องศาฟาเรนต์ไฮน์ ประมาณ 10 นาที เพื่อเป็นการกระตุ้นให้ออยแกลนด์ (oil gland) อยู่ในสภาพพร้อมที่จะละลายไขมันปนออกมากับสารสกัด และเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวเพื่อให้สารเคมีซึมเข้าไปชะเอาไขมันออกมาได้มากที่สุด นำไปรีดให้เป็นแบนทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 113 องศาฟาเรนต์ไฮน์ แล้วนำเข้าเครื่องสกัดน้ำมัน สารเคมีเฮกเซนจะพ่นฝอยลงบนกากถั่วเหลืองที่แบนเพื่อชะเอาไขมันละลายปนลงไปด้วยกัน อย่างต่อเนื่อง ในเวลาเดียวกันสารละลายไขมันจะถูกกลั่นแยกเอาสารเคมีออกจากน้ำมัน นำกลับมาใช้ใหม่ น้ำมันจะถูกแยกออกมา กากถั่วเหลืองจะถูกเฮกเซนพ่นชะเป็นจำนวนหลายรอบเป็นเวลานาน จนแน่ใจว่าไขมันถูกชะออกหมดแล้ว จึงนำกากถั่วเหลืองไประเหยเฮเซนออกที่อุณหภูมิ 208 องศาฟาเรนต์ไฮน์ นาน 10 นาที นำกากถั่วเหลืองไปทำให้สุกที่อุณหภูมิ 200 องศาฟาเรนต์ไฮน์ เป็นเวลา 90 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 100 องศาฟาเรนต์ไฮน์ ประมาณ 10-20 นาที จะได้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยสารเคมี ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด คือ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารเคมีชนิดกะเทาะเปลือกออก และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารเคมีชนิดไม่กะเทาะเปลือกออก อุทัย (2529) และ Abel และคณะ (1984) กล่าวว่า กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันด้วยสารเคมีได้รับความร้อนขึ้นจากกระบวนการสกัดน้ำมันในปริมาณที่มากพอที่สามารถยับยั้งการทำงานของทริปซิน อินฮิบิเตอร์ ได้เกือบหมด

5. การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ

อัตรา และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดง โดยใช้อาหาร 5 สูตร ซึ่งมีระดับของกากถั่วเหลืองในอาหารที่แตกต่างกัน คือ 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น โดยใช้ปลากะรังดอกแดง ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 2.44 กรัม ในตู้ทดลองขนาด 40 ลิตร ที่มีระบบน้ำไหลผ่านตลอด เป็นเวลา 10 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลากะรังดอกแดงที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และการนำโปรตีนไปเก็บสะสม (ANPU) ได้ดีกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ การใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นในระดับต่าง ๆ ไม่ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารและอัตราการรอดตายของปลากะรังดอกแดงแตกต่างกัน แต่การใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลากะรังดอกแดงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต

Dabrowski และ Kozak (1979) ได้ทำการศึกษาถึงระดับกากถั่วเหลืองที่ใช้ในอาหารลูกปลาไน โดยใช้กากถั่วเหลืองในระดับที่แตกต่างกัน คือ 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร ในอาหารที่ประกอบด้วยเลือดบด 10 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 38, 28 และ 18เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 40, 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำมันถั่วเหลือง 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันปลา 2 เปอร์เซ็นต์ เกลือแร่ผสม 1 เปอร์เซ็นต์ วิตามินผสม 2 เปอร์เซ็นต์ และยีสต์ 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำอาหารทั้ง 3 สูตรไปใช้เลี้ยงลูกปลาไน เป็นเวลา 70 วัน ทำให้ลูกปลามีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 84.8, 72.6, และ 46.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลาเริ่มต้น ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้กากถั่วเหลืองผสมในอาหารมากขึ้นทำให้ลูกปลาเจริญเติบโตลดลง แสดงว่ากากถั่วเหลืองมีสารที่ทำให้ลูกปลาใช้ประโยชน์จากโปรตีนในกากถั่วเหลืองได้ไม่เต็มที่

Boonyaratparin และคณะ (1998) ได้ศึกษาถึงการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลืองในการเลี้ยงปลากะพงขาว โดยการสร้างสูตรอาหาร 5 สูตร ให้มีโปรตีนและพลังงานเท่ากัน อาหารสูตรที่ 1 ประกอบด้วยปลาป่น 40 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีถั่วเหลือง อาหารสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ใส่ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน 21 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด 27 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองนึ่ง 28.5 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองแช่น้ำ 27.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพื่อแทนที่ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น หรือ 15 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นในอาหารสูตรที่ 1 ปลาทดลองเริ่มต้นมีขนาด 1.26-1.27

กรัม เลี้ยงปลา 3 ซ้ำในตู้กระจกขนาดความจุ 45 ลิตร มีระบบลมและน้ำไหลผ่าน ให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีการเจริญเติบโตดีกว่าอาหารสูตรอื่นๆ ยกเว้นอาหารสูตร 2 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตรารอดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 ไม่แตกต่างกัน แต่อาหารสูตรที่ 5 ซึ่งอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตรารอดต่ำ ยังมีความผิดปกติของเซลล์ตับอ่อนและลำไส้ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารทั้ง 5 สูตร มีค่า 92.77, 94.24, 92.26, 94.40 และ 73.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงว่า 37.5 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่นหรือ 15 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นในอาหารสามารถทดแทนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด หรือถั่วเหลืองนึ่ง อย่างไรก็ตาม ถั่วเหลืองเอ็กซ์ทรูด หรือถั่วเหลืองนึ่ง ควรใช้เป็นส่วนผสมในอาหารปลากะพงที่มีขนาดโตขึ้น คือ 3.5 กรัมขึ้นไป ส่วนถั่วเหลืองแช่น้ำเป็นแหล่งโปรตีนที่ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นส่วนผสมในอาหารปลากะพง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารต่ำและยังมีสารทริปซิน อินฮิบิเตอร์ที่ทำให้ตับอ่อนและลำไส้ส่วนต้นมีความผิดปกติ ซึ่ง พบว่า ไมโครวิลไลของเซลล์บุผิวผนังลำไส้หดหายไป อีกทั้งยังพบการเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างผิดปกติในบริเวณชั้นลามินา โพรเพรีย (lamina propria) และเกิดเว็กคูโอล (vacuoles) จำนวนมากในผนังลำไส้ในชั้นมูโคซา

Alexander และคณะ (2003) ทำการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง โดยใช้ระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0, 10, 20, 25, 30, 35, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่นในปลาปอมปาดัวร์ (*Symphysodon aequifasciata*) โดยทำการเสริมกรดอะมิโนจำเป็น 2 ชนิด คือ เมธไทนิน และ ไลซีน ลงในอาหารทดลองทุกสูตร ยกเว้นชุดควบคุม จากการทดลองพบว่า ค่าอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับของกากถั่วเหลืองในอาหารเพิ่มสูงขึ้น ส่วนค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) มีแนวโน้มลดลง เมื่อมีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ซึ่งจากการทดลองเห็นได้ว่าการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับที่สูงกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ในปลาปอมปาดัวร์ มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

Deyah และ Magdy (2003) ได้ทำการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชชนิดต่างๆ ในลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) คือ ถั่วเหลืองป่น เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน และงาป่น โดยทำการทดแทนปลาป่นในระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น ซึ่งในทุกชุดการทดลองมีการเสริมกรดอะมิโนจำเป็น 2 ชนิด คือ เมธไทนิน และ ไลซีน

ยกเว้นชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว โดยใช้ลูกปลานิลที่มีขนาดน้ำหนัก 3.7 ± 0.14 กรัม ใช้เวลา ในการทดลอง 16 สัปดาห์ จากการทดลอง พบว่า ค่าอัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารผสมวัตถุดิบพืชชนิดต่าง ๆ ที่ทดแทนปลาป่นในระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด และแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ โดยชุดการทดลองที่ทดแทนปลาป่นในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์โปรตีน มีน้ำหนักสุดท้ายและค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด ส่วนค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนปรากฏ (apparent digestibility coefficient, ADC) ของวัตถุดิบพืชทั้ง 4 ชนิด พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นทดแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน ให้ค่าสูงที่สุด และแตกต่างจากชุดการทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองป่นทดแทนปลาป่นที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

Mae และ Gregorial (2004) ได้ทำการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus*) โดยใช้ระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 5 ระดับ คือ 0, 12, 24, 36 และ 48 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น ตามลำดับ ทำการทดลองเป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า การเจริญเติบโต อัตราการรอด ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่า ค่าองค์ประกอบ ทางเคมีของตัวปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในปริมาณมากขึ้น จะมีการสะสมไขมันในร่างกายลดลง โดยระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 48 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไขมันต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ

Tantikitti และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษา การเจริญเติบโตของปลากะพงขาว โดยใช้อาหารทดลองที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว สำหรับปลากะพงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในระดับ 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลง ตามลำดับ

Ai และ Xie (2006) ทำการศึกษาระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น ในปลาเซาเทิร์น แคทฟิช (Southern catfish, *Silurus meridionalis*) โดยกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่าง ๆ คือ 0, 13, 26, 39, 52 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนใน

อาหาร พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน มีค่าการใช้สารอาหารในร่างกาย (specific dynamic action; SDA) ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 52 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน แต่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 26 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน มีค่าการใช้สารอาหารในร่างกายไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน

6. ประสิทธิภาพการย่อย

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาเป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารที่ปลาได้รับกับปริมาณสารอาหารที่ย่อยและดูดซึมได้

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสารมารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. ประสิทธิภาพการย่อยอาหารแท้จริง (true digestibility) เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของปลา ที่มีการพิจารณาถึงปริมาณของภายในตัวปลา (endogenous material) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบไนโตรเจน เช่น เอนไซม์ เปปไทด์ (peptide) เซลล์บุผิว (epithelial cell) ที่ถูกขับออกมากับมูลปลา ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารแท้จริง จะให้ปลากินอาหารที่ไม่มีสารประกอบไนโตรเจน เพื่อใช้ประเมินค่าสารประกอบไนโตรเจนในตัวปลาซึ่งถูกขับออกมาพร้อมกับมูล (Lovell, 1988)

2. ประสิทธิภาพการย่อยเสมือน (apparent digestibility) จะไม่นำค่าสารประกอบไนโตรเจนภายในตัวปลาซึ่งถูกขับออกมาพร้อมกับมูล มาคำนวณค่าประสิทธิการย่อย (Lovell, 1988)

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของปลามี 2 วิธี คือ

1. วิธีตรง (direct method) เป็นการวัดสารอาหารทั้งหมดที่ปลากินเข้าไปและขับออกมา ในมูลของปลาโดยตรง (Lovell, 1988) ตามสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อย (\%)} = \frac{(\text{ปริมาณอาหารที่ปลากิน} - \text{ปริมาณอาหารที่ปลาขับออกในมูล}) \times 100}{\text{ปริมาณอาหารที่ปลากิน}}$$

2. วิธีอ้อม (indirect method) เป็นการใช้อินดิเคเตอร์ หรือเครื่องหมาย (indicator or marker) เติมลงในอาหาร แล้วหาด้วยสัดส่วนของสารอาหารต่ออินดิเคเตอร์ที่มีในอาหาร และในมูลปลา (Lovell, 1988) ตามสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อย (\%)} = 100 - \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ปลากิน}}{\text{ปริมาณอาหารในมูลปลา}} \times \frac{\text{ปริมาณอินดิเคเตอร์ในมูล}}{\text{ปริมาณอินดิเคเตอร์ในอาหาร}} \times 100$$

สำหรับอินดิเคเตอร์ที่ใช้ควรมีคุณสมบัติ คือ ปลาไม่สามารถย่อยได้ คุณสมบัติทางเคมีไม่เปลี่ยนแปลง ไม่เป็นพิษต่อปลา ง่ายต่อการตรวจสอบ และมีอัตราการเคลื่อนที่ในทางเดินอาหารเช่นเดียวกันกับอาหารที่ปลากิน (Lovell, 1988)

De Silva และ Anderson (1995) แบ่งอินดิเคเตอร์ออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. อินดิเคเตอร์ภายนอก (external indicator) เช่น Cr_2O_3, FeO, SiO_2, polypropylene เป็นต้น โดยส่วนมากนิยมใช้ Cr_2O_3 เป็นอินดิเคเตอร์ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา

2. อินดิเคเตอร์ภายใน (internal indicator) โดยการใช้สารที่มีอยู่ในอาหารธรรมชาติเป็นอินดิเคเตอร์ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา เช่น ครูดไฟเบอร์ (crude fiber) ซึ่งมีเซลลูโลส (cellulose) และลิกนิน (lignin) เป็นส่วนประกอบหลัก ไฮโดรไลซิส- รีซิสแตนท์ ออร์แกนิค แมทเทอร์ (hydrolysis-resistant organic matter) ที่มีเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ และไฮโดรไลซิส-รีซิสแตนท์ แอช (hydrolysis-resistant ash) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นมิเนอเรล แอช (mineral ash) ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรด

วิธีเก็บรวบรวมมูลปลา มีความสำคัญต่อการประเมินประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา เนื่องจากมูลของปลาอยู่ในน้ำทำให้มูลบางส่วน และสารอาหารอาจละลายออกมากับน้ำ จึงทำให้เมื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของมูลมีค่าต่ำกว่าปกติ ซึ่งทำให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยอาหารมีค่าสูงกว่าปกติด้วย วีรพงศ์ (2536) จึงแนะนำวิธีการเก็บมูลปลาเพื่อการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาดังนี้

1. การตัดลำไส้ (intestinal dissection) โดยการตัดส่วนปลายของลำไส้เหนือช่องทวารประมาณ 2.5 เซนติเมตร เนื่องจากเป็นบริเวณที่การย่อยเสร็จสิ้นแล้ว และพร้อมที่จะขับออกมา

2. การดูดช่องทวาร (anal suction) วิธีนี้มีอุปกรณ์ที่มีลักษณะเป็นแก้ว (glass cannula) และมีปั้มดูดอากาศ เพื่อดูดมูลปลาออกมาทางช่องทวาร

3. การรีด (stripping) ทำโดยการจับปลามารีดบริเวณท้อง และช่องทวาร เพื่อให้มูลออกมา

4. การเก็บรวบรวมในน้ำ (collection from water column) วิธีนี้ต้องปล่อยให้ปลาขับถ่ายออกมาตามธรรมชาติแล้วทำการเก็บรวบรวมทันที โดยใช้วิธีกาลักน้ำโดยมีถุงผ้าตาละเอียดรองรับมูลอยู่ปลายสาย หรือใช้เครื่องเก็บมูลแบบอัตโนมัติ เป็นต้น

Spyridakis และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเก็บมูลปลาเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลากะพงยุโรป (European sea bass, *Dicentrachus labrax*) โดยใช้วิธีในการเก็บมูลปลาในแบบต่าง ๆ กัน คือ การตัดลำไส้, การดูดช่องทวาร, การรีด และการเก็บมูลในน้ำอีก 3 วิธี คือ เก็บมูลหลังจากให้อาหารไปแล้ว 15 ชั่วโมง (immediate pipatting) การกรอง (continuous filtration) และการเก็บโดยใช้อุปกรณ์รวบรวมมูลโดยให้มูลตกตะกอนและมูลออกจากน้ำ (decantation) พบว่า การเก็บรวบรวมมูลปลาที่ตกตะกอนและแยกมูลปลาออกจากน้ำเป็นวิธีการเก็บมูลที่ดีและเหมาะสมในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลา

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาระดับที่เหมาะสมของกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงปลาดุกลำพันต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร คุณภาพซาก และเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่าง ๆ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. พันธุ์ปลา

พันธุ์ปลาดุกลำพันที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.5 กรัม จากมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร (ตารางที่ 3)

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลาดุกลำพันและอาหารทดลอง (ภาคผนวก ก)

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์โครมิคออกไซด์ (ภาคผนวก ก)

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาด้านเนื้อเยื่อ (ภาคผนวก ก)

2.5 สารเคมีที่ใช้ในการสลบปลา (clove oil)

3. อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนการทดลอง

การเตรียมอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาดุกลำพันก่อนการทดลองอ้างอิงจาก สุภฎา และคณะ (2551) ซึ่งมีระดับโปรตีนในอาหาร 42 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

1.1 บ่อคอนกรีตขนาด 3 ตัน

1.2 ตู้กระจกขนาด 75 x 40 x 40 เซนติเมตร ปิดด้วยพลาสติกสีดำทึบทั้ง 3 ด้าน คือ ด้านข้างและด้านหลังตู้ เพื่อป้องกันการรบกวนปลาจากภายนอก

1.3 อุปกรณ์ให้อากาศ ประกอบด้วย สายยาง หัวทราย และเครื่องให้อากาศ

1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำในตู้ปลา ได้แก่ สายยาง และเครื่องปั๊มน้ำชนิดจุ่ม (submersible pump)

1.5 อุปกรณ์ในการขนย้ายปลา ได้แก่ สวิงช้อนปลา และขันพลาสติก

2. อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.1 เครื่องผสมอาหารทดลองของ Hobart model A 200 T ประกอบด้วยชุดผสมอาหารแบบมีใบพัด และชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร ได้แก่ บีกเกอร์ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของ Satorius® รุ่น Basic กระบอกตวง

2.3 ถาดเตรียมอาหารและตู้อบอาหาร

2.4 ตู้แช่แข็ง ใช้ในการเก็บอาหารทดลอง

3. อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและตัวปลา

3.1 อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อยโปรตีน (digestion apparatus) ของ Gerhardt® รุ่น Kjeldatherm GB8S เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt® รุ่น Vapodest 20 หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระบอกตวง บีกเกอร์ บิวเรต และขวดรูปชมพู่

3.2 อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ FALC® ไส้กรองสาร ถ้วยสกัด ตู้อบ โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Satorius® รุ่น Research

3.3 อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ถ้วยกระเบื้อง (crucible) ตู้อบ (hot air oven) ของ Memmert® โถดูดความชื้น (desiccator) และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.4 อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ของ Satorius® รุ่น Researchถ้วยกระเบื้อง (crucible) โถดูดความชื้น (desiccator) และเตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp®

4. อุปกรณ์ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

4.1 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด

4.2 เครื่องเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ของ MTP Tissue Processor SLEE®

4.3 เครื่องตัดชิ้นเนื่อเยื่อ แบบ Rotary Microtome ของ SLEE® ตู้อบ อ่างน้ำอุ่น (warm barth) เตาให้ความร้อน (hot plate) และสไลด์

4.4 อุปกรณ์สำหรับเตรียมสไลด์ถาวร คือ ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (Sunyo, Program Oven) ชุดสำหรับใส่สีย้อม และแผ่นปิดสไลด์

4.5 เครื่องเตรียมบล้อคพาราฟิน (embedding center)

4.6 เตาร้อน (hot plate)

4.7 กล้องถ่ายภาพและกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบของ ALPHA TECH®

5. อุปกรณ์วิเคราะห์โครมิคออกไซด์ในอาหารและมูลปลา

5.1 อุปกรณ์เก็บมูลปลา ได้แก่ สายยาง และถุงผ้าขาวบาง

5.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน เช่นเดียวกับข้อ 3.1

5.3 สเปคโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

6. อุปกรณ์วิเคราะห์โครมิคออกไซด์ในอาหารและมูลปลา

6.1 อุปกรณ์เก็บมูลปลา ได้แก่ สายยาง และถุงผ้าขาวบาง

6.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน เช่นเดียวกับข้อ 3.1

6.3 สเปคโตรโฟโตมิเตอร์

7. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ประกอบด้วย เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 1 ตำแหน่ง กะละมังพลาสติก ขันพลาสติก และสวิงช้อนปลา

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 75 x 40 x 40 เซนติเมตร ความจุน้ำ 120 ลิตร ทำความสะอาด ปิดด้วยพลาสติกสีดำทึบทั้ง 3 ด้านเพื่อป้องกันการรบกวนจากภายนอก และทำการติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศให้สมบูรณ์ แล้วทำการเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ปริมาตร 100 ลิตร

2.การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลาดุกลำพันที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 0.5 กรัมต่อตัว จากมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง มาอนุบาลในบ่อคอนกรีต ที่มีความจุน้ำ 3 ตัน (ใส่น้ำปริมาตร 1.5 ตัน) ทำการอนุบาล ด้วยอาหารผสมเองที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 42 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ (สุภฎา และคณะ, 2551) วันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 น. และ 17.00 น. เมื่อปลาที่อนุบาลไว้มีน้ำหนักเฉลี่ย 1 กรัมต่อตัว (จากการสุ่มชั่ง) คัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันลงในตู้ทดลองขนาด 75 x 40 x 40 เซนติเมตร ที่มีปริมาตรน้ำ 100 ลิตร จำนวนตู้ละ 15 ตัว ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ก่อนชั่งน้ำหนักงดให้อาหารปลาเป็นเวลา 1 วัน) บันทึกข้อมูลน้ำหนักปลาเริ่มต้นเพื่อนำไปคำนวณการเจริญเติบโต ปรับสภาพปลาให้มีความคุ้นเคยกับตู้ทดลองและฝึกให้กินอาหารทดลองสูตรที่ 1 (ไม่ผสมกากถั่วเหลือง) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร และสุขภาพของปลา การเตรียมอาหารทดลอง หลังจากนั้นจึงเริ่มให้อาหารทดลองตามสูตรต่าง ๆ สุ่มเก็บปลาที่เหลือจากการคัดลงตู้ประมาณ 15 ตัว ในวันที่เริ่มการทดลอง นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990)

3. การเตรียมอาหารทดลอง

คำนวณสูตรอาหารให้มีระดับโปรตีนในอาหาร 40 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ ทุกชุดการทดลองโดยแต่ละสูตรจะมีระดับของกากถั่วเหลืองที่แตกต่างกันคือ 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น และมีระดับพลังงานในอาหารใกล้เคียงกัน คือ 3,500-3,700 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ค่าพลังงานที่ย่อยได้ในอาหารคำนวณโดยใช้ค่าต่าง ๆ ซึ่งประยุกต์จากปลาแชนแนลแคทฟิช (channel catfish)

(*Ictalurus punctatus*) โดยใช้ค่าพลังงานที่ย่อยได้ของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.5, 8.5 และ 2.5 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัมของอาหาร ตามลำดับ (Lovell,1998)

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัสดุที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารทดลอง โดยวิธีของ AOAC (1985)

วิธีการเตรียมอาหารทดลองโดยชั่งวัสดุอาหารแต่ละอย่าง ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด แป้งสาลี น้ำมันปลา วิตามิน และแร่ธาตุ ตามสูตรที่คำนวณไว้ ผสมส่วนประกอบวัตถุดิบอาหารให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหารจากนั้นทำการเติมน้ำ 30 เปอร์เซ็นต์ในวัตถุดิบอาหารแล้วทำการผสมต่อจนเข้ากันดีแล้วนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหน้าแว่น 2 มิลลิเมตรจากนั้นนำไปอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมงแล้วนำไปบรรจุถุงพลาสติกแล้วนำไปเก็บรักษาที่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละสูตร (โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า) ด้วยวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1985) ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

4. แผนการทดลอง

ศึกษาผลของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน ซึ่งมีระดับของกากถั่วเหลืองที่แตกต่างกันใน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD, Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replication) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการเลี้ยง 14 สัปดาห์ ดำเนินการทดลองโดยเติมน้ำลงในตู้ทดลองที่เตรียมไว้ให้มีปริมาตรน้ำ 100 ลิตรต่อตู้ ทำการสุ่มจับฉลากโดยจับหน่วยทดลองทั้งหมด 15 หน่วย

เมื่อเริ่มต้นการทดลองสุ่มลูกปลาดุกลำพันส่วนหนึ่งจากบ่ออนุบาลมาวิเคราะห์หาความชื้นในตัวปลา และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้าตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) จากนั้นสุ่มลูกปลาดุกลำพันที่มีน้ำหนัก 1 กรัม จำนวน 15 ตัวต่อตู้ ลงในตู้ทดลอง ขนาด 75 x 40 x 40 เซนติเมตร แล้วทำการให้อาหารทดลองแต่ละสูตรวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 08.00-08.30 น. และเวลา 17.00-17.30 น. โดยให้ปลากินอาหาร

จนอิ่ม และทำการดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำด้วยระบบน้ำไหลผ่านตลอดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทุกวัน สำหรับการศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยอาหาร (digestibility coefficient) โดยเริ่มเก็บมูลสำหรับการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การย่อย ในสัปดาห์ที่ 11 ของการทดลอง โดยให้อาหารทดลองแต่ละสูตรที่มีการเติมโครมิกออกไซด์ (Cr_2O_3) 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร

บันทึกน้ำหนักอาหารทดลองและน้ำหนักของปลาทดลองในแต่ละตู้ทุกๆ 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง

ตารางที่ 3 สูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

ส่วนประกอบ ก./ อาหาร 100 ก.	สูตรที่ 1 (0%)	สูตรที่ 2 (15%)	สูตรที่ 3 (30%)	สูตรที่ 4 (45%)	สูตรที่ 5 (60%)
ปลาป่น	66.8	56.8	46.8	36.8	26.7
กากถั่วเหลือง	-	13.2	26.4	39.7	52.9
แป้งสาลี	7	7	7	7	7
แป้งข้าวเจ้า	20.2	16.6	13	8.3	3.7
วิตามิน	1	1	1	1	1
แร่ธาตุ	1	1	1	1	1
น้ำมันถั่วเหลือง	4	2.6	1.1	0.6	0.2
น้ำมันปลา	-	1.8	3.7	5.6	7.5
พลังงานในอาหาร (Kcal/อาหาร 100 ก.)	360.21	362.97	365.77	368.45	369.66

* วิตามินผสม (ปริมาณ/อาหาร 1 กิโลกรัม) ประกอบด้วย Thiamine (B_1) 10 มิลลิกรัม; Riboflavin (B_2) 20 มิลลิกรัม; Pyridoxine (B_{12}) 2 มิลลิกรัม; Retinol (A) 4 มิลลิกรัม; Cholecalciferol (D_3) 0.4มิลลิกรัม; Phylloquinone (K_1) 80 มิลลิกรัม; Folic acid 5 มิลลิกรัม; Calcium pantothenate 40 มิลลิกรัม; Inositol 400 มิลลิกรัม; Niacin 150 มิลลิกรัม; Tocopherol (E) 60 มิลลิกรัม; Choline 6,000 มิลลิกรัม; Ascorbic acid (C) 500 มิลลิกรัม.

** แร่ธาตุผสม (ปริมาณ/อาหาร 1 กิโลกรัม) ประกอบด้วย Nacl 0.25 กรัม; $MgSO_4$ 3.75 กรัม; KH_2PO_4 8 กรัม; Ca (H_2PO_4) 5กรัม; $FeSO_4$ 0.72 กรัม; $(CH_3COO)_2$ $Ca.5H_2O$ 0.88 กรัม; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 กรัม; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 กรัม; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 กรัม; $CoCL_2.6H_2O$ 0.00025 กรัม; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 กรัม

<u>หมายเหตุ</u> วิตามินเอ (vitamin A-Retinol) 1,750 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม

วิตามินดี (vitamin D_3; cholecalciferol) 40,000 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม

วิตามินเอ (vitamin E; DL-ζ-tocopherol) 1.1 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม

*** พลังงานในอาหารจากการคำนวณ

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร จากการคำนวณ (ดัดแปลงมาจาก Hertrampf และ Piedad-Pascual (2000))

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)				
	สูตรที่ 1 (0%)	สูตรที่ 2 (15%)	สูตรที่ 3 (30%)	สูตรที่ 4 (45%)	สูตรที่ 5 (60%)
Arg	2.74	2.81	2.88	2.95	3.01
His	1.03	1.04	1.04	1.05	1.05
Ile	1.88	1.88	1.88	1.88	1.88
Leu	3.19	3.19	3.20	3.19	3.19
Lys	3.24	3.16	3.08	3.00	2.92
Met+Cys	1.60	1.55	1.50	1.45	1.39
Phe+Tyr	3.03	3.13	3.24	3.34	3.43
Tre	1.63	1.63	1.64	1.64	1.64
Typ	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53
Val	1.99	2.03	2.07	2.10	2.13

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

5.1 การตรวจสอบ ความผิดปกติและพฤติกรรม

สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร การว่ายน้ำ และความผิดปกติทางภายนอกทุกวันก่อน และหลังการให้อาหาร

5.2 การตรวจสอบ การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อทราบน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นโดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 1 ตำแหน่ง (งดให้อาหารก่อนชั่งน้ำหนัก 1 มื้อ) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ ตลอดจนจบการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (Survival Rate) (Nankervis และคณะ, 2000) ตามสมการ

การเจริญเติบโต คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994) จากสมการ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% Weight Gain)

$$= \frac{\text{(น.น. ปลาสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) - น.น. ปลาเริ่มต้นการทดลอง (กรัม))} \times 100}{\text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มต้น (กรัม)}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% Specific Growth Rate, SGR)

$$= \frac{\text{(ln น.น.ปลาสิ้นสุดการทดลอง – ln น.น.ปลาเริ่มต้นการทดลอง)} \times 100}{\text{ระยะเวลา (วัน)}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966) จากสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{น.น. อาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น.น. ปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (Rate of Feed Intake) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการ

อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)

$$= \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_1}{2} \times \frac{N_0 + N_1}{2} \times t}$$

F = น.น. อาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม) N_0 = จำนวนปลาเริ่มต้น (กรัม)

W_0 = น.น. ปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม) N_1 = จำนวนปลาสุดท้าย (กรัม)

W_1 = น.น. ปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม) t = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

$$\textbf{อัตรารอดตาย (Survival Rate, \%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น}}$$

5.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาและเนื้อปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 15 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้นในตัวปลาทันทีและนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างปลาในแต่ละตู้ โดยเก็บวิเคราะห์ทั้งตัวจำนวน 3 ตัวต่อตู้ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ความชื้นแล้วนำไปบดให้ละเอียดให้ละเอียดและนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางโภชนาการ ได้แก่ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า ของซากปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร ตามวิธีการของ AOAC (1990) นำค่าโปรตีนที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio, PER) คำนวณตามวิธีของ Zeitoun และคณะ (1973) ตามสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น.น.ปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น.น.โปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent Net Protein Utilization, ANPU) ตามวิธีของ Robinson และ Wilson (1985) จากสมการ

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (\%)} = \frac{(\text{โปรตีนในปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \%\text{โปรตีนในปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}) \times 100}{\text{น.น. โปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

5.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารทำได้โดยการใช้โครมิกซ์ออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นสารบ่งชี้ (Indicator) เติมลงในอาหาร โดยเติมโครมิกซ์ออกไซด์ลงในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง ทำการเก็บรวบรวมมูลปลาในสัปดาห์ที่ 11 การรวบรวมมูลปลาทำโดยดัดแปลงวิธีการมาจาก Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2000) โดยใช้วิธีกาลักน้ำ (siphoning) โดยที่ปลายสายยางพลาสติกใช้ผ้าขาวบางรองรับมูลปลา ในการเก็บมูลปลาจะทำการเก็บตอนเย็นหลังจากที่ให้อาหารแล้ว 3 ชั่วโมง และดูดตะกอนอาหารออกจากตู้จนหมดโดยนำมูลปลาที่ได้เก็บสะสมไว้ในช่องแช่แข็ง เมื่อได้ปริมาณ 30 กรัม ซึ่งเพียงพอกับการวิเคราะห์ หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไป

วิเคราะห์ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) วิเคราะห์ปริมาณโครมิกซ์ออกไซด์ในอาหารและในมูลตามวิธีของ Furukawa และ Tsukahara (1966) คำนวณหาประสิทธิภาพการย่อยโดย วิธีการของ De Silva และ Anderson (1995) จากสมการ

ความสามารถในการย่อย (% บนฐานของน้ำหนักแห้ง) (Dry Matter Digestibility or Total Digestibility)

$$= 100 - \frac{100[\%\ \text{มาร์กเกอร์ในอาหาร}]}{[\%\ \text{มาร์กเกอร์ในมูล}]}$$

เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการย่อยสารอาหาร (Nutrient Digestibility)

$$= 100 - \frac{100[\%\text{มาร์กเกอร์ในอาหาร} \times \%\text{สารอาหารในมูล}]}{[\%\text{มาร์กเกอร์ในมูล} \times \%\text{สารอาหารในอาหาร}]}$$

5.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างอวัยวะทางเดินอาหารได้แก่ กระเพาะอาหาร ตับ ไต และลำไส้ จากตัวอย่างปลาในตู้ทดลองตู้ละ 2 ตัว มาแช่สารละสายบูแอง (Bouin's Solution) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนน้ำยาดองเป็นแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1972) แล้วนำไปตัดให้มีขนาด3-4 ไมโครเมตร แล้วทำการย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (H & E) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาด้วยกล้องถ่ายภาพและกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบของของ ALPHA TECH®

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) แบบ CRD (Completely Randomized Design) และปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)(Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบเคมีของอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยระดับของโปรตีน ไขมัน เถ้าและความชื้นใกล้เคียงกันทุกสูตร โดยมีค่าเฉลี่ย คือ 42.56 ± 0.26, 18.25 ± 0.15, 11.04 ± 2.19 และ 2.12 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

3.2 ความผิดปกติและพฤติกรรมของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่างๆ

ผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า ปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารที่แตกต่างกัน 5 สูตร ไม่พบความผิดปกติของรูปร่างลักษณะภายนอก และปลาทุกตัวมีพฤติกรรมที่ปกติ มีสุขภาพแข็งแรงตลอดการทดลอง

3.3 การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของปลาดุกลำพันตลอดการทดลอง 14 สัปดาห์

3.3.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 14 สัปดาห์ พบว่า ปลามีน้ำหนักเพิ่มขึ้นต่อตัวเฉลี่ยสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6 และภาพที่ 6 โดยที่น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันเมื่อเริ่มต้นการทดลองในแต่ละหน่วยทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 1.08 ± 0.05-1.12 ± 0.07 กรัม และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยของปลาเริ่มมีการแตกต่างกันในทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 2 จนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 14 (สิ้นสุดการทดลอง) เมื่อพิจารณาแต่ละระดับของกากถั่วเหลืองที่ใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นแล้ว พบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 ปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 3) (มีน้ำหนัก 1.91 ± 0.11 และ 1.90 ± 0.02 กรัม ตามลำดับ) มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีน้ำหนัก 1.71 ± 0.12 กรัม) และมีความแตกต่างทางสถิติอีกด้วย ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 15 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2

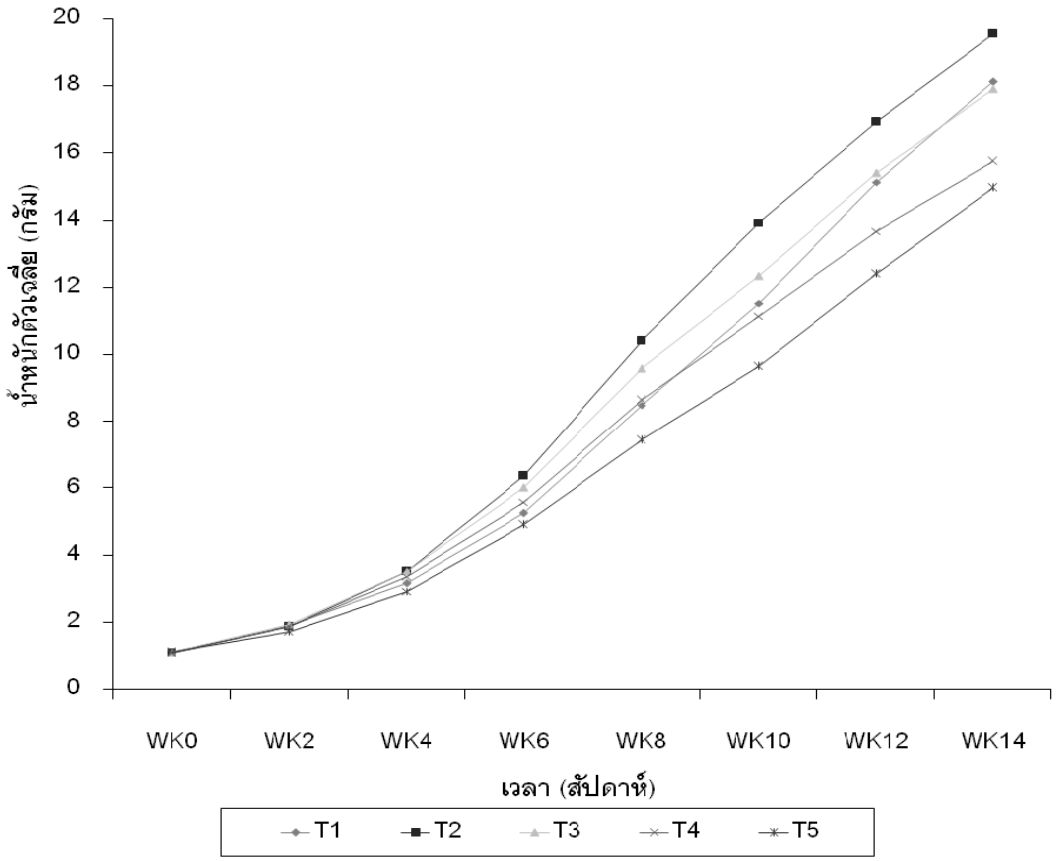
และ 4) (มีน้ำหนัก 1.85 ± 0.04 และ 1.85 ± 0.08 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ (สูตรที่ 1, 3 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2, 3 และ 4) (มีน้ำหนัก 3.50 ± 0.27, 3.39 ± 0.17 และ 3.37 ± 0.26 กรัม ตามลำดับ) มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 6) (มีน้ำหนัก 2.92 ± 0.04 กรัม) และมีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1) (มีน้ำหนัก 3.15 ± 0.04 กรัม) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ (สูตรที่ 2, 3, 4 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีน้ำหนัก 6.36 ± 0.82 กรัม) มีการเจริญเติบโตดีกว่ากับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) (มีน้ำหนัก 5.25 ± 0.11 และ 4.89 ± 0.30 กรัม ตามลำดับ) และแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 3 และ 4) (มีน้ำหนัก 5.85 ± 0.08 และ 5.58 ± 0.51 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ (สูตรที่ 1, 2 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีน้ำหนัก 10.40 ± 1.65 กรัม) มีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีน้ำหนัก 7.43 ± 0.31 กรัม) และพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีน้ำหนัก 8.49 ± 0.39, 9.17 ± 0.24 และ 8.63 ± 1.08 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 10 พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีน้ำหนัก 13.93 ± 1.18 กรัม) มีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีน้ำหนัก 9.64 ± 0.35 กรัม) และพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4)

(มีน้ำหนัก 11.52 ± 1.15, 11.61 ± 0.58 และ 11.14 ± 1.90 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีน้ำหนัก 16.92 ± 1.36 กรัม) มีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีน้ำหนัก 12.39 ± 0.64 กรัม) และพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีน้ำหนัก 15.13 ± 2.17, 14.14 ± 0.20 และ 13.67 ± 2.49 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่น ๆ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$) ในสัปดาห์ที่ 14 พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีน้ำหนัก 19.54 ± 1.57 กรัม) มีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีน้ำหนัก 14.94 ± 0.84 กรัม) และพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีน้ำหนัก 18.11 ± 2.68, 16.01 ± 0.47 และ 15.74 ± 2.79 กรัม ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่น ๆ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$)

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)				
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต
ชุดการทดลองที่ 1 (0%)	2.17 ± 0.15	42.81 ±0.09	18.08 ± 0.23	13.99 ± 0.04	22.95 ± 0.11
ชุดการทดลองที่ 2 (15%)	2.08 ± 0.05	42.79 ± 0.10	18.24 ± 0.21	12.80 ± 0.34	24.08 ± 0.62
ชุดการทดลองที่ 3 (30%)	2.15 ± 0.08	42.72 ± 0.09	18.14 ± 0.35	11.69 ± 0.20	25.30 ± 0.29
ชุดการทดลองที่ 4 (45%)	2.05 ± 0.04	42.52 ± 0.58	18.46 ± 0.63	10.32 ± 0.30	26.65 ± 1.35
ชุดการทดลองที่ 5 (60%)	2.17 ± 0.03	42.26 ± 0.29	18.20 ± 0.60	9.27 ± 0.20	28.10 ± 0.48

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)



ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่างๆ เป็นเวลา 14 สัปดาห์

3.3.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตาย ของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่แตกต่างกัน แสดงในตารางที่ 7 พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีค่า 1651.10 ± 153.10) มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 1258.10 ± 101.20) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีค่า 1558.53 ± 166.21, 1380.51 ± 114.04 และ 1360.24 ± 275.14)ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีค่า 3.41 ± 0.10 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 3.10 ± 0.09 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีค่า 3.34 ± 0.12, 3.21 ± 0.09 และ 3.18 ± 0.21 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$)

ค่าอัตราการกินอาหารของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีค่า 2.02 ± 0.19 เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน) มีค่าอัตราการกินอาหารแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 2.81 ± 0.22 เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีค่า 2.39 ± 0.39, 2.34 ± 0.11 และ 2.55 ± 0.42 เปอร์เซ็นต์ตัวต่อต่อวัน ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$)

ตารางที่ 6 น้ำหนักปลาดุกลำพัน (กรัม/ตัว) ที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรตลอดระยะเวลาในการทดลอง

ชุดการทดลอง	เวลา (สัปดาห์)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
ชุดการทดลองที่ 1 (0%)	1.09 ± 0.06^{ns}	1.91 ± 0.11^{b}	3.15 ± 0.04^{ab}	5.25 ± 0.11^{a}	8.49 ± 0.39^{ab}	11.52 ± 1.15^{ab}	15.13 ± 2.17^{ab}	18.11 ± 2.68^{ab}
ชุดการทดลองที่ 2 (15%)	1.12 ± 0.07^{ns}	1.85 ± 0.04^{ab}	3.50 ± 0.27^{b}	6.36 ± 0.82^{b}	10.40 ± 1.65^{b}	13.93 ± 1.18^{b}	16.92± 1.36^{b}	19.54 ± 1.57^{b}
ชุดการทดลองที่ 3 (30%)	1.08 ± 0.05^{ns}	1.90 ± 0.02^{b}	3.39 ± 0.17^{b}	5.85 ± 0.08^{ab}	9.17 ± 0.24^{ab}	11.61 ± 0.58^{ab}	14.14 ± 0.20^{ab}	16.01 ± 0.47^{ab}
ชุดการทดลองที่ 4 (45%)	1.08 ± 0.06^{ns}	1.85 ± 0.08^{ab}	3.37 ± 0.26^{b}	5.58 ± 0.51^{ab}	8.63 ± 1.08^{ab}	11.14 ± 1.90^{ab}	13.67 ± 2.49^{ab}	15.74 ± 2.79^{ab}
ชุดการทดลองที่ 5 (60%)	1.10 ± 0.06^{ns}	1.71 ± 0.12^{a}	2.92 ± 0.04^{a}	4.89 ± 0.30^{a}	7.43 ± 0.31^{a}	9.64 ± 0.35^{a}	12.39 ± 0.64^{a}	14.94 0.84^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

อักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns = non-significant

และค่าอัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3 และ 4) (มีค่า 93.33 ± 0.00, 91.11 ± 3.85, 96.67 ± 4.71 และ 88.89 ± 3.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 75.56 ± 7.70 เปอร์เซ็นต์) ($p<0.05$)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตายของปลาดุกลำพันที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (SGR)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์/ตัว/วัน)	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)
ชุดการทดลองที่ 1 (0%)	1558.53 ± 166.21^{ab}	3.34 ± 0.12^{ab}	2.39 ± 0.31^{ab}	93.33 ± 0.00^{b}
ชุดการทดลองที่ 2 (15%)	1651.10 ± 153.10^{b}	3.41 ± 0.10^{b}	2.02 ± 0.19^{a}	91.11 ± 3.85^{b}
ชุดการทดลองที่ 3 (30%)	1380.51 ± 114.04^{ab}	3.21 ± 0.09^{ab}	2.34 ± 0.11^{ab}	96.67 ± 4.71^{b}
ชุดการทดลองที่ 4 (45%)	1360.24 ± 275.14^{ab}	3.18 ± 0.21^{ab}	2.55 ± 0.42^{ab}	88.89 ± 3.85^{b}
ชุดการทดลองที่ 5 (60%)	1258.10 ± 101.20^{a}	3.10 ± 0.09^{a}	2.81 ± 0.22^{b}	75.56 ± 7.70^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)
อักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95เปอร์เซ็นต์

3.3.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ, ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน, การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน, การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร ของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นทั้ง 5 ชุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2 และ 3) (มีค่า 1.38 ± 0.20, 1.17 ± 0.14 และ 1.34 ± 0.11 ตามลำดับ) มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด และแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับ

กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 1.92 ± 0.25) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 45 เปอร์เซ็นต์ (มีค่า 1.55 ± 0.23) (สูตรที่ 4) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่มีระดับ 0, 15, 30 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3 และ 5) ($p>0.05$)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2 และ 3) (มีค่า 2.05 ± 0.25 และ 1.79 ± 0.15 ตามลำดับ) มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 1.27 ± 0.16) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 4) (มีค่า 1.76 ± 0.2.7 และ 1.59 ± 0.32 ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2, 3 และ 5) ($p>0.05$)

ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีค่า 29.96 ± 3.79 เปอร์เซ็นต์) มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) (มีค่า 17.18 ± 2.14 เปอร์เซ็นต์) ($p<0.05$) ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 3 และ 4) (มีค่า 22.11 ± 3.29, 25.43 ± 0.26 และ 22.73 ± 6.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับ กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 15 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2 และ 5) ($p>0.05$)

ค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) (มีค่า 70.95 ± 0.87 เปอร์เซ็นต์) มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 4 และ 5) (มีค่า 68.17 ± 0.43, 68.28 ± 0.91 และ 65.77 ± 0.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 30 เปอร์เซ็นต์

(สูตรที่ 3) (มีค่า 69.53 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0, 15 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2 และ 4) ($p>0.05$) ส่วนที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) มีความประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารต่ำที่สุด และแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 0, 15, 30 และ 45 (สูตรที่ 1, 2, 3 และ 4)

ตารางที่ 8 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ, ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน, การใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร ของปลาดุกลำพันที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)	การใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ (ANPU)	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (เปอร์เซ็นต์)
ชุดการทดลองที่ 1 (0%)	1.38 ± 0.20^{b}	1.76 ± 0.27^{ab}	22.11 ± 3.29^{ab}	68.17 ± 0.43^{b}
ชุดการทดลองที่ 2 (15%)	1.17 ± 0.14^{b}	2.05 ± 0.25^{b}	29.96 ± 3.79^{b}	70.95 ± 0.87^{c}
ชุดการทดลองที่ 3 (30%)	1.34 ± 0.11^{b}	1.79 ± 0.15^{b}	25.43 ± 0.26^{ab}	69.53 ± 0.34^{bc}
ชุดการทดลองที่ 4 (45%)	1.55 ± 0.23^{ab}	1.59 ± 0.32^{ab}	22.73 ± 6.57^{ab}	68.28 ± 0.91^{b}
ชุดการทดลองที่ 5 (60%)	1.92 ± 0.25^{a}	1.27 ± 0.16^{a}	17.18 ± 2.14^{a}	65.77 ± 0.67^{a}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)
อักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.4 ส่วนประกอบทางเคมีของตัวปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาทั้งตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า ความชื้นในตัวปลาหลังการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 72.09 ± 0.82 ถึง 75.37 ± 2.95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1) มีค่าความชื้นในตัวปลาแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 45 เปอร์เซ็นต์

(สูตรที่ 4) ($p<0.05$) ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15, 30 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2, 3 และ 5) ค่าความชื้นในตัวปลาไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 4) ($p>0.05$)

ค่าโปรตีนในร่างกายปลาหลังการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 54.73 ± 1.88 ถึง56.65 ± 1.98 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$)

ไขมันในร่างกายปลาหลังการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 26.50 ± 3.09 ถึง 31.52 ± 0.52 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$)

ปริมาณเถ้าในร่างกายปลาหลังการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 8.92 ± 0.52 ถึง 9.38 ± 0.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$)

และค่าของคาร์โบไฮเดรตในร่างกายของปลาหลังการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 1.04 ± 0.47 ถึง 2.13 ± 1.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 9 ค่าองค์ประกอบทางโภชนาการของปลาดุกลำพันทั้งก่อน และหลังการทดลอง

ชุดการทดลอง	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)
ปลาเริ่มต้นการทดลอง	77.83 ± 0.78	54.11 ± 1.06	21.96 ± 0.53	10.98 ± 0.93	2.87 ± 0.28
ชุดการทดลองที่ 1 (0%)	75.37 ± 2.95^{b}	54.62 ± 2.19^{ns}	31.52 ± 0.52^{ns}	8.92 ± 0.52^{ns}	1.23 ± 0.63^{ns}
ชุดการทดลองที่ 2 (15%)	72.82 ± 1.03^{ab}	56.65 ± 1.98^{ns}	26.50 ± 3.09^{ns}	9.15 ± 0.66^{ns}	2.08 ± 0.57^{ns}
ชุดการทดลองที่ 3 (30%)	73.09 ± 1.26^{ab}	56.30 ± 3.62^{ns}	30.53 ± 4.55^{ns}	9.35 ± 0.27^{ns}	1.04 ± 0.47^{ns}
ชุดการทดลองที่ 4 (45%)	72.09 ± 0.82^{a}	54.30 ± 2.68^{ns}	28.63 ± 1.85^{ns}	9.38 ± 0.29^{ns}	2.13 ± 1.22^{ns}
ชุดการทดลองที่ 5 (60%)	72.95 ± 0.48^{ab}	54.73 ± 1.88^{ns}	28.48 ± 1.26^{ns}	9.37 ± 0.36^{ns}	2.01 ± 0.67^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)
อักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
ns = non-significant

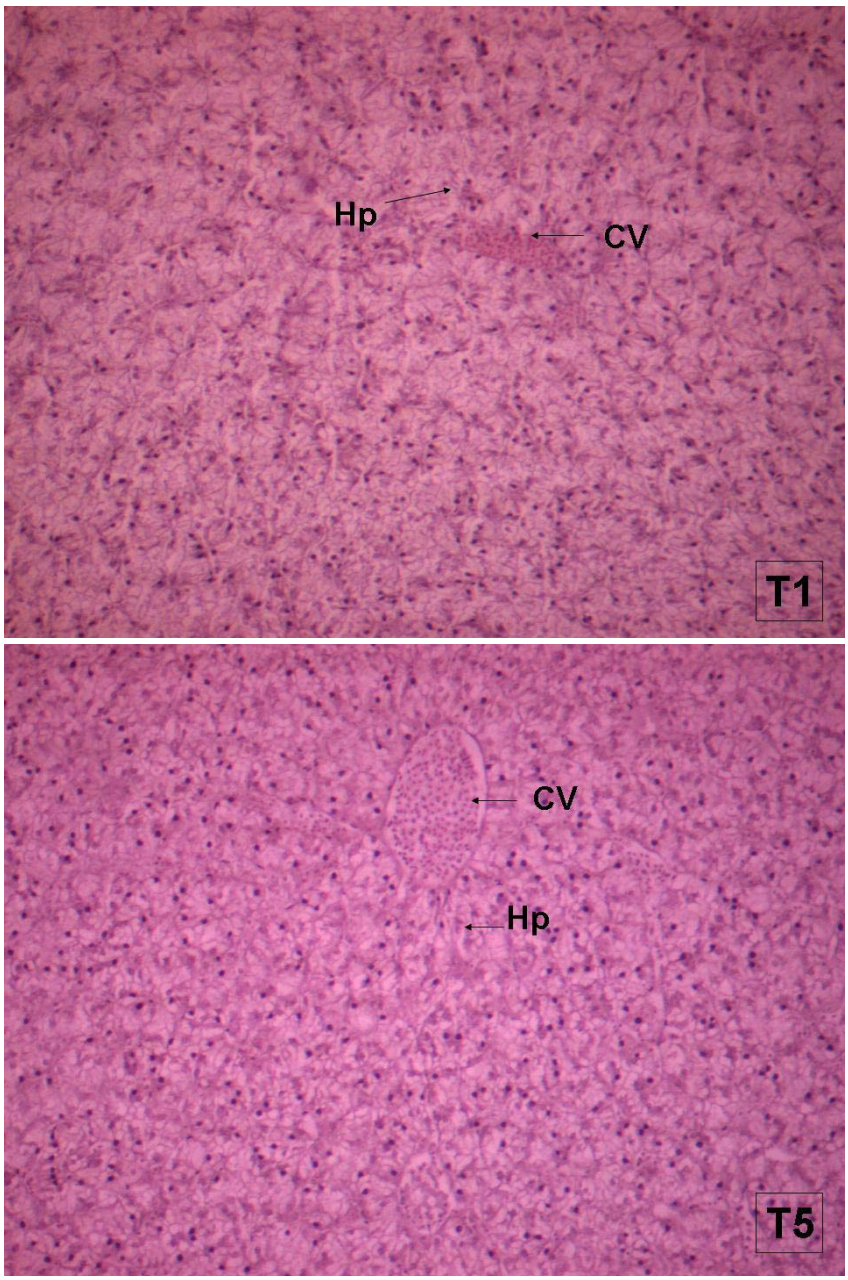
3.4 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของระบบทางเดินอาหารของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

จากการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อวิทยาของระบบทางเดินอาหารของปลาดุกลำพัน ซึ่งประกอบไปด้วย กระเพาะอาหาร ตับ ไต และลำไส้ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ลำไส้ตอนต้น และลำไส้ตอนปลาย พบว่า เนื้อเยื่อตับของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 39, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่มีความผิดปกติใดๆ ของเนื้อเยื่อตับ ดังแสดงในภาพที่ 7 ตับมีลักษณะเป็นพูที่ตอนท้ายจะแยกออกจากกันเป็นสองส่วน มีขนาดใกล้เคียงกัน ชั้นเยื่อบุผิวที่ปกคลุมตับเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดคอลาเจน (collagen) และ เรคติคูลา ไฟเบอร์ (reticular fiber) เป็นเซลล์รูปแบนชั้นเดียว ถัดจากเนื้อเยื่อบุผิวจะเป็นเซลล์ตับ (hepatocyte) ระหว่างชั้นทั้งสองในบางบริเวณจะพบหลอดเลือดแทรกอยู่ เซลล์ตับมีลักษณะเป็นรูปหลายเหลี่ยม มีนิวเคลียสรูปกลม อยู่กลางเซลล์

จากการศึกษาเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 39, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่พบความผิดปกติใดๆ ของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหาร ดังแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งกระเพาะ

อาหาร ส่วนต้นนั้นมีชั้นมูโคซา (mucosa) หนาที่สุด ประกอบด้วยเซลล์สี่เหลี่ยมทรงสูงเรียงตัวชั้นเดียว มีนิวเคลียสอยู่ที่ฐาน ไม่มีต่อมเมือก ถัดลงไปเป็นลามินา โพรเพรีย ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวอย่างหลวมๆ ภายในมีแกสตริกแกลน (gastric gland) แทรกอยู่ ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อที่ปกคลุมด้วยเซลล์รูปสี่เหลี่ยมทรงเตี้ยชั้นเดียว เห็นนิวเคลียสรูปกลมหรือรี ถัดลงมาเป็นชั้นสับมูโคซา (submucosa) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆ ภายในมีหลอดเลือดขนาดเล็ก ต่อจากนั้นเป็นชั้นมัสคูลาริส muscularis)ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น และชั้นนอกสุดเป็นชั้นซีโรซา (serosa) ส่วนกระเพาะอาหารตอนปลายเป็นส่วนที่ต่อจากกระเพาะอาหารส่วนต้นชั้นมูโคซา เป็นเซลล์รูปสี่เหลี่ยมทรงสูงชั้นเดียวมีนิวเคลียสที่ฐาน ชั้นลามินา โพรเพรีย ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่บางมาก ถัดมาเป็นชั้นสับมูโคซา ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันอย่างหลวม ๆ ถัดไปเป็นชั้นมัสคูลาริส ประกอบด้วยชั้นกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น และชั้นนอกสุดเป็นชั้นซีโรซา มีเซลล์รูปแบนชั้นเดียว มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันปมประสาทและเส้นเลือดแทรกอยู่

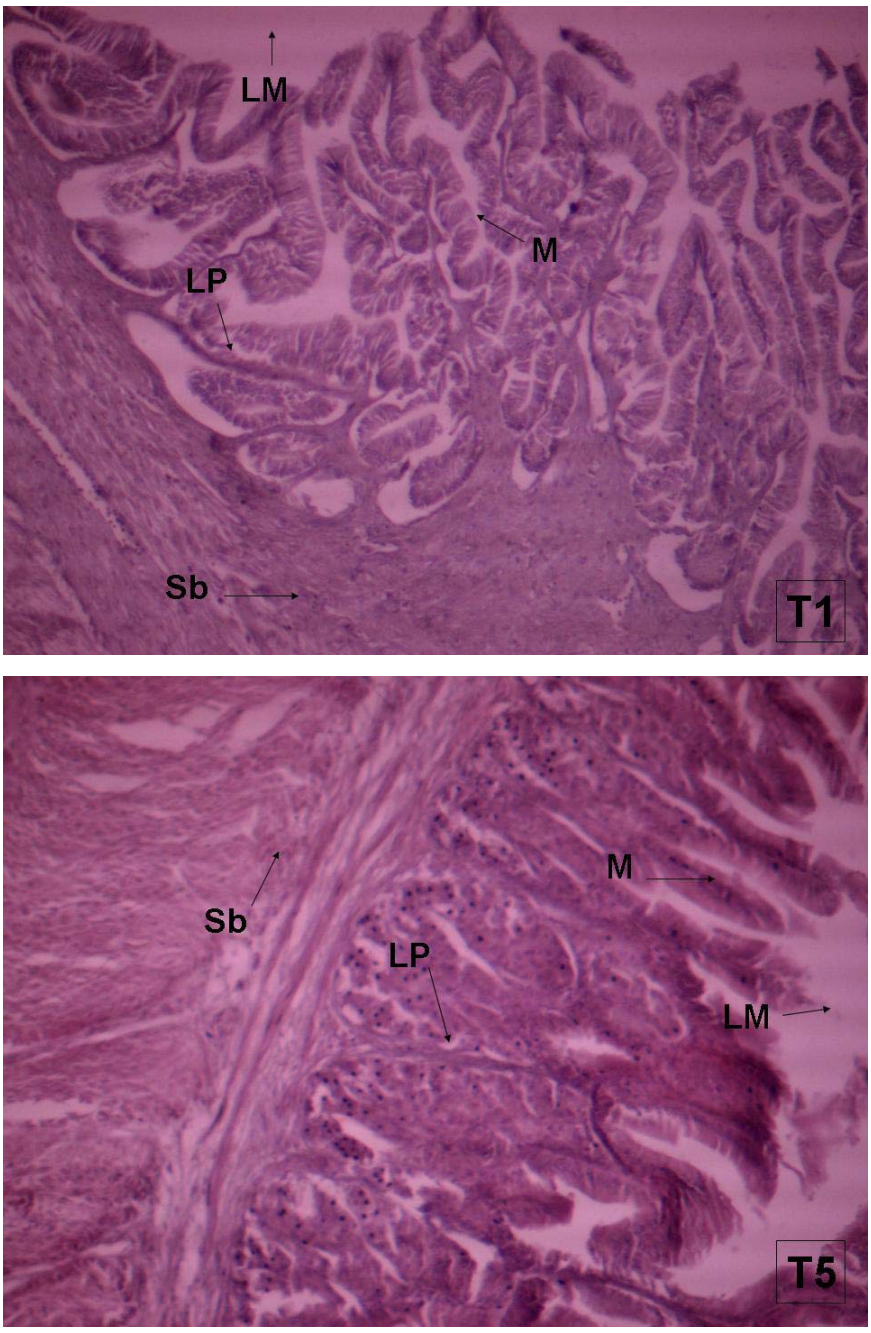
เนื้อเยื่อลำไส้ตอนต้นของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 39, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของเนื้อเยื่อลำไส้ตอนต้น ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งลำไส้ตอนต้นมีชั้นมูโคซา ยื่นเข้าไปข้างในลูเมนมาก และมีการแตกแขนงเพียงเล็กน้อย เซลล์เยื่อบุผิวเป็นรูปสี่เหลี่ยมทรงสูงชั้นเดียว มีนิวเคลียสรูปรีอยู่ค่อนไปทางฐาน ระหว่างเซลล์เยื่อบุมีต่อมเมือกแทรกอยู่เป็นระยะไม่หนาแน่นมาก ถัดลงไปเป็นชั้นลามินา โพรเพรีย ที่ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบาง ๆ ค้ำจุนส่วนของมูโคซาไว้ ถัดลงมาเป็นชั้นของสับมูโคซา ซึ่งประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวกันแน่นเห็นเป็นเพียงชั้นบาง ๆ พบท่อเลือดขนาดเล็กแทรกอยู่ในชั้นนี้ สับมูโคซา ของลำไส้ค่อนข้างบางเมื่อเปรียบเทียบกับกระเพาะอาหาร ถัดจากชั้นสับมูโคซาจะเป็นชั้นมัสคูลาริส ซึ่งประกอบด้วนกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น ชั้น โดยชั้นในเรียงตัวตามขวางมีความหนามากกว่าชั้นนอก ซึ่งเรียงตัวตามยาว พบหลอดเส้นเลือดขนาดเล็กแทรกอยู่ระหว่าง 2 ชั้น ชั้นนอกสุดคือ ชั้นซีโรซา เป็นเซลล์รูปแบนชั้นเดียว ในบางบริเวณของชั้นนี้มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและหลอดเลือดแทรกอยู่ด้วย



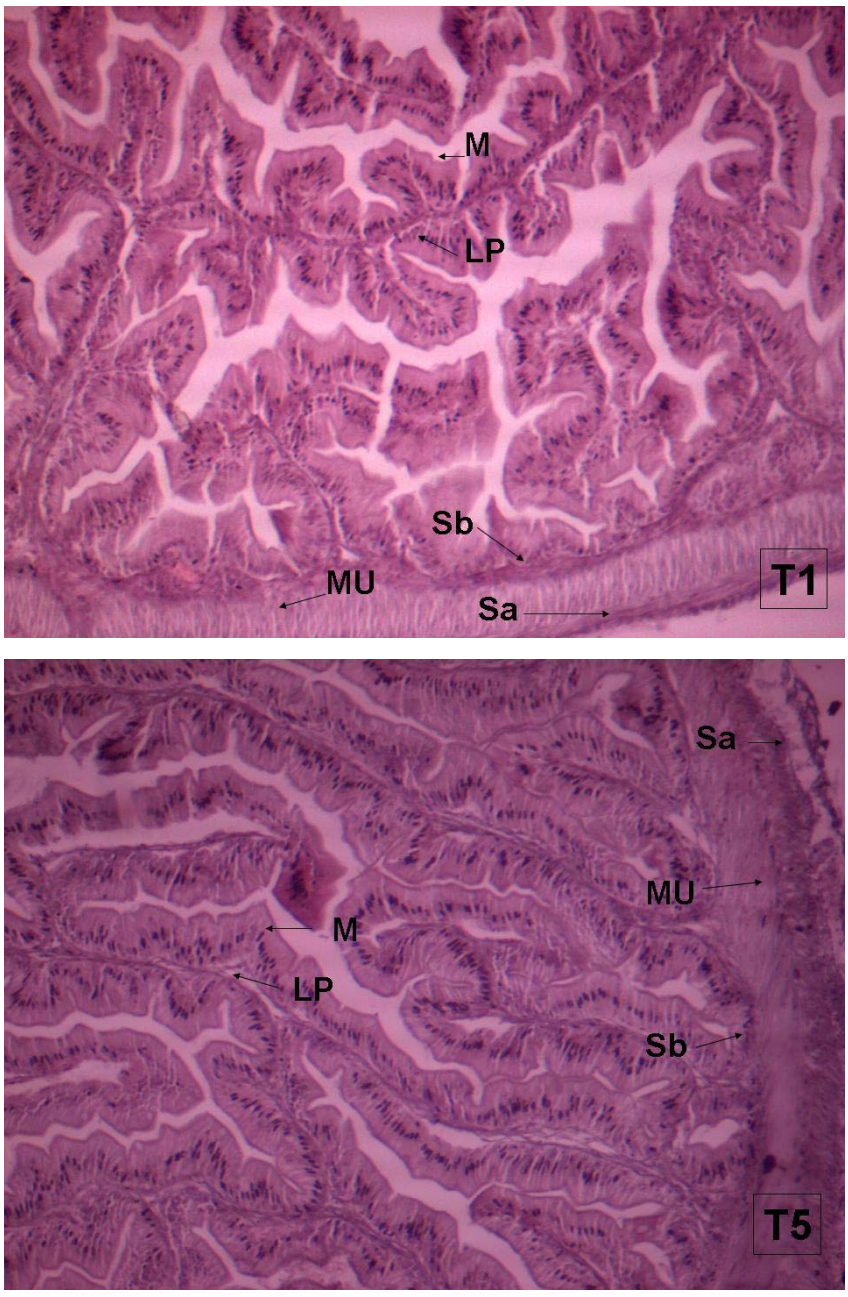
ภาพที่ 7 เนื้อเยื่อตับของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) ที่กำลังขยาย 10 เท่า ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (CV = central vein และ Hp = hepatocyte)

เนื้อเยื่อลำไส้ตอนปลายของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 39, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่พบความผิดปกติใดๆ ของเนื้อเยื่อลำไส้ตอนปลาย ดังแสดงในภาพที่ 10 ซึ่งลักษณะของลำไส้ตอนปลาย มีลำไส้ตอนปลาย มีชั้นชั้นมูโคซา ที่ยื่นเข้าไปในลูเมน น้อยกว่าลำไส้ตอนต้น และมีการแตกแขนงน้อยกว่าด้วย พบต่อมเมือกแพร่กระจายอยู่ภายในชั้นเยื่อบุผิวจำนวนมาก ถัดลงไปพบลามินา โพรเพรีย ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบาง ๆ ค้ำจุนส่วนของมูโคซา ที่ยื่นออกไปและพบท่อเลือดแทรกอยู่ด้วย ใต้ลงไปเป็นชั้นสับมูโคซา ซึ่งประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น โดยเรียงตัวตามขวางมีความหนามากกว่าชั้นนอกซึ่งเรียงตัวตามยาว พบท่อเลือดแทรกอยู่ ถัดออกไปเป็นชั้นมัสคูลาริส ซึ่งประกอบด้วยชั้นของกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น โดยชั้นในเรียงตัวตามขวางมีความหนามากกว่าชั้นนอกซึ่งเรียงตัวตามยาว พบท่อเลือดแทรกตัวอยู่ระหว่างเซลล์กล้ามเนื้อชั้นนอกนี้ ซีโรซา เป็นผนังลำไส้ชั้นนอกสุด ประกอบด้วยเซลล์รูปแบนชั้นเดียว ในบางบริเวณ มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ปมประสาท และหลอดเลือดแทรกอยู่

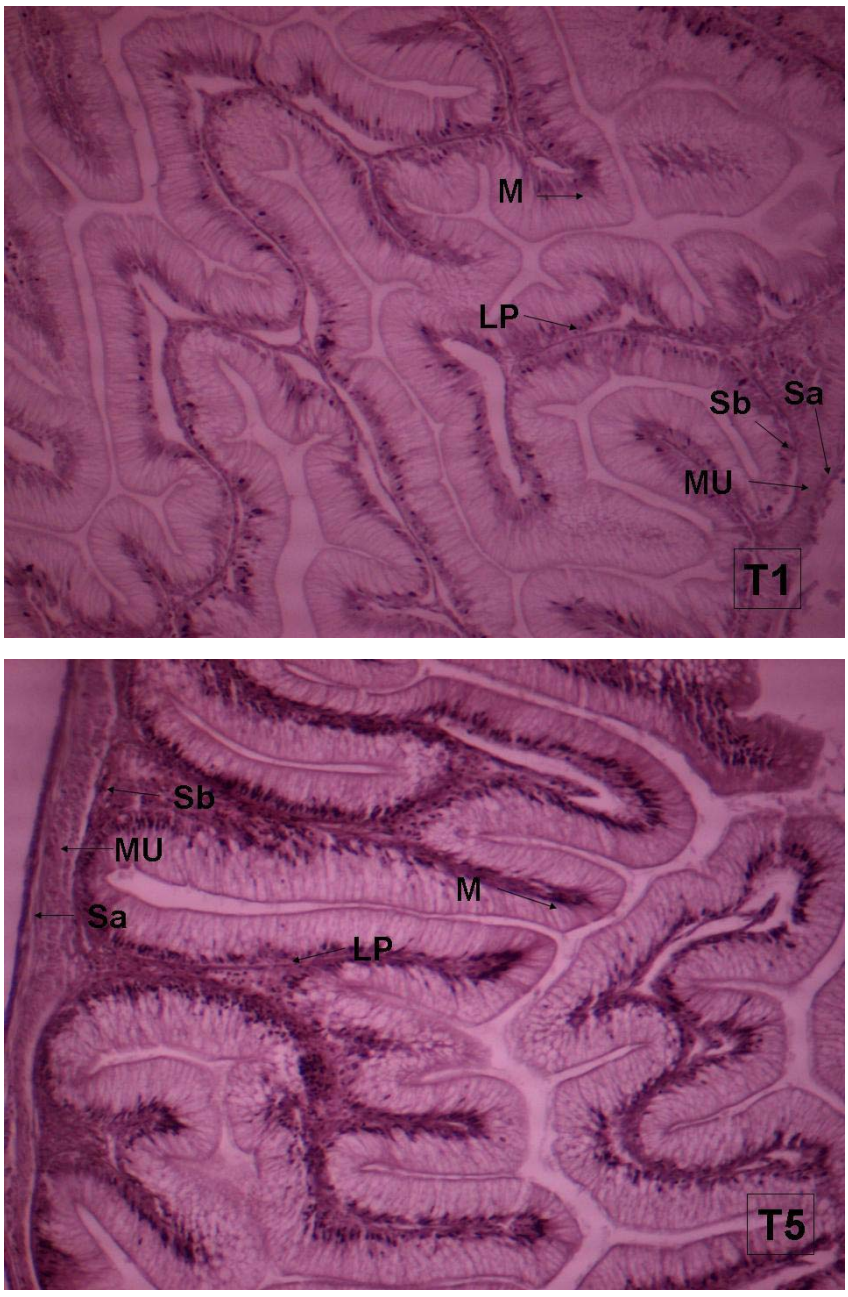
เนื้อเยื่อไตปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 39, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3, 4 และ 5) ไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของเนื้อเยื่อไต ดังแสดงในภาพที่ 11 ซึ่งลักษณะของไตมีเนบโพรน (nephrons) ซึ่งเป็นหน่วยทำงานของไต แต่ละเนบโพรน ประกอบด้วยรีนอล คอร์ปัสเคิล (renal corpuscle) และ รีนอล ทูบูล (renal tubule) ภายในรีนอล คอร์ปัสเคิล ประกอบด้วยโกเมอรูลัส (glomerulus) ซึ่งเป็นกลุ่มของหลอดเลือดฝอย ที่ประกอบด้วยเอ็นโดทีเลียล เซลล์ (endothelial cells) ของหลอดเลือดฝอย บาซีเมนต์ ลามินา (basement lamina) และ วิสเคอรอล อีพิทีเลียม (visceral epithelium) ซึ่งเป็นชั้นของบอลแมน แคบซูล (Bowman's capsule) ที่ล้อมรอบโกเมอรูลัส อยู่ และมีบอลแมน สเปส (Bowman's space) กั้นอยู่ที่ โกเมอรูลัส ส่วนรีนอล ทูบูล เป็นท่อไตที่เชื่อมต่อระหว่าง รีนอล คอร์ปัสเคิล และ คอลเลคทิง ดัคท์ (collecting duct) มีนิวเคลียสรูปกลมอยู่กลางเซลล์หรือบริเวณฐานเซลล์



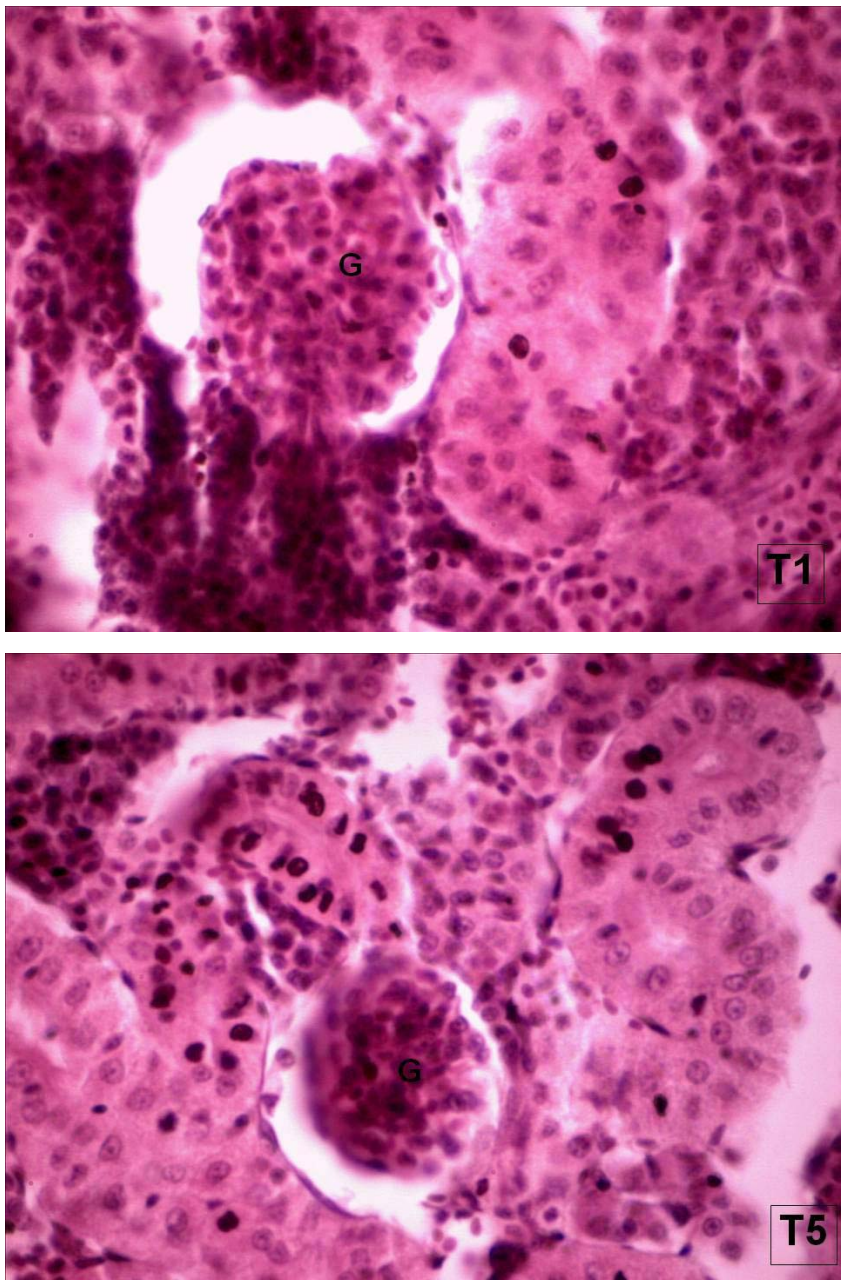
ภาพที่ 8 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) ที่กำลังขยาย 10 เท่า ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (LM = lumen, M = mucosa, LP = lamina propia และ Sb = submucosa)



ภาพที่ 9 เนื้อเยื่อลำไส้ตอนต้นของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) ที่กำลังขยาย 10 เท่า ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (M = mucosa, LP = lamina propia, Sb = submucosa, MU = muscularis และ Sa = serosa)



ภาพที่ 10 เนื้อเยื่อลำไส้ตอนปลายของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) ที่กำลังขยาย 10 เท่า ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (M = mucosa, LP = lamina propia, Sb = submucosa, MU = muscularis และ Sa = serosa)



ภาพที่ 11 เนื้อเยื่อไตของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1 และ 5) ที่กำลังขยาย 40 เท่า ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (G = Glomeerulus)

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในปลาดุกลำพัน เป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า ปลาดุกลำพันมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับอาหารการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0, 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, 3 และ 4) แต่พบว่า ปลามีการเจริญเติบโตลดลงในปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 5) และในปลาที่ได้รับอาหารทดลองในสูตรที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (สูตรที่ 5) มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น (สูตรที่ 2) จะเห็นได้ว่าการนำกากถั่วเหลืองมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในปลาดุกลำพันนั้นสามารถนำมาใช้ได้เพียงระดับหนึ่งเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปลาดุกลำพันเป็นปลากินเนื้อจึงมีเอนไซม์ที่ใช้การย่อยวัตถุดิบพืชน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ai และ Xie (2006) ทำการศึกษาระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น ในปลา เซาเทิร์น แคทฟิช โดยกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่างๆ คือ 0, 13, 26, 39, 52 และ 65 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีการเจริญเติบโตดีที่สุด และมีแนวโน้มในการเจริญเติบโตลดลงในปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 52 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าปลาดุกลำพันสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ใกล้เคียงกับปลาชนิดอื่น ๆ อีก คือ ปลากะรังดอกแดง สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 30 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (อัตรา และคณะ, 2546) ปลากะพงขาว สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (Tantikitti *et al.,* 2005) ในปลาปอมปาดัวร์สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 30 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (Alexander และคณะ, 2003) ปลากะพงแดงสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 40 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (Mae and Gregorial, 2004) ปลาโมง (Bocourti Catfish; *Pangasius bocourti*) สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 20 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (รัตนสุดา, 2552) ในปลาเรนโบว์ เทร้าท์ สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ 32 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น (Refstie *et al.,* 2000;

Heikkenen *et al.,* 2006; Kaushik *et al.,* 1995) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันในการทดลองครั้งนี้ พบว่า เมื่อมีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณที่มากขึ้น (มากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์) ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปลาอื่นๆ ที่มีความต้องการโปรตีนในอาหารที่สูง (แอตแลนติ คอด (Atlantic cod; *Gadus morhua*), แอตแลนติก แซลมอน (Atlantic salmon; *Salmo salar*), คูเนียท ดรัม (cuneate drum; *Nibea miichthioides*), กิลเฮด ซีบรีม (gilthead sea bream; *Sparus aurata*), สเนาท์ ซีบรีม(Sharpsnout seabream; *Diplodus puntazzo*), ปลาเรนโบว์ เทร้าท์, ยูโรเปียน ซีแบส, ปลาเรนโบว์ เทร้าท์กับปลาจะระเม็ดน้ำจืด (pacu; *Piaractus mesopotamicus*), ปลาช่อนทะเล (cobia; *Rachycentron canadum*), ออสเตรเลีย สแนปเปอร์ (Australian snapper, *Pagrus auratus*), ปลาเรนโบว์ เทร้าท์ และทิน ฟอล บาร์บ (tin foil barb; *Barbodes altus*))(Lim and Akiyama, 1992, Førde-Skjærvik *et al.,* 2006; Refstie *et al.,*2000; Storebakken *et al., et al.,* 1998; Whang *et al.,* 2006; Venou *et al.,* 2006; Henandez *et al.,* 2007; Heikkenen *et al.,* 2006; Tibaldi *et al.,* 2006; Ostaszewska *et al.,* 2005; Chou *et al.,* 2004; Quartararo *et al.,*1998; Kaushik *et al.,* 1995 และ Elagovan and Shim, 2000) การศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ระดับของการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองจะแตกต่างกันไปตามพฤติกรรมการกินอาหารของปลา เช่นในปลาที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) นั้นสามารถใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองป่นทดแทนปลาป่นได้ตั้งแต่ 20-90 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ดังเช่นรายงานการศึกษาในปลาหางเหลือง (yellow tail; *Seriola quinqueradiata*) ปลาเรดดรัม (red drum; *Sciaenops ocellatus*) ปลากะพงขาว และปลาออสเตรเลียนสแนปเปอร์ (Shimeo *et al.,* 1993; McGoogan and Gatlin III, 1997; Boonyaratpalin *et al.,* 1998 และ Quantararo *et al.,* 1998 ตามลำดับ) ส่วนการทดลองของ Fournier และคณะ (2004) และ Tantikitti และคณะ (2005) รายงานว่า ระดับที่เหมาะสมที่สุดของการใช้วัตถุดิบพืชในการทดแทนปลาป่นในอาหารปลาเทอร์บอท (turbot; *Psetta maxima*) และปลากะพงขาว คือ ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ซึ่งพฤติกรรมการกินอาหารของปลาเหล่านี้เป็นปลากินเนื้อเป็นอาหาร (carnivorous) ดังนั้นในการศึกษาข้างต้น พบว่าการนำวัตถุดิบพืชไปใช้ในอาหารปลาที่มีพฤติกรรมกินเนื้อเป็นอาหารนั้นสามารถนำไปใช้ได้ประโยชน์ได้น้อยกว่าในปลาที่มีพฤติกรรมกินพืชเป็นอาหาร (herbivorous) หรือปลาที่มีพฤติกรรมกินทั้งพืชและเนื้อเป็นอาหาร ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่า มีค่าดีที่สุดอยู่ในช่วงการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง

0 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคล้ายกับการทดลองในปลาชนิดอื่นๆ ที่มีความต้องการโปรตีนในอาหารในระดับสูง (แอตแลนติ คอด, แอตแลนติก แซลมอน, คูเนียท ดรัม, กิลเฮด ซีบรีม, ซาร์ปนอท ซีบรีม, ปลาเรนโบว์ เทร้าท์, ยูโรเปียน ซีแบส, ปลาเรนโบว์ เทร้าท์กับเปคู, โคเบีย, ออสเตรเลีย สแนปเปอร์, ปลาเรนโบว์ เทร้าท์ และทิน ฟอล บาร์บ) (Lim and Akiyama, 1992; Refstie *et al.,* 2000; Førde-Skjærvik *et al.,* 2006; Storebakken *et al.,* 1998; Whang *et al.,* 2006; Venou *et al.,* 2006; Henandez *et al.,* 2007; Heikkenen *et al.,* 2006; Tibaldi *et al.,* 2006; Ostaszewska *et al.,* 2005; Chou *et al.,* 2004; Quartararo *et al.,* 1998; Kaushik *et al.,* 1995 และ Elagovan and Shim, 2000) ส่วนค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับของกากถั่วเหลืองในอาหาร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มระดับกากถั่วเหลืองในอาหารทำให้ปลาต้องใช้พลังงานเพิ่มขึ้น เพราะกากถั่วเหลืองมีพวกเยื่อใยจำนวนมากจึงทำให้ปลาต้องใช้พลังงานในกระบวนการย่อยสูงตามไปด้วย (El- Dahhar and Lovell, 1995) หากไม่ทำการเพิ่มระดับพลังงานให้สูงขึ้นในอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นก็จะทำให้ปลาต้องใช้โปรตีนในอาหารมาเป็นพลังงานในการดำรงชีวิตแทนที่จะนำโปรตีนในอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโต (Halver, 1989; De Silva and Anderson, 1995) ส่วนค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิก็ลดลงตามระดับของกากถั่วเหลืองที่เพิ่มขึ้นในอาหาร แม้ว่าค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิจะมีค่าค่อนข้างสูง แต่ก็มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานในปลาเรนโบว์ เทราท์ และปลาแอทแลนติก แซลมอน (Xie and Jokumsen, 1997 และ Johanes *et al.,* 2003 ตามลำดับ) ที่พบว่า การเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองในอาหาร 0 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ทำให้ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ มีค่าสูงในระดับหนึ่ง แต่เมื่อมีการเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองสูงขึ้นมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ทำให้ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิมีแนวโน้มลดลงแต่หากมีการเพิ่มปริมาณกากถั่วเหลืองให้สูงขึ้นไปอีกจะทำให้ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ นั้นลดลงอย่างเห็นได้ชัด และยังสอดคล้องกับการทดลองของ Adebayor และคณะ (2004) ที่ทำการทดลองในปลานิล

อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลการทดลอง พบว่า อาหารที่มีระดับกากถั่วเหลือง 15 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนจากปลาป่น จะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณาจากอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ไม่ได้

มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปลากดอเมริกันซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติถึงแม้จะไม่มีปลาป่นในสูตรอาหารเลยแต่ต้องมีระดับของกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันอยู่ในสูตรอาหารร้อยละ 72 ของน้ำหนักอาหาร (Belal and Assem, 1995) ดังนั้นในการเลี้ยงปลาดุกลำพันสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ถึงระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา

จากการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่งเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงกว่าปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 0, 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง Yueming (1992); Rumsey และคณะ (1993; 1994); Stickney และคณะ (1996) และ Deyab และ Magdy (2003) ที่กล่าวว่า การทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในระดับสูงๆ มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้ในสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้วัตถุดิบพืชได้แตกต่างกัน เนื่องจากอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบพืชทำให้ความอยากกินอาหารของปลาลดลง (palatability) การยอมรับอาหารน้อยลง (acceptability) และคุณค่าทางโภชนาการที่ไม่ครบถ้วน โดยเฉพาะปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็นที่ไม่ครบถ้วน (imbalance essential amino acid profiles) โดยเฉพาะ กรดอะมิโนไลซีน และกรดอะมิโนเมทไธโอนิน ซึ่งมีผลทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตต่ำ (Watanabe and Pongmaneerat, 1993) อีกทั้งยังมีสารบางชนิดที่ทำลายคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหารได้ เช่น สารยับยั้งการทำงานของเอมไซน์โปรตีเอส หรือ โปรตีเอส อินฮิบิเตอร์ สารยับยั้งเอมไซน์ทริปซิน ไฟโตฮีมากลูตินิน กรดไฟติก และสารต้านการทำงานของวิตามิน ดังนั้นในการใช้กากถั่วเหลืองให้มีประสิทธิภาพจึงต้องจำกัดการปริมาณการใช้ และในระดับที่เหมาะสม (Shiau *et al.,* 1989; Sadiku and Jauncey, 1995a; 1995b)

ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร พบว่า ปลาดุกลำพันมีความสามารถในการย่อยโปรตีนในอาหารได้ค่อนข้างต่ำ อยู่ในช่วง 65.77 ± 0.67 ถึง 70.95 ± 0.87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปลาชนิดอื่นๆ ได้แก่ ปลานิล (Shiau *et al.,* 1987; De Silva *et al.,* 1991; Shaiu and Liang, 1994), ปลาช่อนทะเล (Chou *et al.,* 2004), ปลาแฮดดอก (Kim *et al.,* 2007), ปลากิลเฮด ซีบรีม (Venou *et al.,* 2006), ปลาโคเรีย ร็อคฟิช (Lim *et al.,* 2004) และในปลาบลู แคทฟิช (Webster *et al.,* 1992)) ที่พบว่า ปลาที่ได้รับอาหาร

ทดลองที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียวนั้นจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับที่เหมาะสมที่ทำให้มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา โดยปลากินทั้งพืชและสัตว์มีความสามารถในการย่อยอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองได้ดีกว่า (Degani and Revach, 1991) นิรุทธิ์ (2544) รายงานว่า ค่าสัมประสิทธิการย่อยของปลาที่ได้รับวัตถุดิบพืชในระดับต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน เมื่ออาหารที่ปลาได้รับมีระดับพลังงานที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของของวัตถุดิบที่เป็นส่วนประกอบของสูตรอาหารด้วย ทั้งนี้หากสูตรอาหารที่มีระดับของปลาป่นในอาหารสูง และมีส่วนผสมของวัตถุดิบพืชต่ำๆ ก็จะทำให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยสูงตามไปด้วย Serna และคณะ (1996) รายงานว่า ในสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของปลาป่นเป็นผสม 63.17 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงถึง 95.78 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้วัตถุดิบพืชที่ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารยังมีส่วนสำคัญอีกด้วย ดังในการรายงานของ Phromkunthong และคณะ (2002) กล่าวว่า ค่าประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองป่น มีค่าประสิทธิภาพการย่อยที่ดีกว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีกากเมล็ดเนื้อในปาล์มน้ำมัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลานิลแดงแปลงเพศนั้นมีความสามารถในการย่อยกากถั่วเหลืองได้ดีกว่ากากเมล็ดเนื้อในปาล์มน้ำมัน Kim และคณะ (1998) รายงานว่า ปลาแต่ละชนิดสามารถย่อยวัตถุดิบพืชได้ในปริมาณที่จำกัด โดยพบว่า สัตว์น้ำแต่ละชนิดสามารถใช้วัตถุดิบพืชได้แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นกับคุณค่าทางอาหารและปริมาณสารต้านโภชนาการในวัตถุดิบพืชแต่ละชนิดด้วย นอกจากนี้ปริมาณเยื่อใยในวัตถุดิบพืชที่สูงเกิน เป็นสารอาหารที่ปลาไม่สามารถย่อยได้ (Francis *et al.*, 2001) ทั้งนี้อาจเพราะกากถั่วเหลืองป่นมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตจำพวกโพลีแซคคาร์ไรด์จำพวกราฟฟินอส (raffinose) และสแตคไคออส (stachyose) ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ซึ่งมีผลต่อการย่อยสารอาหาร และทำให้เกิดการตอบสนองสารอาหารในทางเดินอาหารช้าลง (delaying gut evaluation) (Yueming, 1992)

El- Sayed (1992) รายงานว่า แหล่งของวัตถุดิบพืชที่เป็นเมล็ดที่ให้น้ำมัน (oil seed plant) ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีที่สุดคือ ถั่วเหลือง ซึ่งมีองค์ประกอบกรดอะมิโนค่อนข้างสูง แต่ก็ยังพบว่าขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นที่ปลาต้องการบางชนิด โดยเฉพาะกรดอะมิโนจำพวกที่มีกำมะถัน (sulfur) เป็นองค์ประกอบ คือ เมธไทโอนิน และ ซีสตีน และยังมีสารบางชนิดที่สามารถทำลายคุณค่าทางสารอาหารบางตัว เช่น สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส โดยเฉพาะทริปซิน ไฟโตฮีมาแอกกลูตินิน และสารที่ทำลายวิตามิน แต่สารเหล่านี้จะถูกทำลายเมื่อผ่านกระบวนการที่

ใช้ความร้อน (Tacon, 1993) และจากหลายการทดลองสรุปว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลาได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีข้อจำกัดเรื่องปริมาณในการใช้ (Shiau *et al.,* 1989; Sadiku and Jauncey, 1995a,b) อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า ปลาดุกลำพันมีความต้องเยื่อใยในอาหารในปริมาณที่สูง (มีกากถั่วเหลืองในอาหาร 15 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น) เพื่อช่วยให้อาหารสามารถอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้นานขึ้นจึงทำให้สามารถดูดซึมโปรตีนในอาหารได้ดีขึ้น (Halver and Hardy, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Peres และคณะ (2003) กับ Wilson และ Poe (1985) ที่ทำการทดลองในปลากดอเมริกัน ซึ่งพบว่า ระดับของกากถั่วเหลืองที่เหมาะสมจะทำให้ค่าของประสิทธิภาพการย่อยอาหารนั้นมีค่าสูงที่สุด และปลามีการเจริญเติบโตดีที่สุดด้วย แต่หากระดับของกากถั่วเหลืองมีมากเกินไปทำให้ปลามีการเจริญเติบโตลดลง (Andrews and Page, 1974)

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา พบว่า การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า แต่พบว่า ความชื้นในตัวปลามีแนวโน้มที่จะลดลงตามระดับของกากถั่วเหลืองที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Webster และคณะ (1995) ที่รายงานว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับต่าง ๆ อาจเป็นเพราะว่า ระดับพลังงาน และระดับโปรตีนในอาหารทดลองทุกสูตรนั้นมีความใกล้เคียงกันจึงไม่ส่งผลต่อการสะสม โปรตีน และไขมันในร่างกาย

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของระบบทางเดินอาหารของปลาดุกลำพัน ประกอบไปด้วย กระเพาะอาหาร ตับ ไต ลำไส้ตอน และลำไส้ตอนปลาย พบว่า ไม่มีความผิดปกติในใดๆ ในเนื้อเยื่อ กระเพาะอาหาร ตับ ไต ลำไส้ตอนต้น และลำไส้ตอนปลาย ซึ่งคล้ายกับการรายงานเนื้อเยื่อปกติ ของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกและปลาช่อน (Chinabut *et al.,* 1991; สุปราณี และคณะ, 2536) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ สารต้านโภชนาการต่างๆ เช่น ทริปซิน อินฮิบิเตอร์ เลคติน ซาโปนิน ไลซิโนอะลานีน แทนนิน และกรดไฟติค (Liu, 1997) มีปริมาณน้อยมากหรืออาจถูกทำลายในกระบวนการการผลิตอาหารซึ่งมีความร้อนสูง (Liener, 1980) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในปลากะพงขาวที่ได้รายงานไว้โดย Boonyaratparin และคณะ (1998) ซึ่งพบความผิดปกติในบริเวณตับอ่อนและลำไส้ส่วนต้นของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ถั่วเหลืองแช่น้ำบดละเอียดทดแทนปลาป่น คือ ไมโครวิลไลของเซลล์บุผิวผนังลำไส้หดหายไป อีกทั้งยังพบ การเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างผิดปกติในบริเวณชั้นลามินา โพรเพรีย และเกิดเว็กคูโอล จำนวนมากในผนังลำไส้ในชั้นมูโคซา ซึ่งในกากถั่วเหลืองแช่น้ำบดละเอียดมีสาร

ต้านโภชนาการสูงมาก Tacon (1993) รายงานว่า กากถั่วเหลืองดิบมีสารต้านโภชนาการหลายชนิด เช่น สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส โดยเฉพาะทริปซิน ไฟโตฮีมาแอกกลูตินิน และสารที่ทำลายวิตามิน แต่สารเหล่านี้จะถูกทำลายเมื่อผ่านกระบวนการที่ใช้ความร้อน ซึ่งต่างจากการทดลองครั้งนี้ ที่ใช้กากถั่วเหลืองสกัดไขมันในการทดลอง จึงทำให้มีสารต้านโภชนาการน้อย (Peres *et al.*, 2003)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

จากศึกษาการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในปลาดุกลำพัน สรุปได้ว่า

1. สูตรอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น 0 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในอาหาร เป็นสูตรอาหารที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพัน โดยที่ระดับของกากถั่วเหลืองดังกล่าว ไม่ส่งผลกระทบต่อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และยังทำปลามีการเจริญเติบโตที่เป็นปกติอีกด้วย

2. การใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารของปลาดุกลำพัน ที่ระดับ 0 ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร คือ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ไม่แตกต่างกัน และเมื่อเพิ่มระดับกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นมากขึ้นเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิมีแนวโน้มที่ลงลง

3. กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบอาหารที่ปลาดุกลำพันสามารถย่อยได้ และสามารถย่อยได้ดีที่สุดหากมีระดับกากถั่วเหลืองอยู่ในอาหาร 15 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน และจะย่อยได้น้อยลงเมื่อมีระดับกากถั่วเหลืองในอาหาร 0 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน และย่อยได้น้อยที่สุดเมื่อมีระดับของกากถั่วเหลืองอยู่ในอาหาร 60 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีน

4. องค์ประกอบทางเคมีในตัวของปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0, 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น ไม่ส่งผลกระทบต่อค่าโปรตีนในร่างกาย ไขมันสะสมในร่างกาย และเถ้าในร่างกาย แต่มีผลกับค่าความชื้นในตัวของปลาซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 0 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีค่าความชื้นสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่มีกากถั่วเหลือง 15, 30, 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์

5. ระดับของกากถั่วเหลืองที่ใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นปลาป่นในระดับต่างๆ ไม่ส่งผลให้เกิดความเปลี่ยนแปลง หรือความผิดปกติในพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหาร ของปลาดุกลำพันคือ กระเพาะอาหาร ลำไส้ตอนต้น ลำไส้ตอนปลาย ตับ และไตของปลาดุกลำพัน

ข้อเสนอแนะ

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นสูตรอาหารที่ใช้สำหรับการศึกษาวิจัย วัตถุดิบอาหารที่ใช้จึงมีราคาแพง โดยเฉพาะวิตามินในอาหาร ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ใช้วิตามินที่ระบุไว้ตามความต้องการของปลาในเขตน้ำอุ่น (warm water fish) (NRC, 1993) ซึ่งวิตามินแต่ละชนิดที่ใช้มีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปริมาณของวิตามินแต่ละชนิด เพื่อทราบถึงความต้องการของวิตามินแต่ละชนิด และควรหาแหล่งของวิตามินที่มีราคาต้นทุนต่ำกว่าวิตามินบริสุทธิ์เพื่อช่วยลดต้นทุนด้านการผลิตอาหาร

2. ควรทำการศึกษาความต้องการสารอาหารอื่นๆ เช่น ระดับไขมันในอาหาร หรือระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันด้วย

3. ในการทดลองครั้งนี้ แม้ว่า ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจ คือ สามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนได้ถึงระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหาร แต่ในการทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองในปลาดุกลำพันที่มีขนาดเล็ก คือ น้ำหนักเริ่มต้น 1.08 ± 0.05 ถึง 1.12 ± 0.07 กรัมต่อตัว ซึ่งเป็นปลาดุกลำพันที่มีขนาดเล็กมาก แต่ในการเลี้ยงส่วนใหญ่นั้น จะเริ่มเลี้ยงปลาที่มีขนาดใหญ่ (15 ถึง 30 กรัมต่อตัว) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาระดับของกากถั่วเหลืองที่เหมาะสมในปลาดุกลำพันขนาดใหญ่จนถึงระยะที่ตลาดมีความต้องการด้วย ในสภาพการเลี้ยงจริง เช่น ในบ่อดิน และบ่อซีเมนต์ขนาดใหญ่ โดยอาศัยแนวทางในการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กิตติวรรณ ทองก้อน. 2548. กากถั่วเหลืองกับการเลี้ยงสัตว์. ว. เกษตร 15: 12-19.

จารุรัตน์ เศรษฐภักดี. 2528. อาหารสัตว์เศรษฐกิจ. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชุติมา ตันติกิตติ. 2549. เอกสารคำสอนอาหารสัตว์น้ำขั้นสูง. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

โชคชัย เหลืองธุวปราณีต. 2547. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีและอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พรพนม พรหมแก้ว. 2538. การศึกษาการเพาะพันธุ์และอนุบาลปลาดุกลำพัน. การสัมมนาวิชาการประจำปี 2538, วันที่ 18-20 กันยายน 2538. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

นฤมล อัศวเกศมณี. 2550. อาหารและการให้อาหารปลา. กรุงเทพฯ : หจก. ภาพพิมพ์.

นิรุทธิ์ สุขเกษม. 2544. ผลของกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันต่อการเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานคริทร์.

นิฮารีฟัร เจษฎาภา, วุฒิพร พรหมขุนทอง และ สุภฎา คีรีรัฐนิคม. 2552. ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต การแลกเนื้อ การรอดตาย ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ ในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii* Valenciennes, 1840) ระยะปลานิ้ว. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 35. มหาวิทยาลัยบูรพา 15-17 ตุลาคม. จ. ชลบุรี. หน้า 240

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

พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานุช คีรีรัฐนิคม. 2551. ผลของระดับความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโต อัตราการแลกเปลี่ยนเนื้อ และอัตราการรอดตาย ของปลาดุกลำพันระยะปลานิ้วในบ่อคอนกรีต. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิชาการ ครั้งที่ 1 สุวัจน์ ธัญรส (บรรณาธิการ) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 27-29 สิงหาคม 2551. จ. ตรัง หน้า 76.

มงคล ว่องสมบัติ. 2548. การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลาดุก. กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.

ยุพร พืชกมุทร. 2550. การใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลือง. ว.พระจอมเกล้าลาดกระบัง. 15: 4-41.

รัตนสุดา ไชยเชษฐ์. 2552. ผลของการใช้วัตถุดิบโปรตีนบางชนิดทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของปลาโมง (*Pangasius bocourti*). วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 3:15-23.

วีรพงศ์ วุฒิพัฒธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ศราวุธ เจะโส๊ะ, สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว. 2538. ชีววิทยาบางประการของปลาดุกลำพัน. รายงานการสัมนาประจำปี 2538 กรมประมง. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สัมพันธ์ จันทร์ดำ. 2545. ความผันแปรของลักษณะภายนอกและความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาดุกลำพัน *Prophagorus nieuhofii* (Cuv. & Val., 1840) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุปราณี ชินบุตร, กัลยา จำเริญรัตนะ และชะลอ ลิ้มสุวรรณ. 2536. เนื้อเยื่อวิทยาปลาช่อน. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, กรมประมง.

สุภฎา คีรีรัฐนิคม, พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานุช คีรีรัฐนิคม. 2551. ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอด ของปลาดุกลำพันระยะปลานิ้ว. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิชาการ ครั้งที่ 1 สุวัจน์ ธัญรส (บรรณาธิการ) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 27- 29 สิงหาคม 2551 หน้า 45.

สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2539. การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม. 2540. รายงานการประชุมเพื่อจัดสถานภาพทรัพยากรชีวภาพของประเทศไทย. กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.

สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์. 2548. กฎหมาย ระเบียบ ข้อบังคับต่างๆ เกี่ยวกับ พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2525 ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เรื่อง กำหนดชื่อ ประเภท ชนิดหรือลักษณะของอาหารสัตว์คุณภาพหรือมาตรฐานของอาหารสัตว์ ตามชื่อ ประเภท ชนิด หรืออายุของสัตว์ คุณภาพหรือมาตรฐานของภาชนะบรรจุและการใช้ภาชนะบรรจุ พ.ศ. 2545. หน้า 175.

อัตรา ไชยมงคล, มะลิ บุณยรัตผลิน, ชูศักดิ์ บริสุทธิ์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2546. การใช้กากถั่วเหลืองสกัด น้ำมันแทนที่ปลาป่นในอาหารปลากะรังดอกแดง. สืบค้นได้จาก http:// www.nicaonline.con (เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 เมษายน 2551).

อุดมชัย อาภากุลอนุ และ สุวรรณี โล้กูลประกิจ. 2529. การเพาะพันธุ์ปลาดุกลำพันโดยวิธีผสมเทียม. รายงานประจำปี 2527- 2530. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 38-46.

อุทัย คันโธ. 2529. อาหารและการผลิตอาหารสุกรและสัตว์ปีก. ฉบับเรียบเรียง ครั้งที่ 2. ศูนย์วิจัยและ อบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กำแพงแสน. นครปฐม. หน้า 71-76.

Abel, H.K., Becker, K., Meske, C.H.R. and Friedrich, W., 1984. Possibilities of using heat-treated full- fat soybeans in carp feeding. Aquaculture 42. 97-108.

Adebayor, O.T., Fabenro, O.A. and Jegede, T. 2004. Evaluation of *cassia fistula* meal as a replacement for soybean meal in practical diets of *Oreochromis niloticus* fingerling. Aquacult. Nutr. 10: 99-104.

Ai, Q. and Xie, X. 2006. Effects of dietary soybean protein levels on metabolic response of the southern catfish, *Silurus meridionalis*. Aquaculture. 144: 41-47.

Alexander, C., Roshada, H. and Ahyaudin, B. A. 2003. Assessment of soybean meal in diets for discus (*Symphysodon aequifasciata* HECKEL) farming through a fish meal replacement study. Aqaucult. Res. 34: 913-922.

Andrews, J.W., Page, J.W., 1974. Growth factors in the fish meal component of catfish diets. J. Nutr. 104, 1091-1096.

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

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.

Bancroft, J.D. 1967. Histochemical Techniques. London: Butterworths.

Branden, C. and Tooze, J. (1991). Introduction to Protein Structure. New York:Garland Pub.

Belal, I.E.H. and Assem, H. 1995. Subtibility of soybean meal and oil for fish meal in pratical diets fed to channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque): effect on body composition. Aqaucult. Res. 26: 141-145.

Boonyaratpalin, M. and Phromkunthong, W. 2000. Effect of Ronozyme treated rice bran and oil palm meal on growth of sex reversed *Tilapia niloticus*. The sixth Roche Aquaculture Conference Asia Pacific (ed. B. Hunter) Bangkok, Thailand, September 29, 2000. pp. 50-63.

Boonyaratpalin, M., Suraneiranat, P. and Tunpibal, T. 1998. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. Aquaculture. 161: 67-78.

Chinabut, S., Limsuwan, C. and Kitsawat, P. 1991. Histology of the walking catfish, *Clarias batrachus*. The Aquatic Animal Health Research Institue. Department of Fisheries.

Chou, R.L., Her, B.Y., Su, M.S., Hwang, G., Wu, Y.H. and Chen, H.Y. 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Aquaculture. 229: 325-333

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.

Dabrowski, K. and Kosak. B. 1979. The use of fish meal and soybean meal as a protein sourec in the diet of grass carp fry. Aquaculture. 18: 107.

Degani, G. And Revach, A. 1991. Digestive capabilities of tree commensal fish species: carp, *Cyprinus capio* L., *Oreochromis niloticus x O. Aureus*, and African catfish, *Clarias garienpinus* (Burchell 1882). Aquacult. Fish. Manage. 22: 397-403.

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

De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Smith, K.F. 1991. Interaction of varying dietary protein and lipid level in young red tilapia: evidence of protein sparing. Aquaculture. 95: 305-318.

Deyab, M.S. and Magdy, M. A. 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreocromis niloticus* (L.) diets. Aqaucult. Res 34: 1119-1127.

Dupree, H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of nutrients in purified diets. U.S. Bureau of Sport Fish and Wildlifte Tech. Pap. No. 9.

Elangovan, A. and Shim, K.F. 2000. The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile tin foil barb (*Barbodes altus*). Aquaculture. 189: 133-144.

El- Dahhar, A.A. and Lovell, R.T. 1995. Effect of essential amino acid (methionine and lysine) and treat oil in fish diet on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis mosambicuss*. Aquacult. Fish. Manage. 24: 713-739.

Elvevoll, E.O. and James, D.G. 2000. Potential benefits of fish for maternal, foetal, and neonatal nutrition: a review of the literature. Food, Nutr. Agricult., 27: 20.

El- Sayed, A.F.M. 1999. Alternative dietary protein sources for farm tilapia, *Oreochromis* spp. Aquaculture. 179: 149-168.

FAO. (Food and Agriculture Organization). 2006. Use of Fishery Resources as Feed Inputs to Aquaculture Development: Trends and Policy Implications. database. Available at URL : http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en (1 October 2009).

Forde-Skjaervik, O., Refstie, S., Aslaksen , M.A. and Skrede, A. 2006. Digestibility of diets containing different soybean meals in Atlantic cod (*Gadus morhua*); comparison of collection methods and mapping of digestibility in different sections of the gastrointestinal tract. Aquaculture. 261: 241-258.

Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture 199: 197-217.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxides as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 30: 502-506.

Guy, S., Teugels, G. and Pouyaud, L. 2004. Description of a New Clariid Catfish, *Clarias pseudonieuhofii* from West Borneo (Siluriformes: Clariidae). J. Zool. Stud. 43: 8-19.

Halver, J. E. and Hardy, R. W. 2002. Fish Nutrition. New York: Academic Press.

Hasan, M.R. 2001. Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. In: R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery and J.R. Arthur, (eds.) Aquaculture in the third millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000, Bangkok, NACA and Rome, FAO. pp. 193–219.

Heikkinen, J., Vielma, J. Kemilainen, O., Tiirola, M., Eskelinen, P., Kiuru, T., Navia-Paldanius, D. and Wright, A.V. 2006. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 261: 259-268.

Hertrampf, J.W. and Piedad- Pascual, F. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. London: Kluwer Academic Publishers. 573 p.

Hernández, M.D., Martínez, F.J., Jover, M. and García García. B. 2007. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. Aquaculture. 263: 159-167.

Howe, P. 1996. Making pork healthier. Pig Ind. News, pp. 6–10.

Humason, G. 1972. Animal Tissue Technique, (4th edition) San Francisco: W.H. Freeman and Company. 661 p.

Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid catfish (*Clarias macrocephalus X C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquaculture. 127: 61-68.

Johannes, O., Andrers, A., Britt, H. and Tan, H.P. 2003. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with increasing substilution of fishmeal with vegetable protein. Aquaculture. 221: 365-379.

Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J. Fauconneau, B. and Laroche, M. 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 133: 257-274.

Kim, D.S., Noh, C.H., Jung, S.W. and Jo, J.Y. (1998). Effect of Obosan supplemented diet on growth, feed conversion ratio and body composition of nile tilapia *Oreochromis niloticus.* J. Aquacult. Trop. 11: 83-90.

Kim, J.D., Tibbetts, S.M., Milley, J.E. and Lall, S.P. 2007. Effect of the incorporation level of dehulled soybean meal into test diet on apparent digestibility coefficients for protein and energy by juvenile haddock, Melanogrammus aeglefinus L. Aquaculture. 267: 308-314.

Kiriratnikom, S., Ruangklay, K., Choksawatdikorn, P., Anuchat, P. And Kiriratnikom, A. 2007. Effect fo various form of diet on growth performance and survival of nieuhofii's catfish lavae (*Clarias nieuhofii*). 33th Congress on Science and Technology of Thailand, 18-20 October 2007 Walailak Univesity, Nakorn si Thamarat, Thailand.

Lall, S. 2000. Role of nutrition in fish health. Int. Aquafeed. 2: 10-14.

Landau, M. 1992. Introduction to Aquaculture. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Liener, I.E.1980. Factors affecting the nutritional quality of soya products. J. Am. Oil. Chem. Soc. 58: 406-415.

Lim, K. K. P. 1994. The inland fishes of Pulau Tioman, Pahang, Peninsular Malaysia: Pangolin. 6: 6-15.

Lim, C. and Akiyama, D.M. 1992. Full- fat soybean meal utilization by fish. Asian Fisheries Science. 5: 181-197.

Lim, S.R., Choia, S.M., Wang, X.J., Kim, K.W., Shin, I.S., Min, T.S. and Bai, S.C. 2004. Effects of dehulled soybean meal as a fish meal replacer in diets for fingerling and growing Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. Aquaculture. 231: 457-468.

Lim, K. K. P. and Ng, H. H. 1999. *Clarzas batu*, A new species of catfish (Teleostei: Clariidae) from Pulau Tioman, Peninsular Malaysia. Raff. Bull. Zoo. 6: 157-167.

Liu, K.S. 1997. Soybean chemistry, technology and utilization. New York: Chapman and Hall.

Lovell, T. 1998. Nutrition and Feeding of Fish. New York: Van Nostrand Reinhold.

Mae, R. C. and Gregorial, E. P. 2004. Partial replacement of fish meal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lujanus argentimusculatus* (Forsskal 1775). Aqaucult Res. 35: 299-306.

McGoogan, B. and Gatlin III., M.D. 1997. Effect of replacing fish meal with soybean meal in diets for red drum *Sciaenops ocellatus* and potential for palatability enhancement. J. World. Aqua. Soc. 28: 374-385.

Nankervis, L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non- protein energy source on growth, nutrient and circulating insulin- like growth factor and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer.* Aquaculture. 191: 323-335.

National Research Council (NRC), 1993. Nutrient Requirements of Fish.

Ostaszewska, T., Dabrowski, K., Palacios, M.E., Olejniczak, M. and Wieczorek, M. 2005. Growth and morphological changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and pacu (*Piaractus mesopotamicus*) due to casein replacement with soybean proteins. Aquaculture. 245: 273-286.

Peres, H., Lim, C. and Klesius, P. K. 2003. Nutrional value of heat- treated soybean meal for Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture. 225: 67-82.

Phromkunthong, W., Vongyai, S., Nakachat, D. Chittiwan, V., Jangsutthivorawat, W. and Hunter, B. 2002. Digestibility uplifts of palm kernel cake and soybean meal confined by Ronozyme VP in Sex- Reversed Black Tilapia (*Oreochromis niloticus*) The Eight Roche Aquaculture Conference Asia Pacific. Bangkok, Thailand, November 28, 2002. pp. 20-55.

Quartararo, N., Allan, G.L. and Bell, J.D. 1998. Replacement of fish meal in diets for Australian snapper, *Pagrus auratus*. Aquaculture. 166: 279-295.

Rainboth, J.R. 1996. FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes Fishes of the Cambodian Mekong. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. 265 pp.

Refstie, S., Korsøen, O.J., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I. andRoem, A.J. 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 19: 49-63.

Robinson, E.H. and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and feeding. *In* Channel Catfish Culture. (ed. C.S. Tucker) Development in Aquaculture and Fisheries Science, 15, Amsterdam: Elsevier. pp. 323-404.

Rumsey, G.L., Hughes, S.G. and Winfree, R.A. 1993. Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Anim. Feed. Sci. Technol. 40: 135-151.

Rumsey, G.L., Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Bowser, P.R. 1994. Effect of soybean protein on serogicals response, non- specific defense mechanism, growth and protein utilization in rainbow trout. Vet. Immunol. Immunopathol. 41: 323-339.

Sadiku, S.O.A. and Jauncey, K. 1995a. Soybean flour- poultry meat meal blends as dietary proteinsources in pratical diets of *Oreochromis niloticus* and *Clarias garienpinus*. Asian fish. Sci. 8: 159-168.

Sadiku, S.O.A. and Jauncey, K. 1995b. Digestibility apparent amino acid availability and weste generation potential of soybean flour: poultry meal blend based diets for tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingering. Aqaucult. Res. 26: 651-655.

Sargent, J.R. and Tacon, A.G.J. 1999. Development of farmed fish: a nutritionally necessary alternative to meat. Proc. Br. Nutr. Soc. 58: 377-383.

Serna, M.R., Novoa, M.A.O. and Osalde, C.C. 1996. Nutritional value of animal by-product meal in pratical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fry. Aqaucult. Res. 27: 67-73.

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 level. Aquaculture. 65: 251-261.

Shiau, S.Y., Kwoc, C.C., Hwang, J.Y., Chen, C.M. and Lee, S.L. 1989. Replacement of fish meal with soybean meal in male tilapia (*Oreochromis niloticus x O. aureus*) fingerling diets at a suboptimal level. J. World Aqua. Soc. 20: 230-235.

Shiau, S.Y., and Liang, H.S. 1994. Nutrient digestibility and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus x O. aureus*, as influenced by agar supplementation at two dietary protein level. Aquaculture. 127: 41-48.

Shimeo, S., Kumon, M., Ando, H. and Ukawa, M. 1993. The growth performance and body composition of young yellowtail fed with diets containing defatted soybean meal for long period. Bull. of Japan. Soc. of Sci. Fish. 59: 821-825.

Simopoulous, A.P., Leaf, A. & Salem, N. 1999. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. Ann. Nutr. Metabol. 43: 127-130.

Smith, H.M. 1945. The fresh-water fishes of Siam, or Thailand. United State Government Washington, DC: Printing Officer.

Spyridakis, P., Metailler, R., Gabaudan, J. and Riaza, A. 1989. Studies on nutrient digestibility in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 77: 61-70.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles of Warmwater Aquaculture. New York: John Wiley and Sons.

Steffens, W. 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. Aquaculture. 151: 97-119.

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.

Tacon, A.G.J. 1993. Feed ingredients for warm water fish: Fish meal and other processed feedstuffs. FAO Fisheries Circular No. 856, FAO, Rome. 64 p.

Tacon, A.G.J. and Forster, I.P. 2001. Global trends and challenges to aquaculture and aquafeed development in the new millennium. *In* International aquafeed-directory and buyers' guide 2001. Middlesex, UK, Turret Rai Uxbridge. pp. 4-25.

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

Teugels, G.G. 1986. A systematic revision of the African species of the genus *Clarias* (Pisces : Clariidae). Ann. Mus. Roy. Afr. Centr., Sci. Zool. 247: 1-199.

Thompson, K.D., Tatner, M.F. and Henderson, R.J. 1996. Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquacult. Nutr. 2: 21-31.

Tibaldi, E., Hakim, Y., Uni, Z., Tulli, F., Francesco, M.D., Luzzana, U. and Harpaz, H. 2006. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymesin the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 261: 182-193.

Van Weed, J. H. 1995. Nutrition and growth in *Clarias* species - a review. Aquat Living Resour. 8: 395-401

Venou, B., Alexis, M.N., Fountoulaki, E. and Haralabous, J. 2006. Effects of extrusion and inclusion level of soybean meal on diet digestibility, performance and nutrient utilization of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture. 261: 343-356.

Wang, Y., Kong, L.J., Li, C. And Bureau, D.P. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). Aquaculture. 261: 1307-1313.

Watanabe, T. and Pongmaneerat, J. 1993. Potential of soybean meal as a protein souces in extruded pellets for rainbow trout. Nippon suisan Gakkaishi. 59: 1415-1423.

Webster, C. D., J. H. Tidwell, L. S. Tiu, and D. H. Yancey.1995. Use of soybean meal as partial or total substitute of fish meal in diets for blue catfish (*Ictalurus furcatus*). Aquat Living Resour. 8:379-384.

Webster, C.D., Yancey, D.H. and Tidwell, J.H. 1992. Effect of partially or totally replacing fish meal with soybean meal on growth of blue catfish (*Ictalurus furcatus*). . Aquaculture. 103: 141-152.

Wilson, R.P. and W.E. Poe, 1985. Apparent digestible protein and energy coefficients of common feed ingredients for channel catfish. Progressive Fish-Culturist. 47: 154-158.

Xie, S. and Jokumen, A. 1997. Replacement of fish meal by potato protein concentrate in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): Growth, Feed utilization and bodyncomposition. Aquacult. Nutr. 3: 65-69.

Yueming, D.L. 1992. The use of soy bean protein in aqua feed. Netherlands: ADM Specially Ingredients Division Staionsstraat.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on nutrition of red seabream-XI: Effect of w3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 41: 73-77.

Zeitoun, I.H., Jack, P.I., Halver, J.E. and Ullrey, D.E. 1973. Influence of salinity on protein requirement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling. J. Fish. Res. Board Can. 30: 1867-1873.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

1.1 การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
2. ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
3. โถดูดความชื้น (desiccators)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบถ้วยกระเบื้องเคลือบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่งโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น จนกระทั้งอุณหภูมิของถ้วยกระเบื้องเคลือบลดลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1- 3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้น ซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่งโมง

5. นำออกจากตู้อบใส่ในภาชนะโถดูดความชื้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิม จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

คำนวณตามสมการ

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(a-b) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

b = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle fumace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น (desiccators)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผารอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีก ครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 3 กรัม) ใส่ในถ้วยกระเบื้องซึ่งทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควันแล้วจึงเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

คำนวณตามสมการ

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(b-a) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและน้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนเผา

1.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยตัวอย่าง
2. หลอดกลั่นตัวอย่าง
3. เครื่อง Kjeltech ซึ่งประกอบด้วย เครื่องย่อย เครื่องกลั่น และเครื่องจับไอกรด
4. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (sulfuric acid , H_2SO_4) 93-98 เปอร์เซ็นต์

2. สารเร่งรวม (catalyst mixture) เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate, $CuSO_4$) 7 กรัม กับโปแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate, K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) 45 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 450 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

4. สารละลายกรดเกลือ (Hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตรในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

5. สารละลายกรดบอริค (boric acid, H_3BO_3) 4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายกรดบอริคในน้ำกลั่น ต้มจนกระทั่งละลายหมดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

6. อินติเคเตอร์รวม (mixed indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 0.2 กรัมในแอลกอฮอร์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลินบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260-270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารดังกล่าวมา 1.325 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 250 มิลลิลิตร

8. เมทิลออเรนซ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนซ์ 0.1 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

ก. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. ชั่งตัวอย่างด้วยกระดาษชั่งสารที่ปราศจากไนโตรเจน ให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5-1 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ปริมาตร 10-15 มิลลิลิตร) ใส่ในหลอดย่อยโปรตีนและทำแบลงค์ด้วย บันทึกน้ำหนักโดยละเอียด

2. เติมสารเร่งรวม 3 กรัม

3. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 10 มิลลิลิตร

4. นำไปให้ความร้อนด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน วางหลอดย่อยในเตาเผาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบเข้ากับเครื่องจับไอกรดและเปิดเครื่องจับไอกรด (โซเดียม ไฮดรอกไซด์ 15 % เป็นตัวจับไอกรด)

5. ย่อยที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส เวลา 90-120 นาที (สามารถเพิ่มเวลาในการย่อยได้จนได้สารละลายใส) เมื่อย่อยจนใสหรือได้สารละลายสีฟ้าหรือสีเขียวอมฟ้า ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ควัน

6. นำไปกลั่น

ข. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

1. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดวิเคราะห์

2. นำขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตรภายในบรรจุกรดบอริก 40 มิลลิลิตร โดยให้ปลายของท่อยางที่ต่อจากกระบอกแก้ว

ควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริกเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดวิเคราะห์อย่าง ๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

3. ใส่อินดิเคเตอร์ลงในกรดบอริก 2-3 หยด

4. ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีก๊าซแอมโมเนียออกมา เมื่อกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีเขียวแล้วจึงทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที จากนั้นจึงนำขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่องกลั่น

ค. ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

1. นำไปไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนจนกระทั่งกรดบอริคเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน

2. บันทึกปริมาตรของกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้เพื่อการคำนวณต่อไป

การคำนวณ

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

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนซ์ อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ทำการไตเตรท ด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2 \text{หรือนอร์มอลลิตี้ของกรดเกลือ} = \frac{\text{น้ำหนัก (กรัม) ของโซเดียมคาร์บอเนต} \times 100}{\text{สารละลายกรดเกลือ (มิลลิลิตร)} \times 52.994}$$

1.4 **การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน** (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. โถดูดความชื้น (desiccators)
2. ตู้อบไฟฟ้า (electric oven)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
4. ชุดเครื่องสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ FALC®
5. ไส้กรอง (thimble)
6. ขวดสกัดไขมัน
7. เครื่องระเหย (evaporation)

สารเคมี

สารละลายปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)

วิธีการ

1. อบขวดสกัดไขมัน และตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อบจนแห้งแล้วตั้งทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักขวดสกัดไขมันให้ได้น้ำหนักคงที่ (W_1)
3. ประกอบขวดสกัดไขมันเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน
4. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรอง ประมาณ 1-2 กรัม (W_2) ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรองที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน
5. เติมสารละลายปีโตรเลียมอีเทอร์ เข้าเครื่องสกัดไขมันให้เรียบร้อย
6. เปิดเครื่องสกัดไขมัน พร้อมระบบหล่อเย็น ปรับอุณหภูมิเครื่องสกัดไขมันไปที่ 160 องศาเซลเซียส ต้มให้เดือด 18 ชั่วโมง
7. เมื่อครบ 18 ชั่วโมง แล้วทำการปิดเครื่องสกัดไขมัน และระบบหล่อเย็น
8. นำขวดสกัดไขมันออกจากเครื่องสกัดไขมัน แล้วนำไประเหยปีโตรเลียมอีเทอร์ด้วยเครื่องระเหย จนปีโตรเลียมอีเทอร์ระเหยหมด
9. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำขวดสกัดไขมันออกมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_3)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{w_3 - w_1 \times 100}{w_2}$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักขวดสกัดไขมัน

w_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

w_3 = น้ำหนักขวดสกัดไขมันและไขมันหลังอบ

2. การวิเคราะห์หาโครมิกออกไซด์ (ตามวิธีการของ Furukawa และ Tsukahara, 1966)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บมูลปลา ได้แก่ สายยาง และถุงผ้าขาวบาง

2. อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน เช่นเดียวกับข้อ 3.1

3. สเปคโตรโฟโตมิเตอร์

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ใส่ใน Kjeldahl flask

2. เติมกรดไนตริก (nitric acid) เข้มข้น 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Kjeldahl flask แล้วนำไปย่อยประมาณ 20 นาที

3. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมกรดเปอร์คลอริค (perchloric acid) 3 มิลลิลิตร นำไปย่อยต่ออีกครั้ง จนสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือแดง แล้วย่อยต่ออีก 10 นาที

4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรของสารละลายให้ครบ 100 มิลลิลิตร

5. นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น คำนวณค่าปริมาณโครมิคออกไซด์ โดยใช้สมการ

$$y = 0.2525x + 0.0073$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ปริมาณโครมิคออกไซด์ (มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร)

3. สารเคมีวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการศึกษาพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตามวิธีของ Bancraft (1967) และ Humason (1979)

สารเคมี

1. สารละลายบูเอง (Bouin' s solution) เตรียมโดยใช้

ฟอร์มาลีน (formalin)	25	มิลลิลิตร
กรดพิคริค (saturated aqueous picric acid)	75	มิลลิลิตร
กรดอะซีติกเข้มข้น (acetic acid)	5	มิลลิลิตร

ผสมเข้าด้วยกัน

2. สีย้อมฮีมาทอกซิลิน (haematoxylin) เตรียมโดยใช้

ฮีมาทอกซิลิน (haematoxylin crytal)	4	กรัม
โซเดียมไอโอเดต (sodium iodate)	0.8	กรัม
อลัม (potassium aluminium sulfate, alum)	100	กรัม
กรดซิตริก (citric acid)	4	กรัม
คลอรัลไฮเดรท (chloral hydrate)	200	กรัม
น้ำกลั่น	2,000	มิลลิลิตร

ละลายอลัมลงในน้ำกลั่น เติมฮีมาทอกซิลิน ผสมจนกระทั่งละลายหมด แล้วจึงเติมโซเดียมไอโอเดท ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซิตริก และคลอรัลไฮเดรทผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ก่อนนำมาใช้

3. สีย้อมอีโอซิน (eosin) เตรียมโดยใช้

อีโอซิน (eosin Y. CI 45380)	1	กรัม
เอทธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ (ethyl alcohol)	1,000	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น (acetic acid)	5	มิลลิลิตร

ผสมเข้าด้วยกัน

การเตรียมตัวอย่าง

1. สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู (cove oil) 100 ส่วนในล้านส่วน

2. นำกรรไกรผ่าตัดไปตัดเปิดช่องท้องของปลาออก ตัดตับออกแล้วดองในน้ำยาบูแองทันที จากนั้นทำการตัดกระเพาะอาหารและลำไส้แล้วดองในน้ำยาบูแองทันที แล้วจึงทำการเลาะไตที่บริเวณกระดูกสันหลังแล้วดองในน้ำยาบูแองทันที ทำการเก็บรักษาตัวอย่างในน้ำยาบูแองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงเปลี่ยนน้ำยาดองเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ เอทธิลแอลกอฮอล์ และสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นระยะเวลานาน

3. ตบแต่งตัวอย่าง (trim) ที่ผ่านการดองแล้วให้มีขนาดพอเหมาะเพื่อสะดวกต่อการฝัง (embed) และนำไปตัดชิ้นส่วน (section) จากนั้นนำเข้าสู่กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อตามวิธีของ Humason (1979) ต่อไป

ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ (Processing)

การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อสำหรับศึกษาพยาธิสภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ภายในของเนื้อเยื่อจะต้องถูกแทรกซึมด้วยตัวกลาง (medium) ที่จะทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งเพียงพอ และสามารถถูกตัดออกเป็นแผ่นบาง ๆ ที่มีความหนาประมาณ 5-7 ไมโครเมตร ได้ ตัวกลางที่ใช้กันโดยทั่วไปจะเป็นพาราฟิน แว็กส์ (paraffin wax) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายขี้ผึ้งหรือเทียนไข การเตรียมเนื้อเยื่อประกอบด้วย 3 ขั้นตอนที่สำคัญ

1. **การดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ** (Dehydration)

การดึงน้ำออก เป็นขั้นตอนแรกในการเตรียมเนื้อเยื่อ โดยมีวัตถุประสงค์ในการกำจัดน้ำทั้งหมดที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพาราฟิน แว็กส์ สามารถแทรกซึมเข้าไปแทนที่ได้ การดึงน้ำออกจะใช้วิธีการแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นเริ่ม 50- 70% จากนั้นจึงค่อย ๆ เริ่มปรับเพิ่มวามาเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และสุดท้ายจะเป็นการแช่เนื้อเยื่อในสารละลายแอลกอฮอล์ 100% (absolute alcohol) เพื่อให้การดึงน้ำออกเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์

2. **การดึงแอลกอฮอล์ออกจากเนื้อเยื่อ** (Clearing)

เนื่องจากแอลกอฮอล์ไม่สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกับพาราฟิน แว็กส์ ได้ จึงจำเป็นจะต้องแช่เนื้อเยื่อในสารละลายที่สามารถผสมเป็นเนื้อกับทั้งแอลกอฮอล์ และ พาราฟิน แว็กส์ (clearing agent) ก่อน เป็นขั้นตอนเพื่อดึงแอลกอฮอล์ออกจากเนื้อเยื่อ ก่อนที่จะให้พาราฟิน แว็กส์แทรกซึมเข้าไป สารละลายเหล่านี้มีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้ทั่วไป ได้แก่ ไซลีน (xylene), คลอโรฟอร์ม (chloroform) และ โทลูอีน (toluene)

3. **การแทรกซึมด้วย** Paraffin wax (Wax penetration)

ขั้นตอนการให้พาราฟิน แว็กส์ แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็ง สามารถตัดออกเป็นแผ่นบาง ๆ ได้ ความแข็งของพาราฟิน แว็กส์จะขึ้นอยู่กับจุดหลอมเหลว (melting point) ยิ่งมีจุดหลอมเหลวสูงก็ยิ่งมีความแข็งมาก พาราฟิน แว็กส์ ที่ใช้กันทั่วไปจะมีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 54- 58 องศาเซลเซียส

เพื่อความสะดวก และรวดเร็วในการเตรียมเนื้อเยื่อ (processing) ห้องปฏิบัติการเนื้อเยื่อวิทยาส่วนใหญ่จะใช้เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ซึ่งมีขั้นตอนดั้งนี้

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมเนื้อเยื่อ

ขั้นตอน	สารละลาย	เวลา(ชั่วโมง)
1	50% alcohol	1
2	70% alcohol	1
3	70% alcohol	1
4	95% alcohol	1
5	95% alcohol	1
6	Absolute alcohol	1
7	Isopropyl alcohol	1
8	Isopropyl alcohol	1
9	Xylene	1
10	Xylene	1
11	Paraplast	1
12	Paraplast	1

4. **ขั้นตอนการฝังเนื้อเยื่อ และการตัด** (Embedding and sectioning)

นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อแล้วไปฝังในแว็กส์ พาราฟิน (wax paraffin) (โดยทั่วไปจะใช้ paraplast) เรียกขั้นตอนนี้ว่าการตัดโดยวางชิ้นเนื้อเยื่อลงในเบ้า (Embedding mould) แล้วเติมพาราพลาส (paraplast) เหลวลงไปจนเต็มเบ้า วางบนถาดเครื่อง

ให้ความเย็น (cooling) ทิ้งไว้จนพาราพลาสแข็ง จะได้ชิ้นเนื้อเยื่อที่ฝังอยู่ในพาราพลาส (tissue block) ถอดเบ้าออก นำบล็อกเนื้อเยื่อ (tissue block) ที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการตัด (section) ต่อไป

ตบแต่ง (trimming) บล็อกเนื้อเยื่อให้มีขนาดพอดีกับสไลด์ที่จะใช้วางแผ่นเนื้อเยื่อ แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) ให้มีขนาดความหนาประมาณ 5- 7 ไมโครเมตร นำไปลอยในอ่างน้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิ 45- 50 องศาเซลเซียส (อาจเติมเจลาติน (gelatin) ลงไปในน้ำเล็กน้อย) แล้วใช้แผ่นสไลด์ช้อนแผ่นเนื้อเยื่อที่ลอยอยู่เหนือน้ำขึ้นมา นำสไลด์ไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ข้ามคืนเพื่อให้แผ่นเนื้อเยื่อเกาะติดกับแผ่นสไลด์ดีขึ้น

5. **ขั้นตอนการย้อมสี** (Staining)

นำแผ่นสไลด์ไปผ่านการย้อมด้วยสีฮีมาท็อกซิลิน และ อีโอซิน (Haematoxylin & Eosin; H & E) ขั้นตอนการย้อมสีหลัก ๆ ประกอบด้วย การละลายพาราพลาส (de- wax) ในแผ่นเนื้อเยื่อด้วยไซลีน จากนั้นจึงนำไปแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ค่อย ๆ ลดความเข้มข้นลง เช่น จาก 100% เป็น 95%, 70% และ 50% ตามลำดับ แล้วจึงผ่านการแช่ในสารละลายสีฮีมาท็อกซิลิน และ อีโอซิน

6. **การปิดผนึกเป็นสไลด์ถาวร**

นำสไลด์ที่ผ่านการย้อมสีมาปิดผนึกเป็นสไลด์ถาวรโดยใช้น้ำยาเปอร์เมาท์ (permout) หยดลงบนแผ่นเนื้อเยื่อแล้วปิดทับด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slip) ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปศึกษาพยาธิสภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อไป โดยที่นิวเคลียสจะย้อมติดสีน้ำเงินของฮีมาท็อกซิลิน ส่วนไซโตพลาสซึม เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เม็ดเลือดแดง และกล้ามเนื้อจะย้อมติดสีแดง หรือสีชมพูของอีโอซิน

ตารางภาคผนวกที่ 2 การย้อมสีมีขั้นตอนต่าง ๆ โดยละเอียด ดังนี้

ขั้นตอน	สารละลาย	เวลา(นาที)
1	Xylene	2
2	Xylene	2
3	Xylene	2
4	Isopropyl alcohol	2
5	Isopropyl alcohol	2
6	Absolute alcohol	2
7	95% alcohol	2
8	95% alcohol	2
9	70% alcohol	2
10	70% alcohol	2
11	50% alcohol	2
12	Distilled water	1
13	Haematoxylin	5- 20
14	Distilled water	1
15	50% alcohol	2
16	Eosin	2- 3
17	70% alcohol	2
18	70% alcohol	2
19	95% alcohol	2
20	95% alcohol	2
21	Absolute alcohol	2
22	Isopropyl alcohol	2
23	Isopropyl alcohol	2
24	Xylene	2
25	Xylene	2

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นาย นิฮารีฟัร เจษฎาภา

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5110620015

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)	มหาวิทยาลัยทักษิณ	2550

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

นิฮารีฟัร เจษฎาภา, วุฒิพร พรหมขุนทอง และ สุภฎา คีรีรัฐนิคม. 2552. ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต การแลกเนื้อ การรอดตาย ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ ในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840) ระยะปลานิ้ว. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 35. มหาวิทยาลัยบูรพา 15-17 ตุลาคม. จ. ชลบุรี. หน้า 240

นิฮารีฟัร เจษฎาภา, วุฒิพร พรหมขุนทอง และ สุภฎา คีรีรัฐนิคม. 2554. การทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการรอดตายในปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*; Valenciennes, 1840)**.** การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณวิชาการ ครั้งที่ 21. มหาวิทยาลัยทักษิณ 25-28 พฤษภาคม. จ. สงขลา. หน้า 50