ผลของชนิดและระดับของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

Effect of Carbohydrate Types and Level on Growth Performance, Apparent Digestibility, Feed Utilization and Activity of Carbohydrate Utilization Enzyme in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch)

สร้อยแก้ว เอียงอุบล

Soykaew Iang-ubon

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
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
2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของชนิดและระดับของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

ผู้เขียน นางสาวสร้อยแก้ว เอียงอุบล

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

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

คณะกรรมการสอบ

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

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ตันติกิตติ)

.....กรรมการ
(ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของชนิดและระดับของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

ผู้เขียน นางสาวสร้อยแก้ว เอียงอุบล

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลอง ได้แก่ 1. ชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร และ 2. ระดับและรูปแบบคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสำรองโปรตีน และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นกลาง

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรต โดยเลี้ยงปลากะพงขาว น้ำหนักเริ่มต้น 5.84±0.10 กรัม/ตัว ในน้ำจืด ด้วยอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด คือ กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าว ที่ระดับ 17% โปรตีน 45% และไขมัน 12% เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่ได้รับแป้งมันสำปะหลัง มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับแป้งสาลี ($P>0.05$) รองลงมา คือ แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว เด็กซ์ตริน และกลูโคส ตามลำดับ ปลาที่ได้รับแป้งสาลีและแป้งมันสำปะหลังมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ไขมัน และพลังงานดีที่สุด ($P<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับกลูโคส มีอัตราการกินอาหาร การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมสารอาหารต่างๆ ต่ำที่สุด ($P<0.05$) ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลา (*In vivo* protein digestibility) ที่ได้รับเด็กซ์ตรินและกลูโคสมีค่าต่ำสุด ($P<0.05$) การทดสอบย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) พบว่า ผลผลิตมอลโตสมีค่าสูงสุดและต่ำสุด ในอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินและกลูโคส ตามลำดับ ระดับน้ำตาลในเลือดของปลาที่กินอาหารที่มีกลูโคสมีระดับต่ำสุดแต่มีการสะสมไกลโคเจนในตับสูงสุด ($P<0.05$) ดัชนีไขมันในช่องท้องมีระดับสูงสุดในปลาที่ได้รับเด็กซ์ตริน ($P<0.05$) ส่วนกิจกรรม PK, G6Pase และ G6PDH มีระดับสูงในปลาที่ได้รับกลูโคสและเด็กซ์ตริน ดังนั้น แป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ดีสำหรับปลากะพงขาว แต่แป้งสาลีมีความเหมาะสม เนื่องจาก มีองค์ประกอบโปรตีนในระดับสูง สามารถสำรองโปรตีน และแทนที่แหล่งโปรตีนหลักได้ 2.38%

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับและรูปแบบของแป้งสาลีในอาหารปลากะพงขาว โดยจัดชุดการทดลองแบบแฟคโทเรียล 5x2 ซึ่งมีระดับคาร์โบไฮเดรต 5 ระดับ และปรับลดระดับโปรตีน ระดับละ 3% ดังนี้ แป้งสาลี (โปรตีน)%: 15 (45), 20 (42), 25 (39), 30 (36) และ 35 (33)% โดยใช้แป้งสาลี 2 รูปแบบ คือ แป้งดิบ (raw starch) และแป้งสุก (gelatinized starch) เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 6.79±0.01 กรัม/ตัว ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาทุกชุดการทดลองมีอัตรารอดตาย 100% ($P>0.05$) มีปริมาณการกินอาหารไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) และรูปแบบแป้งไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ($P>0.05$) โดยปลาที่ได้รับแป้งสาลี 25% และโปรตีน 39% มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหารในระดับดีไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-20% และโปรตีน 42-45% ($P>0.05$) แต่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนที่ดีกว่าอาหารที่มีโปรตีนในระดับสูง ($P<0.05$) ขณะที่ผลการทดสอบย่อยโปรตีนในหลอดทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้การทดสอบย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองและการสะสมไกลโคเจนในตับพบว่ามีระดับสูงในอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีสุกและเพิ่มขึ้นตามระดับการเพิ่มแป้งสาลี ($P<0.05$) ระดับแป้งสาลีในอาหารที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นกลาง โดยทำให้กิจกรรมของ PK เพิ่มสูงขึ้น ขณะที่ กิจกรรมของเอนไซม์ G6Pase ลดลง ($P<0.05$) ส่วนระดับและรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ G6PDH ($P>0.05$)

ปลากะพงขาวสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน ได้แก่ แป้งสาลี ในระดับ 25% และโปรตีน 39% ในรูปแบบแป้งดิบ เป็นระดับและรูปแบบที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร เกิดการสำรองโปรตีน นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิสและลดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีส และการใช้แป้งสาลีในระดับนี้ช่วยลดการใช้โปรตีนรวมในอาหารลงได้ 3.50%

Thesis Title	Effect of carbohydrate types and level on growth performance, apparent digestibility, feed utilization and activity of carbohydrate utilization enzyme in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch)
Author	Miss Soykaew lang-ubon
Major Program	Aquatic Science
Academic Year	2011

ABSTRACT

The study consisted of two experiments: Experiment 1, the study on carbohydrate sources suitable for growth performance and nutrient utilization in seabass and Experiment 2, the study on suitable inclusion levels and forms of wheat flour on growth, nutrient utilization, protein sparing effect and intermediary enzyme activity in Asian seabass.

In Experiment 1, isonitrogenous (45%) and isolipidic (12%) diets were produced incorporating 17% glucose, dextrin, tapioca starch, corn starch, rice flour, wheat flour and rice bran. Diets were fed to apparent satiation to quadruplicate groups of juvenile seabass (initial weight 5.84±0.01 g) cultured in fresh water aquaria for 8 weeks. Fish fed the diet with tapioca starch had the highest ($P<0.05$) final weight, weight gain and specific growth rate but not significantly different ($P>0.05$) from those fed the wheat flour diet. Feed intake, feed conversion ratio, feed efficiency and protein efficiency ratio were the highest ($P<0.05$) in fish fed tapioca starch and wheat flour. The fish fed glucose containing diet had the poorest growth and feed utilization ($P<0.05$). *In vivo* apparent protein digestibility was lowest ($P<0.05$) in fish fed dextrin and glucose containing diets. An *in vitro* carbohydrate digestibility was the highest and lowest in diet containing dextrin and glucose, respectively. Blood glucose level in fish fed the glucose containing diet was the lowest ($P<0.05$) but liver glycogen the highest ($P<0.05$). Fish fed diets containing dextrin had the highest intraperitoneal fat ratio ($P<0.05$) but not significant different ($P<0.05$) from those fed the wheat flour and rice bran. Pyruvate kinase (PK, glycolysis), Glucose-6-phosphatase (G6Pase, gluconeogenesis) and Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH, lipogenesis) were affected by inclusion of simple carbohydrates, glucose and dextrin. The results indicated that tapioca starch and wheat flour are good carbohydrate sources for

Asian seabass but wheat flour is the suitable source for seabass because of high protein composition (14%) and protein sparing effect which can replace dietary protein at 2.38%.

In Experiment 2, suitable inclusion levels of wheat flour either raw or gelatinized were evaluated. The experiment was 5x2 factorial design for five increasing levels and two forms of wheat flour with concurrently 3% decreased protein level: 15(45), 20(42), 25(39), 30(36) and 35(33)% wheat flour (% dietary protein). Each experimental diet was fed to satiation to quadruplicate groups of seabass (initial weight 6.79±0.01 g) for 8 weeks. Fish in all treatments had 100% survival rate and the similar level of feed intake ($P>0.05$). Inclusion levels exhibited an effect on fish growth performance and nutrient utilization. Fish fed the diet containing 25% wheat flour and 39% dietary protein showed good growth and feed conversion ratio in comparison with those fed diets with 15-20% wheat flour and 42-45% dietary protein ($P>0.05$). Moreover, protein efficiency ratio and protein retention efficiency of the former group were higher indicating protein sparing effect of wheat flour. However, increasing levels of wheat flour to 30 and 35% of diet resulted in reduced growth and feed utilization efficiency ($P<0.05$). There is no difference of *in vitro* protein digestibility in all diets ($P>0.05$) but *in vitro* carbohydrate digestibility and liver glycogen were the highest in the diet containing gelatinized wheat flour ($P<0.05$) and tended to increase with elevated wheat flour levels. Increased level of wheat flour significantly improved protein utilization in association with increased glycolytic enzyme activities (PK) and decreased gluconeogenic (G6Pase) enzyme activities ($P<0.05$). G6PDH activities was not influenced by inclusion levels and type of starch ($P>0.05$). In conclusion, wheat flour could be suitably incorporated in the diet for Asian sea bass as high as 25% which facilitate a lower level of dietary protein to 39% of diet. At this inclusion level, 3.50% dietary protein could be reduced assisting least-cost production of Asian sea bass diet.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้คงไม่สำเร็จไปได้หากมิได้รับความอนุเคราะห์ ช่วยเหลืออย่างจริงใจจากผู้เกี่ยวข้องทั้งหมด คงไม่อาจเขียนคำขอบคุณได้ครบ จึงขอขอบคุณไว้ด้วยใจ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา ตันติกิตติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่ให้โอกาส เสียสละเวลามอบความรู้ ให้คำปรึกษา คอยชี้แนะแนวทางในการศึกษาคนคว้า การทำงาน การปฏิบัติตน กรุณาแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี นอกจากนี้ท่านยังได้ให้ความกรุณาอบรมสั่งสอนข้าพเจ้า ซึ่งข้าพเจ้าจะนำไปใช้ในการดำเนินชีวิตและการทำงานต่อไป

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง และดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่มีส่วนเสนอแนะและแก้ไขวิทยานิพนธ์ทำให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณมณี ศรีชะนันท์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ กำลังใจ รวมถึงช่วยสอนงานการทดลองของข้าพเจ้าตั้งแต่ต้นจนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และอาจารย์นพวรรณ ฉิ้มสังข์ ที่ช่วยเสนอแนะแนวทางการศึกษาต่อในระดับปริญญาโทแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าขอขอบคุณด้วยใจ

ขอขอบพระคุณบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานผลิตอาหารสัตว์น้ำบ้านพรุ ที่ให้ความอนุเคราะห์ปลาป่น กากถั่วเหลือง และน้ำมันปลา บริษัท โชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องในปลาทูน่าสด บริษัท ไทยยูเนี่ยน ฟีดมิลล์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์วิตามินผสม คลินิก เอ็ม ที แล็บ ที่ให้ความอนุเคราะห์สารละลายโซเดียมฟลูออไรด์พลัสอีดีทีเอ และภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ โดยคุณสุจิตร ชลดำรงค์กุล ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย ตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยสัตว์น้ำกิจการศุภมาตย์ ทุกคนที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ การช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และกำลังใจให้ข้าพเจ้าในช่วงเวลาทำวิทยานิพนธ์ อันได้แก่ คุณสุนันท์ ช่วยป้อง คุณดวงรัตน์ ชูเกิด คุณนเรศ ซ่วนยุก คุณสุณีย์ หวันเหล็ม คุณบุญกอบ วิริยพงศ์สุธี คุณสุพัตรา อรุณรัตน์ คุณรัชนี โชติกจินดา คุณจิรวัฒน์ ทัดแก้ว คุณอัครวิทย์ อิสสะโร คุณนัทท์ นันทพงศ์ คุณนุชรี สงสกุล และคุณจุฑารัตน์ คชเวช โดยบุคคลดังกล่าวได้ให้ความช่วยเหลือในหลายๆ เรื่อง อีกทั้งยังให้คำปรึกษาซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในระหว่างการทำวิจัย

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจนวิทยานิพนธ์บับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ได้แก่ คุณดุสิต นาคะชาติ คุณนพรัตน์ แท่นมาก คุณรัตนา โพชะเรือง คุณจบ ห่อทอง และคุณเชาว์ สุวรรณรัตน์

ท้ายที่สุดนี้ที่สำคัญอย่างยิ่ง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา รวมทั้งพี่สาวของข้าพเจ้า ที่ให้การสนับสนุนด้านทุนการศึกษา และคอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าตลอดมา ทำให้ข้าพเจ้าได้ประสบความสำเร็จในการศึกษาครั้งนี้

สร้อยแก้ว เอียงอุบล

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(9)
รายการตาราง	(14)
รายการตารางภาคผนวก	(17)
รายการภาพ	(18)
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
2 ตรวจเอกสาร	
2.1 ปลากะพงขาว	5
2.2 ความต้องการสารอาหารของปลากะพงขาว	6
2.3 คาร์โบไฮเดรตและแหล่งของวัตถุดิบในอาหารปลา	8
2.4 หน้าที่ของคาร์โบไฮเดรต	11
2.5 การย่อยคาร์โบไฮเดรต	12
2.6 การใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลา	13
2.7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในอาหาร	16
2.8 กระบวนการเมแทบอลิซึมของการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลา	18
2.9 วัตถุประสงค์	23
3 การทดลองที่ 1 การศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร และ กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว	
3.1 บทคัดย่อ	24
3.2 บทนำ	25
3.3 วัตถุประสงค์	26
3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	26
3.4.1 การวางแผนการทดลอง	26
3.4.2 การเตรียมปลาสำหรับการทดลอง	26
3.4.3 การเตรียมอาหาร	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโต และการใช้อาหาร	30
3.4.5 การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรต และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรต	32
3.4.5.1 ระดับของกลูโคสในเลือด	32
3.4.5.2 ดัชนีไขมันในตัว ดัชนีตับ และการสะสมไกลโคเจนในตับ	32
3.4.5.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลางในปลากะพงขาว	33
3.4.6 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในตู้ทดลอง (*In vivo*)	34
3.4.7 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate digestibility)	34
3.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	36
3.5 ผลการทดลอง	37
3.5.1 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง	37
3.5.2 อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย	37
3.5.3 ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	41
3.5.4 ผลของระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในตัว (Intraperitoneal fat ratio: IPF) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI) และการสะสมไกลโคเจนในตับ (liver glycogen) หลังปลาได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง	43
3.5.5 กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase EC 2.7.1.40) กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase EC 3.1.3.9) และกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase EC 1.1.1.49) หลังปลากะพงขาวได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง	44

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.6 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด	46
3.5.7 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว	48
3.5.8 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา	52
3.5.9 ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน	54
3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง	56
3.7 สรุปผลการศึกษา	66
4 การทดลองที่ 2 ระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสำรองโปรตีน ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* digestibility) และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นกลางในการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว	
4.1 บทคัดย่อ	67
4.2 บทนำ	68
4.3 วัตถุประสงค์	70
4.4 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	70
4.4.1 การวางแผนการทดลอง	70
4.4.2 การเตรียมปลาสำหรับการทดลอง	70
4.4.3 การเตรียมอาหารทดลอง	71
4.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโต และการให้อาหาร	74
4.4.5 เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรต และกิจกรรมของเอนไซม์เกี่ยวกับการใช้คาร์โบไฮเดรต	74
4.4.5.1 ระดับของกลูโคสในเลือด	74
4.4.5.2 ดัชนีไขมันในตัว ดัชนีตับ การสะสมไกลโคเจนในตับ	74

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4.5.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลางในปลากะพงขาว	74
4.4.5.4 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน (pepsin) ทริปซิน (trypsin) และอะไมเลส (α-amylase)	74
4.4.6 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate digestibility)	75
4.4.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	75
4.5 ผลการทดลอง	76
4.5.1 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง	76
4.5.2 อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย	76
4.5.3 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	80
4.5.4 ผลของอาหารทดลองต่อระดับน้ำตาลในเลือด ดัชนีไขมันในช่องท้อง ดัชนีตับ และการสะสมไกลโคเจนในตับ	81
4.5.5 กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase: EC 2.7.1.40) กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: EC 3.1.3.9) และกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: EC 1.1.1.49) หลังปลากะพงขาวได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง	84
4.5.6 ผลของกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และอะไมเลส	86
4.5.7 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง	87
4.5.8 ผลของการเพิ่มระดับแป้งสาลีและลดระดับโปรตีนในอาหาร ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน	91
4.5.9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง	93
4.6 วิจารณ์ผลการทดลอง	98
4.7 สรุปผลการทดลอง	108
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	109

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	111
ภาคผนวก	122
ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate analysis) ของ อาหารและองค์ประกอบทางเคมีของปลา	123
ข วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในเมแทบอลิซึมขั้นกลาง (Intermediary enzyme)	134
ค วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และอะไมเลส	144
ง วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง ด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว	155
จ ชนิดและรายละเอียดของคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในการทดลอง	166
ฉ ราคาวัตถุดิบอาหารปลากะพงขาว	167
ช น้ำหนักเฉลี่ยปลากะพงขาว การทดลองที่1 และการทดลองที่ 2 และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate) การทดลองที่ 1	168
ประวัติผู้เขียน	172

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยเอนไซม์จากแหล่งต่างๆ	13
2	องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร การทดลองที่ 1	28
3	องค์ประกอบของอาหาร (กรัม/ 100 กรัม) การทดลองที่ 1	29
4	น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	40
5	น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	42
6	ผลของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในช่องท้อง (Intraperitoneal fat ratio: IPF , %) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI, %) และการสะสมไกลโคเจนในตับ หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง	45
7	ผลของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate kinase; EC 2.7.1.40) กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: G6Pase; EC 3.1.3.9) และกลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: G6PDH; EC 1.1.1.49) หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง	46
8	ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง (ADMD) โปรตีน (APD) และไขมัน (ALD) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด	47
9	องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ฐานน้ำหนักสด)	53

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein Retention Efficiency: PRE, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid Retention Efficiency: LRE, %) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (Energy Retention Efficiency: ERE, %) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิดเป็นเวลา 8 สัปดาห์	55
11	องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร การทดลองที่ 2	71
12	องค์ประกอบของอาหารทดลอง (กรัม/ 100 กรัม) การทดลองที่ 2	73
13	น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	79
14	น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	82
15	ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในช่องท้อง (Intraperitoneal fat ratio: IPF , %) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI, %) และการสะสมไกลโคเจนในตับ หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง	83
16	ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate kinase; EC 2.7.1.40) กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: G6Pase; EC 3.1.3.9) และกลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: G6PDH; EC 1.1.1.49) หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง	85

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อกิจกรรมเอนไซม์เปบซิน ทริปซิน และอะไมเลส หลังปลากินอาหาร 24 ชั่วโมง	89
18	องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ฐานน้ำหนักสด)	90
19	ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein Retention Efficiency: PRE, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid Retention Efficiency: LRE, %) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (Energy Retention Efficiency: ERE, %) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นเวลา 8 สัปดาห์	92
20	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* Protein Digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ด้วยเอนไซม์สกัดจากใส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	95
21	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* Carbohydrate Digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตระดับต่างๆ และแป้งในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ด้วยเอนไซม์สกัดจากใส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	96
22	การลดต้นทุนในการผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว ขนาดปลาเริ่มต้นประมาณ 5 กรัม โดยเลือกใช้แป้งสาลี (wheat flour) เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต	97

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
จ.1	ชนิด รายละเอียด และราคาของวัตถุดิบคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในในการทดลองบทที่3 และบทที่4	166
ฉ.1	ราคาวัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการทดลอง สำหรับคำนวณราคาอาหารทดลองบทที่ 4	167
ช.1	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ที่ชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	168
ช.2	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ที่ชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	169
ช.3	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* protein digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	170
ช.4	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	171

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7ชนิด ทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	38
2	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด โดย A คือ เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง และ B คือ เอนไซม์สกัดจากลำไส้ ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	50
3	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด โดย A คือ เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง และ B คือ เอนไซม์สกัดจากลำไส้ ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง	51
4	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	77

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย (ธวัช และคณะ, 2543; วัลลภ และวิรงรอง, 2548) และนิยมเลี้ยงกันมากในประเทศ ฮ่องกง อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ สิงคโปร์ ไต้หวัน และออสเตรเลีย ในประเทศไทยมีการเลี้ยงกันมานานประมาณ 20 ปีหลังจากการผสมเทียมและการอนุบาลสำเร็จเป็นครั้งแรกในประเทศไทย โดยสวัสดิ์ วงศ์สมนึก และสุจินต์ มณีวงศ์ ในปี 2516 (มะลิ และคณะ, 2539) ปลากะพงขาวเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่สามารถอยู่ได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม เป็นปลาที่ผู้บริโภคให้ความนิยมกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจาก เป็นปลาที่มีเนื้อขาว และมีรสชาติที่ดี และมีราคาสูง (มะลิ และคณะ, 2539; วัลลภ และวิรงรอง, 2548)

ในปี พ.ศ. 2552 ผลผลิตจากการเลี้ยงปลากะพงขาวสูงถึง 14,818 ตัน คิดเป็น 83.18% ของผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชายฝั่งทั้งหมด (กรมประมง, 2552ก) และมีมูลค่าของผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว 1,700 ล้านบาท แบ่งเป็นประเภทการเลี้ยงในบ่อ 156.7 ล้านบาท และการเลี้ยงในกระชัง 1,503.4 ล้านบาท ซึ่งจังหวัดที่มีการเลี้ยงกันมาก คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา สงขลา ปัตตานี สมุทรปราการ และสตูล (กรมประมง, 2552ข) โดยการเลี้ยงในกระชังนั้น จะเลี้ยงบริเวณปากแม่น้ำลำคลองที่ติดต่อกับทะเล หรือบริเวณอ่าวทะเลสาบ เช่น มีการเลี้ยงอย่างหนาแน่นบริเวณทะเลสาบสงขลา (Boonyaratpalin, 1989 อ้างโดย สุภาพร, 2549)

การเลี้ยงปลากะพงขาวมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว เกษตรกรนิยมใช้ปลาเป็ดและปลาสดเป็นอาหารโดยเฉพาะกลุ่มเกษตรกรผู้อนุบาลลูกปลากะพงขาวในกระชังบริเวณทะเลสาบ ปากแม่น้ำลำคลองในจังหวัดชายแดนภาคใต้ เช่น จังหวัดสงขลา นราธิวาส ปัตตานี และสตูล เนื่องจาก ทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดตายสูง แต่ในช่วงฤดูมรสุมเรือประมงไม่สามารถออกทำการประมงได้ เกษตรกรจึงประสบปัญหาการขาดแคลนปลาสดและมีราคาสูงมาก ซึ่งอาหารดังกล่าวมีคุณค่าทางโภชนาการที่ไม่สมดุล คุณภาพและปริมาณไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับฤดูกาล ส่งผลให้ปลาที่เลี้ยงอ่อนแอ เป็นโรคง่าย อัตราการตายสูง อีกทั้งยังมีผลทำให้แหล่งน้ำเสื่อมโทรมและน้ำเน่าเสีย จนอาจส่งผลย้อนกลับทำให้การเพาะเลี้ยงประสบปัญหาเพิ่มขึ้น เป็นเหตุผลให้ต้องพัฒนารูปแบบของอาหารจากอาหารสดเป็นอาหารสำเร็จรูป โดย ธวัช (2538) พบว่า การใช้อาหารสำเร็จรูปทำให้ปลากะพงขาวโตเร็วกว่าการใช้ปลาเป็ดประมาณเท่าตัว มีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่า คือ 1.0-2.0 และมีอัตราการรอดตาย 90-100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการใช้อาหารสำเร็จรูปจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการพัฒนาการเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจให้ประสบความสำเร็จได้ในเชิงธุรกิจ เนื่องจากมีองค์ประกอบเป็นวัตถุดิบแห้งหลาย

ชนิด จึงทำให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกต่อการนำไปใช้ได้ทันที สามารถเก็บรักษาได้นาน มีคุณภาพทางโภชนาการครบถ้วนและคุณภาพคงที่ (จูอะดี และคณะ 2545)

การขยายตัวทางด้านการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวเพื่อการส่งออก และการบริโภคภายในประเทศที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี เนื่องจากปริมาณสัตว์น้ำที่จับได้จากธรรมชาติลดลง ทำให้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำขยายตัวมากขึ้นโดยต้นทุนหลักประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้นทุนค่าอาหารสัตว์น้ำ เมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารประเภทอื่นๆ โปรตีนเป็นสารอาหารหลักที่มีความจำเป็นและมีราคาแพง ซึ่งโปรตีนจากสัตว์ที่นิยมนำมาเป็นองค์ประกอบหลักของอาหารสัตว์น้ำคือปลาป่น โดยทั่วไปในการผลิตอาหารปลาจะมีปริมาณปลาป่นประมาณ 20-60 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี เพราะปลาป่นถือว่าเป็นโปรตีนในอุดมคติ (ideal protein) มีความสมดุลของกรดแอมิโน ประสิทธิภาพการย่อยได้สูง มีความน่ากิน นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็น (n-3 polyenoic) ที่สำคัญ (Chong *et al*., 2003; Khan *et al*., 2003; Choi *et al*., 2004; Lim *et al*., 2004; Rondán *et al*., 2004; Catacutan and Pagador, 2004; Muzinic *et al*., 2006) แต่ในปัจจุบันเริ่มประสบปัญหาการใช้ปลาป่นทั้งเรื่องของปริมาณปลาป่นและคุณภาพของปลาป่น ปริมาณปลาสดที่จะนำมาผลิตเป็นปลาป่นมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสวนทางกับการเติบโตของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำที่ต้องการปลาป่นเพิ่มมากขึ้นจึงส่งผลให้ประสบปัญหาเรื่องคุณภาพของปลาป่นที่มีคุณภาพโปรตีนไม่แน่นอน โดยเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของปลา กระบวนการผลิต กรรมวิธีการผลิตและฤดูกาล ทำให้มีการปลอมปนด้วยวัตถุดิบที่มีคุณภาพโปรตีนต่ำ เช่น ขนไก่ป่น เลือดป่น ซึ่งส่งผลให้คุณภาพปลาป่นไม่คงที่ (สุภาพร, 2549) นอกจากนี้ การใช้ปลาป่นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ถือว่าเป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่สิ้นเปลือง (wasteful) และไม่ถูกต้องตามศีลธรรม (Muzinic *et al*., 2006) และราคาที่สูงขึ้นของปลาป่นรวมทั้งปริมาณปลาที่จะนำมาใช้ผลิตปลาป่นมีแนวโน้มลดลง จึงอยู่ในความสนใจของการใช้ทรัพยากรธรรมชาติในอนาคตที่มีความสำคัญและเร่งด่วน เพื่อที่จะลดหรือจำกัดการใช้ปลาป่นลงในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า โปรตีนเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญ ที่ใช้เพื่อการเจริญเติบโตและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ เป็นส่วนประกอบหลักในอาหารและถือเป็นต้นทุนหลักในการสร้างสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำ (Mohapatra *et al*., 2003; Stone, 2003; Fu, 2005; Borba *et al*., 2006; Kumar *et al*., 2006a; Tan *et al*., 2007) ดังนั้นโปรตีนในอาหารควรนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในตัวมากกว่านำไปใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน (Shiau, 1997; Mohapatra *et al*., 2003) และโปรตีนในอาหารที่มากเกินความต้องการที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต จะมีส่วนของกรดแอมิโนที่มากเกินพอ ร่างกายปลาจะนำกรดแอมิโนส่วนนั้นเข้าสู่กระบวนการสลาย เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานมากกว่าการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตซึ่งจะส่งผลให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไม่คุ้มค่า และยังส่งผลเสียต่อปลา (Phillips, 1972; Stone *et al*., 2003; Fu, 2005) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าพลังงานที่ได้มาจากโปรตีนที่มากเกินระดับที่เหมาะสมกับความต้องการของปลาจะนำไปสู่การสะสม

เป็นไขมันในตัวปลาและลดอัตราการกินอาหาร (Jauncey, 1982; NRC, 1993 อ้างโดย Wang *et al*., 2005) ขณะที่ระดับพลังงานในอาหารที่ไม่เพียงพอจะส่งผลให้โปรตีนจะถูกนำมาเป็นแหล่งพลังงาน (Cowey and Sargen, 1979 อ้างโดย Wang *et al*., 2005) เป็นผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของกรดแอมิโนที่เสียสภาพและนำไปสู่การปลดปล่อยของเสียไนโตรเจนลงสู่สิ่งแวดล้อม (Cho and Kaushik, 1985 อ้างโดย Wang *et al*., 2005; Fernández *et al*., 2007) ทำให้เกิดปรากฏการณ์ ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) (Pillay, 1992; Pearson and Black, 2001; Davenport *et al*., 2003 อ้างโดย Fernández *et al*., 2007)

สัตว์น้ำจะใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อได้รับแหล่งพลังงานจากส่วนประกอบของพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein energy) คือ ไขมันหรือคาร์โบไฮเดรต (El-sayed and Garling, 1988; Chou and Shiau, 1996; Nankervis *et al*., 2000; Watanabe *et al*., 2001 อ้างโดย Borba *et al*., 2006) โดยการใช้แหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับและสัดส่วนที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้สูงสุด หรือ การสำรองโปรตีน (protein-sparing effect) (Tan *et al*., 2007; Stone *et al*., 2003) ไม่เพียงทำให้ต้นทุนอาหารลดลงเท่านั้น แต่ยังมีผลต่อการลดของเสียไนโตรเจนที่ปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการผลิตสัตว์น้ำที่มีคุณภาพและมาตรฐานการผลิตของฟาร์มที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Kaushik and Médale, 1994; Borba *et al*., 2006) โดย Wilson (1994) พบว่า แหล่งพลังงานที่มาจากไขมันจะเป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับปลากินเนื้อในเขตอบอุ่น เพราะกลุ่มปลากินเนื้อสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ต่ำ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับคาร์โบไฮเดรตแล้วไขมันถือว่าเป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาแพง (Stone *et al*., 2003; Kumar *et al*., 2006a) นอกจากนี้ไขมันในระดับที่สูงเกินไปจะมีผลต่อคุณภาพของเม็ดอาหาร (Jauncey, 1982) และมีผลต่อคุณภาพของปลา (Martino *et al.,* 2005) โดยมีผลให้องค์ประกอบของไขมันในตัวและเครื่องในเพิ่มสูงขึ้น (Helland and Grisdale-Helland, 1998; Company *et al*., 1999; Cyrino *et al*., 1999; Portz *et al*., 2001 อ้างโดย Martino *et al*., 2005; Tan *et al*., 2007)

ดังนั้น คาร์โบไฮเดรตจึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจาก คาร์โบไฮเดรตเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีราคาถูก และสามารถหาได้ง่าย และถ้ามีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารปลามีผลทำให้ต้นทุนอาหารต่ำลงได้ (Fynn-Aikins *et al*., 1992; Wilson, 1994) ซึ่งการจัดเตรียมอาหารที่มีแหล่งพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตในระดับที่เพียงพอและเหมาะสม ทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้อย่างสูงสุด โดยเป็นการลดกระบวนการสลายโปรตีนเพื่อเป็นแหล่งพลังงานหรือการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ (Wu *et al*., 2007a) ปลาจึงนำโปรตีนไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของโปรตีน (protein retention) และพลังงาน (energy retention) ภายในตัวปลา อย่างไรก็ตามปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสัตว์บก (Wilson, 1994) และความสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาแต่ละชนิดก็มีความแตกต่างกัน (NRC, 1993; Lee *et al*., 2003) โดยมี

ความสัมพันธ์กับระบบทางเดินอาหารและเมแทบอลิซึมที่ปรับเปลี่ยนไปเพื่อให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน (Walton and Cowey, 1982; Lee *et al*., 2003)

การใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตยังขึ้นกับ ชนิด ระดับ ความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุลและความสุกดิบของคาร์โบไฮเดรตในอาหารของปลา (Bergot, 1979; Hutchins *et al*., 1998; Lee *et al*., 2003) โดยทั่วไปแล้ว กลุ่มปลากินพืช (herbivorous) และกลุ่มปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ (omnivorous) และปลาในเขตอบอุ่น สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้ในระดับสูงถึง 30-40% ในอาหาร ขณะที่กลุ่มปลากินเนื้อ (carnivorous) และปลาในเขตหนาว เช่น ปลาในกลุ่ม salmonids หรือปลาทะเล สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ เช่น เด็กซ์ตริน หรือ แป้งสุก ไม่เกิน 20% ในอาหาร (Furuichi, 1988; Wilson, 1994 อ้างโดย Mokoginta *et al*., 2004) จึงนำมาซึ่งงานวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาชนิดและระดับของคาร์โบไฮเดรตที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในอาหารสำหรับปลากะพงขาว เพื่อนำมาอธิบายกลไกการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว เป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาถูก ลดการใช้โปรตีนและไขมันซึ่งเป็นวัตถุดิบอาหารราคาแพง อันก่อให้เกิดการใช้ทรัพยากรธรรมชาติให้เกิดความคุ้มค่า เป็นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับการผลิตปลากะพงขาวของเกษตรกรต่อไป

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Lates calcarifer* (Bloch) ชื่อสามัญ ปลากะพงขาว ปลากะพงน้ำจืด และมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ คือ Asian seabass, giant seaperch, seabass (นันทิยา และคณะ, 2531)

ปลากะพงขาวมีรูปร่างลำตัวหนาและด้านข้างแบน หัวโต จะงอยปากค่อนข้างยาวและแหลม นัยน์ตาโต ปากกว้างยืดหดได้ มุมปากอยู่เลยไปทางหลังนัยน์ตา ฟันเป็นฟันเขี้ยวอยู่บนขากรรไกรบนและล่าง ขอบกระดูกแก้มเป็นหนามแหลม ขอบกระดูกกระพุ้งเหงือกแข็งและคม คอดหางมีขนาดใหญ่และแข็งแรง เกล็ดใหญ่มีขอบหยักเป็นหนามเมื่อลูบจะสากมือ (ctenoid) ครีบหลังอันแรกมีก้านครีบเป็นหนามแข็ง ปลายแหลม อันที่สองเป็นครีบอ่อนมีขนาดใกล้เคียงกัน ครีบใหญ่ปลายกลมมน พื้นลำตัวสีขาวเงินปนน้ำตาล แนวสันท้องสีขาวเงิน มีขนาดความยาวประมาณ 20-40 เซนติเมตร พบใหญ่สุดถึง 2 เมตร หนักได้ถึง 60 กิโลกรัม โดยปลาที่พบในทะเลจะมีขนาดใหญ่กว่าปลาที่พบในน้ำจืด

ปลากะพงขาวมีการอพยพไปมาระหว่างทะเลกับน้ำจืด โดยพ่อแม่ปลาจะว่ายจากชายฝั่งเข้ามาวางไข่ในป่าชายเลนหรือปากแม่น้ำ จนกระทั่งลูกปลาฟักและเติบโตแข็งแรงดีแล้ว จึงจะว่ายกลับสู่ทะเล บางครั้งพบอยู่ไกลจากทะเลนับเป็นร้อยๆ กิโลเมตร เช่นที่ แม่น้ำโขง เป็นปลากินเนื้ออาหารได้แก่ สัตว์น้ำ ปลา กุ้ง ที่มีขนาดเล็กกว่า

ปลากะพงขาวเป็นปลาเศรษฐกิจ กรมประมงส่งเสริมให้เลี้ยง เกษตรกรนิยมผลิตลูกปลาชนิดนี้ส่งไปจำหน่ายยังประเทศมาเลเซียและไต้หวัน เนื้อมีรสชาติดี นำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท เช่น แปะซะ นึ่งบ๊วย เป็นต้น และนิยมตกเป็นเกมกีฬา อีกทั้งยังเลี้ยงเป็นปลาสวยงามได้อีกด้วย

ในปัจจุบัน การเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นอาชีพที่เกษตรกรให้ความสนใจโดยนิยมเลี้ยงใน 2 รูปแบบ คือ

1) การเลี้ยงในบ่อ เป็นการเลี้ยงในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ทั้งบริเวณน้ำเค็ม น้ำกร่อยและน้ำจืด

2) การเลี้ยงในกระชัง บริเวณที่เลี้ยง คือ ปากแม่น้ำหรือลำคลองที่มีเขตติดต่อกับทะเลอ่าว ทะเลสาบ หรือพื้นที่ที่มีคลื่นลมน้อย เป็นการเลี้ยงในน้ำกร่อยและน้ำเค็ม โดยแบ่งเป็น

2.1) การเลี้ยงในกระชังชนิดอยู่กับที่ มักจะเลี้ยงในที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำขึ้น-น้ำลงน้อย โดยกระชังจะมีขนาด 5×5×2.5 เมตร และ 3×3×2.5 เมตร

2.2) การเลี้ยงในกระชังชนิดลอย มักจะเลี้ยงในที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำขึ้น-น้ำลงมาก โดยกระชังจะมีขนาด 5×5×2.5 เมตร และ 3×3×2.5 เมตร

2.2 ความต้องการสารอาหารของปลากะพงขาว

2.2.1 โปรตีน (Protein)

โปรตีนเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการมีชีวิตและการเจริญเติบโต และเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ ฮอร์โมน สารภูมิคุ้มกันโรคและฮีโมโกลบิน โดยปลาวัยอ่อนต้องการโปรตีนในระดับที่สูง และความต้องการโปรตีนจะลดลงเมื่อปลาโตขึ้น เพราะปลาขนาดใหญ่ขึ้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตช้าลง เนื่องมาจากอัตราการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายต่ำกว่าปลาขนาดเล็ก ความต้องการโปรตีนยังขึ้นอยู่กับคุณภาพโปรตีน โดยปลาจะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับโปรตีนที่มีคุณภาพดี หรือมีกรดแอมิโนครบถ้วนทั้งปริมาณและคุณภาพ อุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนในน้ำ โดยปลามีแนวโน้มที่ต้องการโปรตีนมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและต้องมีออกซิเจนในน้ำ เพื่อเร่งการเผาผลาญอาหาร ขณะเดียวกันอาหารที่มีโปรตีนมากเกินไป จะทำให้สัตว์น้ำไม่เจริญเติบโต เนื่องจากต้องสูญเสียพลังงานเพิ่มมากขึ้นในกระบวนการสลายโปรตีนส่วนเกิน ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลา คือ ปริมาณโปรตีนที่น้อยที่สุดที่ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (เวียง, 2542) ส่วนระดับพลังงานในอาหาร พบว่า อาหารที่มีระดับพลังงานในอาหารมากจะทำให้ปลากินอาหารลดลง อาหารจึงควรมีระดับพลังงานและโปรตีนที่เหมาะสม จะทำให้ปลาเจริญเติบโตเร็วที่สุด (วีรพงศ์, 2536) โดย Cuzon (1988) และ Sakaras และคณะ (1988, 1989) อ้างโดย Glencross (2006) รายงานว่า ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในปลากะพงขาวขนาดเล็ก คือ 45-50 เปอร์เซ็นต์ และ Catacutan และ Coloso (1995) รายงานว่า ระดับโปรตีนและไขมันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาน้ำหนักเริ่มต้น 1.34 กรัม คือ 42.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการศึกษาของชุติมา และคณะ (2555) รายงานว่า ระดับโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาน้ำหนักเริ่มต้น 5.84 กรัม คือ 45 เปอร์เซ็นต์

2.2.2 ไขมัน (Lipid)

ไขมันมีหน้าที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อ (biomembrane) เพราะไขมันทุกชนิดมีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูง และยังเป็นแหล่งพลังงานของร่างกาย อนุพันธ์ของไขมันมีบทบาทต่อระบบสรีระวิทยาของร่างกายอย่างมาก เช่น ช่วยในการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน เป็นองค์ประกอบของฮอร์โมนบางชนิด เช่น พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) สเตอรอยด์ (steroid) รวมทั้งเป็นองค์ประกอบของคอเลสเตอรอลและกรดน้ำดี Sakaras และคณะ (1988) อ้างโดย Glencross (2006) รายงานว่า ที่ระดับโปรตีน 45-50 เปอร์เซ็นต์ ปลากะพงขาวจะมีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อได้รับอาหารที่มีไขมันในระดับ 15-18 เปอร์เซ็นต์ Tucker และคณะ (1988) อ้างโดย Glencross (2006) รายงานว่า ระดับไขมัน 9-13 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้ปลา

มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และไขมันในระดับสูงยังทำให้อัตราการแลกเนื้อต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Catacutan และ Coloso (1995) รายงานว่า ไขมันในระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนในระดับ 42.5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีที่สุด Catacutan และ Coloso (1998) รายงานว่า ปลากะพงขาวมีการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อได้รับอาหารที่มีไขมันในระดับ 6-18 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรตในระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ปลากะพงขาวมีความต้องการกรดไขมัน n-3 HUFA ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ (Wanakwat *et al*., 1993 อ้างโดย Boonyaratpalin and Williams, 2002) มีความต้องการกรดไขมัน ω-3:ω-6 ในอัตราส่วน 1.5-1.7:1 และมีความต้องการกรดไขมัน Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) ประมาณ 1.8 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (Boonyaratpalin and Williams, 2002)

2.2.3 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

โดยทั่วไปอาหารสำหรับปลากะพงขาวในธรรมชาติจะมีโปรตีนสูง จึงสันนิษฐานว่าปลากะพงขาวใช้คาร์โบไฮเดรตได้ไม่ดี จากการศึกษาพบว่าปลาสามารถสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตจากสารอาหารประเภทไขมันและโปรตีนอย่างไรก็ตามสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารปลา แทนแหล่งพลังงานจากไขมัน เนื่องจากมีราคาที่ถูกกว่า และมีรายงานการใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อลดปริมาณโปรตีนในสูตรอาหาร (Protein sparing effect) โดย Catacutan และ Coloso (1998) รายงานว่าคาร์โบไฮเดรตระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ และไขมันระดับ 6-18 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว

2.2.4 วิตามิน (Vitamins)

วิตามินเป็นสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งร่างกายต้องการเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย การสืบพันธุ์ และมีผลต่อสุขภาพของสัตว์น้ำทุกชนิด อย่างไรก็ตามมีวิตามินบางชนิดเท่านั้นที่มีความจำเป็นต้องเสริมในอาหารสำหรับปลากะพงขาว วิตามินบางชนิดร่างกายปลากะพงขาวสามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย หรืออาจมีเพียงพออยู่แล้วในอาหาร ความต้องการวิตามินจะขึ้นอยู่กับ ขนาด ความสมบูรณ์ทางเพศ อัตราการเจริญเติบโต การปรับตัวตามสภาพแวดล้อม และความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารที่มีอยู่ในอาหาร ความต้องการวิตามินจะลดลงเมื่อปลาโตขึ้น Boonyaratpalin (1991) อ้างโดย Glencross (2006) รายงานว่า การศึกษาวิตามินในแง่ของความต้องการอาหารของปลากะพงขาว มีอยู่ 2 ชนิด คือ ไพริดอกซิน (pyridoxine) และกรดแพนโททีนิก (pantothenic acid) ปริมาณความต้องการ คือ 700 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม นอกจากนี้วิตามินที่มีความสำคัญ ได้แก่ ไธอะมีน (thiamine, B1) ไรโบฟลาวิน (riboflavin, B2) อินโนซิทอล (inositol) โทโคฟีรอล (tocopherol) และวิตามินซี

2.2.5 แร่ธาตุ (Mineral)

แร่ธาตุเป็นสารอนินทรีย์ที่ร่างกายต้องการเพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโต การดำรงชีพหรือกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายให้ปกติ แต่ส่วนใหญ่ปลากะพงขาวจะได้รับแร่ธาตุในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการอยู่แล้วจากอาหารที่ปลากินและในสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ ปริมาณความต้องการแร่ธาตุนั้นไม่ค่อยมีการศึกษา เพราะการควบคุมความเข้มข้นของแร่ธาตุในอาหารทดลองทำได้ยาก แร่ธาตุที่มีการศึกษา คือ โมโนโซเดียมฟอสเฟต (monosodium phosphate) ปริมาณที่ต้องการ คือ 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และฟอสฟอรัส (phosphorus) ปริมาณที่ต้องการ คือ 0.55-0.65 เปอร์เซ็นต์ (มะลิ และ จูอะดี, 2533)

2.3 คาร์โบไฮเดรตและแหล่งของวัตถุดิบในอาหารปลา

คาร์โบไฮเดรต เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและเป็นชีวโมเลกุลที่มีปริมาณมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืช มีมากถึง 70% ของวัตถุแห้งในต้นพืช และอาจถึง 85% ในเมล็ดธัญพืช ตัวอย่างของสารจำพวกนี้ได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส (cellulose) และยางไม้ (gums) พืชสามารถสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตได้เองจากคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำ (H_2O) โดยอาศัยพลังงาน (energy) จากแสงอาทิตย์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ซึ่งมีปฏิกิริยาโดยสรุปคือ

$$6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy from the sun} \xrightarrow{\text{photosynthesis}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

จะเห็นได้ว่า จากปฏิกิริยาดังกล่าว เกิดคาร์โบไฮเดรตและออกซิเจนซึ่งจำเป็นต่อการหายใจของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญที่ทำให้ชีวิตดำรงอยู่ได้ (บุญล้อม, 2541)

2.3.1 ประเภทของคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตสามารถแบ่งตามลักษณะทางเคมี ได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.3.1.1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว หรือน้ำตาลชั้นเดียว (Monosaccharide) เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กที่สุด มีโครงสร้างพื้นฐานที่ประกอบด้วยสายคาร์บอนที่มีการเรียงตัวออกซิเจนและไฮโดรเจนที่แตกต่างกัน ซึ่งมีจำนวนคาร์บอนระหว่าง 3-7 ตัว ในจำนวนทั้งหมดพบว่ากลุ่มที่มีคาร์บอน 6 อะตอม คือ เฮกโซส (hexose) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดในธรรมชาติโดยเฉพาะกลูโคส และโมโนแซคคาไรด์ที่พบเป็นโมเลกุลเดี่ยวนั้นจะพบในพืชเท่านั้น ยกเว้นกลูโคสที่พบอยู่ในสัตว์ ชนิดของโมโนแซคคาไรด์ที่มีความสำคัญ ได้แก่

1. กลูโคส (glucose) อาจเรียกว่า dextrose หรือน้ำตาลองุ่น (grape sugar) มีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลผลไม้ (fructose) และน้ำตาลอ้อย (sucrose) มักพบในเลือด เพราะเป็น

น้ำตาลที่ไม่ต้องผ่านกระบวนการย่อยและดูดซึมจึงเข้าสู่เส้นเลือดและสามารถนำไปใช้เป็นพลังงานได้ทันที เป็นน้ำตาลที่มีมากที่สุดในเลือด กลูโคสเป็นโมเลกุลพื้นฐานที่สำคัญที่สุดทางโภชนาการ เพราะเป็นส่วนประกอบของน้ำตาลสองชั้นที่สำคัญแทบทุกชนิด

2. ฟรุกโตส (fructose) หรือน้ำตาลผลไม้ (fruit sugar) พบในผลไม้ มีมากในน้ำผึ้ง เป็นน้ำตาลชั้นเดียวที่ไม่ตกผลึก (น้ำตาลชั้นเดียวโดยทั่วไปตกผลึกได้ง่าย) มีรสหวานมาก มักอยู่รวมกับกลูโคสได้เป็นน้ำตาล disaccharide ที่มีชื่อว่า sucrose ซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำตาลอ้อย

3. กาแลคโตส (galactose) มีโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายคลึงกับกลูโคส ผิดกันเฉพาะทิศทางของกลุ่ม OH ที่ C ตำแหน่งที่ 4 ดังนั้นจึงเรียกว่าเป็น epimer กับน้ำตาลกลูโคส กาแลคโตสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญกับน้ำตาลแลคโตสในนม และมักรวมตัวกับไขมันเป็นส่วนประกอบของเซลล์ประสาท

4. แมนโนส (mannose) เป็นน้ำตาล aldohexose ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับกลูโคส ผิดกันเฉพาะทิศทางของกลุ่ม OH ที่ C ตำแหน่งที่ 2 ดังนั้น จึงเรียกว่าเป็น epimer กับกลูโคส แมนโนสเป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตหรืออาจจับกับโปรตีนก็ได้

5. ไรโบส (ribose) หรือ (deoxyribose) เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) คือ ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้น้ำตาลไรโบสยังเป็นองค์ประกอบของวิตามินบี 2 ซึ่งมีชื่อว่า riboflavin และเป็นองค์ประกอบของสารพลังงานสูง เช่น ATP (adenosine triphosphate) ซึ่งมีบทบาทอย่างมากเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมในร่างกาย น้ำตาล pentose บางตัว เช่น ไซโลส (xylose) อาจเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน เป็นต้น

2.3.1.2 ไดแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ (disaccharide and oligosaccharide) ไดแซคคาไรด์เป็นโมโนแซคคาไรด์ 2 ตัวมาต่อกัน สำหรับโอลิโกแซคคาไรด์มีมากกว่า 2 ตัว แต่ไม่เกิน 15 ตัว ในธรรมชาติพบไดแซคคาไรด์มากที่สุด เป็นน้ำตาลที่มีรสหวานและละลายน้ำได้ ตกผลึกได้ง่าย น้ำตาลไดแซคคาไรด์ที่พบมาก ได้แก่

1. มอลโตส (maltose) ประกอบด้วย glucose จับกับ glucose ด้วยพันธะ (bond) แบบ α-1,4 เป็นน้ำตาลที่เกิดจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ไม่ค่อยพบเป็นอิสระในธรรมชาติ

2. ซูโครส (sucrose) ประกอบด้วย glucose จับกับ fructose ด้วยพันธะ α-1,2 น้ำตาลซูโครสพบได้มากในธรรมชาติ มีในอ้อยและหัวบีทที่ใช้ทำน้ำตาล (sugar beet) เป็นต้น เป็นน้ำตาลที่ใช้รับประทานอยู่ทั่วไป

3. แลกโตส (lactose) ประกอบด้วย glucose จับกับ galactose ด้วยพันธะ β-1,4 พบในน้ำนม

4. เซลโลไบโอส (cellobiose) ประกอบด้วย glucose จับกับ glucose ด้วยพันธะแบบ β-1,4 เป็นองค์ประกอบของเซลลูโลส

2.3.1.3 โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เป็นโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์จำนวนมาก ตั้งแต่ 10-1,000 โมเลกุล เชื่อมกันด้วย glycosidic linkage ซึ่งโพลีแซคคาไรด์ที่พบในธรรมชาติ เช่น แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส และไคติน

1. แป้ง (starch) อยู่ในเซลล์พืช โดยอยู่ในรูปของ “granule” แต่ละ granule ประกอบด้วย อะไมโลส (amylose) ประมาณ 25% และ อะไมโลเปคติน (amylopectin) ประมาณ 75% ซึ่งทั้งสองชนิดมีหน่วยย่อย คือ α-glucose

- อะไมโลส (amylose) ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 100-200 โมเลกุล จับกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะแบบ α-1, 4 glycosidic linkage มีโครงสร้างขดกันเป็นเกลียว helix structure และสามารถละลายได้ในน้ำร้อน

- อะไมโลเปคติน (amylopectin) ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 250-5,000 โมเลกุล ต่อกันเป็นเส้นตรงและเป็นแขนง ส่วนที่ต่อกันเป็นเส้นตรงเป็น α-1,4 linkage และส่วนที่เป็นแขนงเป็น α-1,6 linkage

เม็ดแป้งไม่ละลายในน้ำเย็น แต่จะมีลักษณะเป็นสารแขวนลอย (suspension) เมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการพองตัว (swelling) ในที่สุดจะแตกออก และละลายน้ำได้ ทำให้เอนไซม์ย่อยแป้ง (amylolytic enzyme) สามารถเข้าไปย่อยเม็ดแป้งได้ กระบวนการนี้เรียกว่า gelatinization มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เมื่อแป้งถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (amylase) จะได้สารที่เรียกว่า ลิมิเตด เด็กซ์ตริน (limited dextrin) เพราะเอนไซม์นี้ย่อยได้เฉพาะพันธะ α-1,4 linkage ไม่สามารถย่อยพันธะแบบ α-1,6 linkage ได้ พันธะแบบนี้ต้องถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ α-1,6 glucosidase ซึ่งจะช่วยย่อยอะไมโลเปคตินให้สมบูรณ์ กลายเป็น มอลโตสและกลูโคส ตามลำดับ

2. เด็กซ์ตริน (dextrin) เป็นผลผลิตขั้นแรกที่เกิดจากการสลายตัวของแป้งโดยความร้อน (dry heat) และละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นการสลายแป้งโดยความร้อน จะให้ผลผลิตดังนี้

แป้ง ⟶ เด็กซ์ตริน ⟶ มอลโตส ⟶ กลูโคส

3. ไกลโคเจน (glycogen) ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 5,000-25,000 โมเลกุล เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอาหารในสัตว์ และเป็นแหล่งสำคัญในเมตาบอลิซึมของพลังงาน พบมากในตับของปลา มีโครงสร้างเหมือนอะไมโลเปคติน (amylopectin) คือ ประกอบด้วยกลูโคสจำนวนมาก จับกันด้วยพันธะแบบ พันธะ α-1,4 linkage และ α-1,6 linkage แต่จะมีการแตก

แขนงมากกว่า อาจเรียกไกลโคเจนได้ว่า แป้งสัตว์ (animal starch) สามารถละลายน้ำได้ ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ phosphorylase จะได้เป็น glucose-1-phosphate ซึ่งจะถูกเมตาบอไลซ์ต่อไป

4. เซลลูโลส (cellulose) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่มีมากที่สุดในธรรมชาติ เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชที่ถือว่าเป็นเยื่อใย ทนต่อการย่อยด้วยกรดและด่าง ประกอบด้วยกลูโคสเป็นจำนวนมาก เชื่อมกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะแบบ β-1,4 linkage ประมาณ 2,000-8,000 โมเลกุล ซึ่งพันธะนี้ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของสัตว์ชั้นสูง

5. ไคติน (chitin) เป็นโครงสร้างหลักของเปลือกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่มครัสเตเซีย และยังเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อราและสาหร่ายหลายชนิด มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ N- acetyl glucosamine (amino sugar) มาต่อกันเป็นสายยาวด้วย β-1,4 linkage ซึ่งเป็นโครงสร้างที่คล้ายกับโครงสร้างของเซลลูโลส แตกต่างจากเซลลูโลสที่คาร์บอนในตำแหน่งที่ 2 ที่มีหมู่ acetamido group ($NHCOCH_3$) แทนที่หมู่ OH เนื่องจากไคตินเป็นโครงสร้างที่สำคัญของครัสเตเซีย จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในอาหารปลาและสัตว์น้ำชนิดอื่นที่กินเนื้อโดยเฉพาะในระยะวัยอ่อน และพบเอนไซม์ไคติเนสที่ย่อยสลายไคตินในปลาหลายชนิด

2.4 หน้าที่ของคาร์โบไฮเดรต

2.4.1 เป็นแหล่งของพลังงานเพื่อใช้เป็นในกระบวนการต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต ในพืชน้ำตาล กลูโคสและไรโบสให้พลังงานในการสังเคราะห์เนื้อเยื่อ ส่วนแป้งเป็นแหล่งพลังงานที่สะสมไว้ในราก หัว และเมล็ด โดยคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นแหล่งพลังงาน คือ กลูโคส

2.4.2 เป็นสารตั้งต้น (substrate) สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมัน เนื่องจากหน่วยย่อยของการสังเคราะห์กรดไขมัน คือ acetyl CoA ซึ่งได้มาจากกลูโคสในกระบวนการไกลโคไลซีส (glycolysis)

2.4.3 ช่วยสำรองคุณค่าของโปรตีน (protein sparing effect) ถ้าสัตว์ได้พลังงานจากคาร์โบไฮเดรตและไขมันที่เพียงพอ แล้วจะสำรองคุณค่าของโปนตีนไว้ใช้ในด้านอื่น เช่น การสร้างเนื้อเยื่อและการซ่อมแซมร่างกาย โดยไม่เผาผลาญโปรตีนเป็นพลังงาน

2.4.4 เป็นสารตั้งต้น (substrate) สำหรับการสังเคราะห์กรดแอมิโนที่ไม่จำเป็น เช่น อะลานีน (alanine) กรดกลูตามิค (glutamic acid) ซีรีน (serine)

2.5 การย่อยคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตในอาหารสัตว์น้ำอาจแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 3 กลุ่มคือ น้ำตาล แป้ง และกากอาหาร แป้งจะต้องถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงก่อนที่จะถูกดูดซึมได้ น้ำตาลซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดของโมเลกุลเล็กอยู่แล้วและมักพบในอาหารสัตว์น้ำในปริมาณไม่มากนัก ร่างกายสัตว์น้ำจะดูดซึมไปใช้ได้โดยไม่ถูกย่อยอีก ส่วนกากอาหารนั้นเอนไซม์ของสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ แต่ก็มีส่วนช่วยให้อาหารถูกย่อยได้มากขึ้นหากมีในอาหารไม่มากจนเกินไป

การย่อยคาร์โบไฮเดรตในสัตว์น้ำเกิดขึ้นในลำไส้เมื่ออาหารเหลว (chyme) ซึ่งเกิดจากการคลุกเคล้าระหว่างอาหารกับเมือกและเอนไซม์ในกระเพาะถูกส่งผ่านเข้าลำไส้ตอนต้น อาหารเหลวนี้กระตุ้นให้ต่อมในผนังเยื่อเมือกของลำไส้ผลิตฮอร์โมนหลายชนิดเพื่อกระตุ้นต่อให้ต่อมในตับอ่อนและลำไส้ผลิตเอนไซม์ (ตารางที่ 1) เอนไซม์จากตับอ่อนที่มีหน้าที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตในลำไส้คือเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยคาร์โบไฮเดรตจำพวกแป้งและไกลโคเจนได้เป็นโมโนแซคคาไรด์ มอลโตไตรโอส และมอลโตส โดยจะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α-1,4 glucosidic สำหรับการย่อยไดแซคคาไรด์เป็นโมโนแซคคาไรด์เกิดขึ้นที่บริเวณผิวของเยื่อเมือกลำไส้ซึ่งเป็นบริเวณที่มีเอนไซม์พวกไดแซคคาริเดส (disaccaridase) คือซูเครส (sucrase) แลกเตส (lactase) มอลเตส (maltase) และไอโซมอลเตส (isomaltase) เอนไซม์เหล่านี้ทำหน้าที่ย่อยไดแซคคาไรด์เป็นโมโนแซคคาไรด์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลูโคส ฟรุกโตส และกาแลกโตส (เวียง, 2542) นอกจากนี้ก็ยังมีเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ซึ่งก็มีหน้าที่ย่อยเซลลูโลส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วปลาส่วนมากไม่สามารถหลั่งเซลลูเลส ออกมาได้ด้วยตัวเอง เช่น ปลาเฉา ปลานิล ปลาหมอเทศ ปลาไน ปลานวลจันทร์ เป็นต้น แต่ปลาเหล่านี้ซึ่งกินพืชที่มีส่วนประกอบของเซลลูโลสสามารถย่อยเซลลูโลสได้เนื่องจากจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลาจะหลั่งเซลลูเลสออกมา จุลินทรีย์ดังกล่าวมักจะเป็นพวกที่เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจน (aerobic bacteria) หรือพวกที่เจริญได้ในที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พบในแหล่งน้ำทั่วไป เช่น *Vibrio* และ *Aeromonas* เป็นต้น (วีรพงศ์, 2536)

ตารางที่ 1 ผลการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยเอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งผลิตเอนไซม์	สิ่งกระตุ้น	ชนิดของเอนไซม์ที่ผลิต	คาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อย	ผลผลิตจากการย่อย
ตับอ่อน	ฮอร์โมนซีครีตินและแพนครีโอไซมินจากผนังเยื่อเมือกในลำไส้	อะไมเลส	แป้ง ไกลโคเจน	โอลิโกแซคคาไรด์ มอลโตไตรโอส มอลโตส
ลำไส้	ฮอร์โมนเอนเตอโรคริไนน จากผนังเยื่อเมือกในลำไส้	ซูเครส แลกเตส มอลเตส ไอโซมอลเตส	ซูโครส แลกโตส มอลโตส ไอโซมอลโตส โอลิโกแซคคาไรด์	กลูโคสและฟรุกโตส กลูโคสและกาแลกโตส กลูโคส กลูโคส

ที่มา : เวียง (2542)

2.6 การใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลา

คาร์โบไฮเดรตเป็น 1 ใน 3 สารอาหารหลักที่เป็นองค์ประกอบในอาหารปลา ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเป็นแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนที่มีราคาถูก การขาดแคลนพลังงานคาร์โบไฮเดรตในอาหารจะนำไปสู่การเพิ่มการใช้ประโยชน์จากโปรตีนและไขมันเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Kumar *et al*., 2006a) Prather และ Lovell (1973) อ้างโดย Kumar และคณะ (2006b) รายงานว่า เมื่อขาดแคลนแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน คือ คาร์โบไฮเดรตและไขมัน ปลาจะนำโปรตีนไปใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงานมากกว่าการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้น หากมีการใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อเป็นแหล่งพลังงานในอาหาร สามารถลดการใช้โปรตีนในอาหาร โดยใช้โปรตีนเท่ากับความต้องการของปลาที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตเท่านั้น จึงมีผลลดการปลดปล่อยของเสียไนโตรเจนสู่สิ่งแวดล้อม และยังสามารถลดต้นทุนการผลิตอาหารปลาลงได้ (NRC, 1993; Wilson, 1994; Lee and Lee, 2004; Wu *et al*., 2007c)

แม้ว่าคาร์โบไฮเดรตจะเป็นแหล่งของพลังงานในอาหารสำหรับปลาที่มีราคาถูก แต่ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (NRC, 1993; Wilson, 1994; Shiau, 1997; Hutchins *et al*., 1998; Lee and Lee, 2003; Tan *et al*., 2006) โดยการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาสัมพันธ์กับลักษณะทางกายวิภาคและหน้าที่การทำงานของระบบทางเดินอาหาร และเกี่ยวเนื่องไปถึงอวัยวะต่างๆ (Krogdahl *et al*., 2005; Wu *et al*., 2007c) รวมไปถึง

กระบวนการเมแทบอลิซึมที่สัตว์น้ำปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน (Walton and Cowey, 1982; Lee and Lee, 2003) โดยทั่วไปแล้ว ปลากินพืช ปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ และปลาในเขตอบอุ่น สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ในระดับที่สูงถึง 40% ในอาหาร ในขณะที่ปลากินเนื้อ ปลาทะเล และปลาในเขตหนาว เช่น Salmonids สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในอาหารที่สามารถย่อยได้ในระดับต่ำกว่า 20% ในอาหาร (Wilson, 1994; Stone, 2003) การศึกษาของ Tan และคณะ (2006) ชี้ให้เห็นว่า ปลาที่มีนิสัยการกินอาหารที่แตกต่างกัน สามารถใช้ประโยชน์จากแหล่งของคาร์โบไฮเดรตได้แตกต่างกัน โดยปลากิเบลคาร์ป (*Carrassius auratu gibelio*) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย soluble starch และเซลลูโลส ในระดับ 20% ในขณะที่ปลาไซนีสลองสเนาท์แคทฟิช (*Leiocassis longirostris* Günther) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี ในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซ์ตรินและซูโครส ที่ระดับ 6%

นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาชนิดต่างๆ ดังนี้

ปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ เช่น ปลาซิลเวอร์เพิร์ช (*Bidyanus bidyanus*) ระยะวัยรุ่น สามารถใช้แป้งที่ผ่านกระบวนการ เช่น แป้งสุก (gelatinized starch) หรือ เด็กซ์ตรินได้ดีกว่าการใช้ข้าวสาลีหรือแป้งสาลีดิบ ที่ระดับ 30% และสามารถสำรองโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต (Stone *et al.,* 2003) ส่วนปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งได้สูงถึงระดับ 46% โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโตลดลง แต่แป้งข้าวโพดที่ระดับ 22% โปรตีน 29% ไขมัน 10% และอัตราส่วนของ E/P เท่ากับ 37.9 KJ g^{-1} เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต เนื่องจาก มีน้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภพการใช้โปรตีน มีค่าดีที่สุด (Wang *et al*., 2005)

ปลากินเนื้อ เช่น ปลาสไตรปแบส (*Morone saxatilis*) และปลาซันไชน์แบส (*M. chrpsops* × *M. saxayilis*) พบว่า ปลาสไตรปแบสและปลาซันไชน์แบส สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดที่ระดับ 25% โดยปลาซันไชน์แบส มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงขึ้นเมื่อโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตลดลง (กลูโคส> มอลโตส> เด็กซ์ตริน) ในขณะที่ปลาสไตรปแบส มีน้ำหนักที่เพิ่มและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงขึ้น ตามกาสรเพิ่มน้ำหนักโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต (เด็กซ์ตริน>มอลโตส>กลูโคส) (Rawles and Gatlin, 1998) ปลาสตาร์รีฟลาวเดอร์ (*Platichthys stellatus*) สามารถใช้ประโยชน์จากเด็กซ์ตรินและแป้ง α-potato ได้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้กลูโคส และการใช้แป้ง α-potato ที่ระดับ 25% ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต (Lee และ Lee, 2004) ปลาเซาท์เทิร์นแคทฟิช (*Silurus meridionalis* Chen)

สามารถใช้ทั้งแป้งและกลูโคสเพื่อเป็นแหล่งพลังงานในอาหารและสามารถสำรองโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต โดยการใช้ประโยชน์จากแป้งข้าวโพดดิบ แป้งข้าวโพดสุก หรือกลูโคสที่ระดับ 15% ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้ไม่แตกต่างกัน แต่กลูโคสในระดับสูง คือ 30% เป็นระดับที่เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของปลา (Fu, 2005) ปลาฟลาวเดอร์ (*Paralichthys olivaceus*) ในระยะวัยรุ่น สามารถใช้ประโยชน์จากเด็กซ์ตรินได้ดีกว่าการใช้กลูโคส นอกจากนี้ เด็กซ์ตรินยังสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดีกว่าการใช้ไขมัน โดยอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซ์ตริน 25% และไขมัน 6% (Lee *et al*., 2003)

การที่ปลาน้ำจืด หรือปลาในเขตร้อนสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้ในระดับที่สูงกว่าปลาทะเลหรือปลาในเขตหนาว เนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย ทางเดินอาหารที่ยาวกว่า และมีกิจกรรมเอนไซม์ที่ใช้ย่อยคาร์โบไฮเดรตในทางเดินอาหารและในตับที่สูงกว่า (Wu *et al*., 2007b) Hidalgo และคณะ (1999) รายงานว่า ปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ในระดับที่สูงกว่าปลากินเนื้อ เนื่องจากมีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ในทางเดินอาหารที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังมีจำนวนและความจำเพาะเจาะจงของ insulin receptor ที่สูงกว่า (Parrizas *et al*., 1994; Banos *et al*., 1998 อ้างโดย Kumar *et al*., 2008)

แม้ว่าปลาไม่มีความต้องการคาร์โบไฮเดรตแบบจำเพาะเจาะจง แต่การขาดแคลนสารอาหารชนิดนี้มีผลทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ไม่ดี (NRC, 1993; Wilson, 1994) ในขณะที่คาร์โบไฮเดรตในระดับสูงเกินความต้องการมีผลลบทางกายภาพและโครงสร้างของตับ เนื่องจาก ระดับของน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ที่สูงตลอดเวลา ทำให้ปลาเกิดความเครียด และมีผลทำให้การทำงานของตับเสียหาย เนื่องจาก การเพิ่มการสะสมไกลโคเจนที่เพิ่มสูงขึ้น (Hemre *et al*., 2002 อ้างโดย Borba *et al*., 2006) นอกจากนี้ Hemre และคณะ (2002) อ้างโดย Kumar และคณะ (2008) รายงานว่า ส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตในอาหารปลาที่สูงเกินความต้องการ ทำให้ปลาเครียดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารและมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจาก ความสามารถในการเผาผลาญกลูโคสของปลามีจำกัด ซึ่งการได้รับกลูโคสในระดับสูง มีผลทำให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงหลังจากได้รับอาหารและยังคงมีระดับสูงคงที่ติดต่อกันนานหลายชั่วโมง (Kaushik and Oliva-Teles, 1985; Brauge *et al*., 1994; Hutchins *et al*., 1998; small and Soares, 1999 อ้างโดย Kumar *et al*., 2008) โดยเฉพาะในปลากินเนื้อที่ได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งในระดับสูง ดูเหมือนไม่สามารถจัดการกับกลูโคสส่วนเกินนี้ได้ (Moon, 2001) สันนิษฐานได้ว่า ปลาอยู่ภายใต้สภาวะความเครียดจากการเผาผลาญพลังงาน นำไปสู่การยับยั้งการทำหน้าที่ของอิมมูนในการต่อต้านเชื้อโรค (Ellis, 1981; Maule *et al*., 1989 อ้างโดย Kumar *et al*., 2008) นอกจากนี้ ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้น ในปลาบางชนิด เช่น ปลาเรนโบว์ เทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสูง แสดงถึงกระบวนการเมแทบอลิซึมในตับที่ไม่สามารถทำงานได้ ทำให้มีการสะสมไกลโคเจนในตับในระดับที่สูง (Baeverfjord, 1992) และยังส่งผลไปถึงการสะสมเป็นไขมันในตัวปลา (Fu, 2005) ดังนั้นควรเตรียมให้อาหารมีระดับ

คาร์โบไฮเดรตที่เพียงพอเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหาร ส่งผลให้ลดการนำเอาโปรตีนมาเผาผลาญเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ ทำให้เกิดการสำรองโปรตีนเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (Wang *et al*., 2005; Sá *et al*., 2008) นอกจากนี้ การมีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร ยังมีส่วนช่วยในด้านการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของการอัดเม็ดอาหาร ซึ่งส่งผลดีต่อคุณภาพของเม็ดอาหาร รวมไปถึงการเจริญเติบโตที่ดีของปลา (NRC, 1993; Wilson, 1994; Lee and Lee, 2004; Tan *et al*., 2007)

2.7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในอาหาร

Couto และคณะ (2008) กล่าวว่า คาร์โบไฮเดรต แม้จะเป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาถูก แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ประโยชน์ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของปลา ระดับของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร ความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุล (molecular complexity) (Catacutan and Coloso, 1998; Hutchins *et al*., 1998; Peres and Oliva-Teles, 2002; Kumar *et al*., 2006a) ลักษณะทางกายภาพ เช่น ความดิบ-สุก ของแป้ง (Couto *et al*., 2008) เทคโนโลยีที่นำมาประยุกต์ใช้ เช่น แป้งสุกเด็กซ์ตริน แป้งแบบแว็กซี่ (waxy starch) และแป้งแบบนอร์มอล (normal starch) (Wilson, 1994; Hemre *et al*., 2002; stone *et al*., 2003) อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง (Couto *et al*., 2008)

2.7.1 ความสุก-ดิบของแป้ง

แป้งในเมล็ดธัญพืช เป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับสัตว์บก (Suihun *et al*., 2005 อ้างโดย Sá *et al*., 2008) แต่ในปลาพบว่าย่อยได้ไม่ดีเท่ากับสัตว์บก (Stone *et al*., 2003; Krogdahl *et al*., 2005; Sá *et al*., 2008) โดยแป้ง มีส่วนประกอบหลัก คือ กลูโคส ซึ่งถือเป็นแหล่งพลังงานที่มีความสำคัญและมีศักยภาพ (Stone *et al*., 2003) การปรับปรุงคาร์โบไฮเดรตหรือแป้ง มีผลทำให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้มากขึ้น โดยการนำเทคโนโลยีต่างๆ มาประยุกต์ใช้ เช่น การนำแป้งไปผ่านกระบวนการให้ความร้อน กลายเป็นแป้งสุก (Bergot and Breque, 1983; Podoskina *et al*., 1997; Mohapatra *et al*., 2003; Kumar *et al*., 2006b) หรือการใช้ความชื้นร่วมกับความร้อนช่วยทำให้แป้งสุก (Krogdahl *et al*., 2005) โดยกระบวนการทำให้แป้งสุกเป็นการทำลายเม็ดแป้ง (starch granules) และเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้แป้งสัมผัสกับเอนไซม์ได้มากขึ้น (Stone, 2003; Couto *et al*., 2008) เป็นการเพิ่มความสามารถในการย่อยและเพิ่มการใช้ประโยชน์จากแป้ง ในการใช้แป้งสุกเป็นแหล่งพลังงานหลัก (Bergot and Breque, 1983; Peres and Oliva-Teles, 2002) โดยสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานเทียบได้กับการใช้แหล่งพลังงานจากโปรตีนหรือไขมัน (Pieper and Pfeffer, 1965 อ้างโดย Mohapatra *et al*., 2003) เพราะสามารถย่อยได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งมีรายงานว่าแป้งสุกสามารถย่อยได้ดีกว่าแป้งดิบ ดังที่เคยมีการศึกษาในปลาหลายๆ สายพันธ์ เช่น ปลาเรนโบว์เท

ร้าท์ (*Oncorhynchus mykiss*) สามารถใช้ประโยชน์จากเด็กซ์ตรินหรือแป้งที่ผ่านการให้ความร้อนได้ดี โดยการย่อยแป้งเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโพลีแซคคาไรด์ลดลง อันเนื่องมาจาก การแตกตัวของโมเลกุลแป้งจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจากกระบวนการทำให้แป้งสุก (Podoskina *et al*., 1997) ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) ระยะวัยรุ่น สามารถใช้แป้งสุกในอาหารได้ดี โดยอาหารที่มีแป้งสุกในระดับ 45% และโปรตีน 30% ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้สูงสุด และทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้สูง โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (amylase activity) ที่สูง ทำให้เกิดการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้อย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้เกิดการสำรองโปรตีน ชีวภาพพร้อมใช้ของไลซีน และตอบสนองด้านการเจริญเติบโตที่ดี (Mohapatra *et al*., 2003) และปลาซิลเวอร์เพิร์ช (*Bidyanus bidyanus*) ระยะวัยรุ่น สามารถใช้แป้งที่ผ่านกระบวนการ เช่น แป้งสุก (gelatinized starch) หรือ เด็กซ์ตรินได้ดีกว่าการใช้ข้าวสาลีหรือแป้งสาลีดิบ ที่ระดับ 30% และสามารถสำรองโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต (Stone *et al*., 2003)

แต่ในปลาหลายสายพันธุ์ พบว่า สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งดิบได้ดีกว่าการใช้แป้งสุก เช่น ปลากะพงยุโรป (*Dicentrachus labrax*) ระยะวัยรุ่น พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยแป้งเพิ่มขึ้นจาก 66.4 เป็น 98.2% ตามการเพิ่มขึ้นของแป้งสุกในอาหาร แต่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงจาก 2.20 เป็น 2.01% จากผลการศึกษา ชี้ให้เห็นว่า ปลาใช้แป้งดิบได้ดีกว่าการใช้แป้งสุก แต่เพื่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่ดีควรใช้ แป้งดิบในอัตราส่วน 1:1 หรือใช้แป้งดิบ 12.5% และแป้งสุก 12.5% ในอาหาร (Peres and Oliva-Teles, 2002) ปลาเยลโลฟิน ซีบรีม (*Sparus latus*) ระยะวัยรุ่น พบว่า ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากแป้งข้าวโพดดิบ แป้งมันสำปะหลังดิบ และแป้งมันฝรั่งดิบ ที่ระดับ 20% ในอาหาร เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน ทำให้มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ดี ส่วนการทำให้แป้งสุกไม่มีผลบวกต่อการใช้ประโยชน์ได้จากแป้ง (Wu *et al*., 2007a) เช่นเดียวกับ Wu และคณะ (2007c) รายงานว่า ปลาเยลโลฟิน ซีบรีม ในระยะวัยรุ่น สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งข้าวโพดดิบในระดับ 20% โดยทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าสูงกว่าการได้รับแป้งข้าวโพดดิบในระดับ 5%, 10% และ 26% และเกิดผลการสำรองโปรตีนในอาหาร และในปีเดียวกันนี้ Wu และคณะ (2007b) ได้ศึกษาอัตราส่วนของแป้งดิบต่อแป้งสุกในอาหารปลาเยลโลฟิน ซีบรีม ระยะวัยรุ่น จากการศึกษา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งดิบ 200: แป้งสุก 0 g kg^{-1}มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งดิบ 0:แป้งสุก 200 g kg^{-1} มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำสุด นอกจากนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งดิบ 200:แป้งสุก 0 g kg^{-1} และแป้งดิบ 150:แป้งสุก 50 g kg^{-1} มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein product value) ดีที่สุด สรุปได้ว่า ปลาเยลโลฟินซีบรีม สามารถใช้แป้งดิบได้ดีกว่าการใช้แป้งสุก และในปลายี่สกเทศ ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนของแป้งสุกต่อแป้งดิบ พบว่า การย่อยอาหารและอัตราการเจริญเติบโตมีค่าสูง ในอาหารที่มีระดับแป้งสุกต่ำ (20% G starch) และอาหารที่มีระดับแป้งสุกสูง (100% G starch) แต่ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุกสูง แสดงค่า ไกลโคเจนในตับและน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งนำไปสู่

ความเครียด เนื่องจากผลของสารอาหารในระยะยาว ดังนั้น อัตราส่วนของแป้งสุกในระดับ 20% และแป้งดิบในระดับ 80% เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการย่อยสารอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของปลายี่สกเทศระยะวัยรุ่น (Kumar *et al*., 2007)

การที่ปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งสุกได้ดี เนื่องจาก กระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นกลางปรากฏผลการดูดซึมกลูโคสในระดับสูงเพื่อนำเข้าไปใช้ประโยชน์ในร่างกายได้ไม่ดี (Deng *et al*., 2001; Panserat *et al*., 2001; Saurez *et al*., 2002 อ้างโดย Fu, 2005) และเมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบแป้ง ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุกในอาหารและภูมิคุ้มกันในปลายี่สกเทศ Kumar และคณะ (2008) ให้ข้อสังเกตว่า ปลากลุ่มที่ได้รับแป้งดิบมี immunoprotection ที่สูงกว่าปลาที่ได้รับแป้งสุก และมีรายงานยืนยันของ Misra และคณะ (2006) และ Kumar และคณะ (2008)

2.8 กระบวนการเมแทบอลิซึมของการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลา

ปลาทั่วไปมีเอนไซม์และกระบวนการเกี่ยวกับการเผาผลาญ (metabolic pathway) ที่ใช้ในการควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต เพื่อดูดซึมสารอาหารเข้าไปใช้ในร่างกาย (Cowey and Walton, 1989; Peres and Oliva-Teles, 2002) แต่ในธรรมชาติของปลามักขาดแคลนแหล่งของคาร์โบไฮเดรต ดังนั้น ระบบการย่อยและกระบวนการเมแทบอลิซึมจึงปรับสำหรับการใช้โปรตีนหรือไขมันเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน (Walton and Cowey, 1982; Peres and Oliva-Teles, 2002) โดยระหว่างการอดอาหาร ปลามักใช้ไขมันภายในตัวเพื่อเป็นแหล่งพลังงานแทนการใช้ไกลโคเจนที่สะสมไว้ (Cowey and Walton, 1989 อ้างโดย Peres and Oliva-Teles, 2002) โดยในปลากินทั้งพืชและเนื้อมีทางเดินอาหารที่ยาวกว่าและมีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในทางเดินอาหารสูงกว่าปลากินเนื้อ (Hidalgo *et at*., 1999) และมีความจำเพาะต่ออินซูลิน รีเซปเตอร์ (insulin receptor) ที่สูงกว่าปลากินเนื้อ ซึ่งอินซูลิน เป็นฮอร์โมนที่หลั่งมาจากตับอ่อนทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ไกลโคเจนในตับและในกล้ามเนื้อ (ชุติมา, 2549)

การใช้ประโยชน์จากกลูโคสได้ต่ำในปลาอาจมาจากสาเหตุการทำงานที่ผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตภายในตับในการควบคุมสารอาหาร (Panserat *et al*., 2001b อ้างโดย Tan *et al*., 2009) ในปลาเรนโบว์เทราท์ ทั้งการได้รับคาร์โบไฮเดรตในระดับสูงหรือการจัดการกลูโคสที่ได้รับเข้าไป พบว่า ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากกลูโคสได้ต่ำ นอกจากนี้ ระดับน้ำตาลในเลือดมีค่าสูง ติดต่อกันเป็นเวลานาน (prolonged hyperglycermia) (Bergot, 1979; Brauge *et al*.,1995 อ้างโดย Lee *et al*., 2003)

2.8.1 ผลของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโตและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในตับปลา

การศึกษาการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

2.8.1.1 รูปแบบของคาร์โบไฮเดรต

Lin และ Shiau (1994) ได้ทำการศึกษาผลของคาร์โบไฮเดรต 2 ชนิด คือ กลูโคส และแป้งข้าวโพด ต่อการพัฒนากิจกรรมของเอนไซม์ในตับในปลานิลในระยะวัยรุ่น (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) โดยอาหารมีระดับคาร์โบไฮเดรต 40% แบ่งปลาออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก มี 2 สูตร เลี้ยงตลอดการทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ กลุ่มสอง มี 2 สูตร คือ สูตรที่ 1 เลี้ยงด้วยกลูโคสในสัปดาห์ที่ 1-6 แล้วเปลี่ยนเป็นแป้งในสัปดาห์ที่ 7-12 และสูตรที่ 2 เลี้ยงด้วยแป้งในสัปดาห์ที่ 1-6 แล้วเปลี่ยนเป็นกลูโคสในสัปดาห์ที่ 7-12 จากการทดลอง พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เป็นแป้งข้าวโพดตลอด 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การสะสมโปรตีน และการสะสมพลังงาน สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดแล้วเปลี่ยนเป็นกลูโคส ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสแล้วเปลี่ยนเป็นแป้งข้าวโพด และปลาที่ได้รับกลูโคสตลอดการทดลอง ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์เฮกโซไคเนส (Hexokinase: HK) ฟอสโฟฟรุกโตไคเนส (Phosphofructokinase: PFK) และกลูโคส-6-ฟอสฟาเตส (glucose-6-phosphatase: G-6-Pase) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กิจกรรมของมาลิกเอนไซม์ (Malic enzyme) กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phasphate dehydrogenase: G-6-PD) และฟอสโฟฟรุกโตไคเนส ดีไฮโดรจีเนส (Phosphofrutokinase dehydrogenase: PGD) มีกิจกรรมที่สูงขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่เป็นแป้งข้าวโพด รองลงมา คือ ปลาที่มีการสลับเปลี่ยนแหล่งของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร และปลาที่ได้รับอาหารเป็นกลูโคส ตามลำดับ การที่ปลาได้รับอาหารที่เป็นแป้งข้าวโพด มีการเจริญเติบโตที่ดี และมีกิจกรรมของ malic enzyme, G-6-PD และ PGD ในระดับสูง เนื่องมาจาก แหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ปลาได้รับปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตได้ดี และเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปจีนิก (lipogenic enzme) คือ กระบวนการสังเคราะห์ไขมันจากแหล่งอาหารที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งสอดคล้องกับการสะสมไขมันในตัวปลา โดยการสะสมของไขมันในตัวปลามีค่าสูงในปลาที่ได้รับอาหารที่เป็นแป้งข้าวโพดตลอดการทดลอง

Shiau และ Lin (2002) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากแป้งและกลูโคสในปลาเก๋า (*Epinephelus malabaricus*) ที่อุณหภูมิ 23ºC ประกอบด้วยอาหาร 2 สูตร คือ อาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส และแป้งข้าวโพดในระดับ 14.3% จากการศึกษา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดมีอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้

โปรตีนที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส และเมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในตับ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดมีกิจกรรมของเอนไซม์ HK และ G-6-PD ในระดับที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีกิจกรรมของเอนไซม์ G-6-Pase ในระดับที่สูงกว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพด ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ปลาเก๋าสามารถใช้ประโยชน์จากแป้งข้าวโพดได้ดีกว่าการใช้ประโยชน์จากกลูโคส การที่ปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์จากกลูโคสเพื่อการเจริญเติบโตที่ดี เนื่องจาก กลูโคสเป็นพวกน้ำตาล โมโนแซคคาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยกลูโคสมีการดูดซึมที่เร็วมากเกินไป เมื่อเปรียบเทียบกับพวกโพลีแซคคาไรด์หรือน้ำตาลที่มีโครงสร้างซับซ้อนจำพวกแป้งต่างๆ ซึ่งในกระบวนการย่อย กลูโคสเข้าไปในระบบทางเดินอาหารในปริมาณที่สูงมากเกินไปก่อนที่จะมีเอนไซม์มากเพียงพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา ทำให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากกลูโคสเพื่อการเจริญเติบโตได้ต่ำ เมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ HK สูง แต่ G-6-Pase ต่ำ เนื่องจากในปลาเกิดกระบวนการไกลโคไลซีสที่สูงแต่เกิดกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซีสที่ต่ำ คือ เกิดการย่อยแป้งให้เป็นกลูโคส แล้วสามารถนำกลูโคสไปใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในร่างกายได้ดี โดยไม่ต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีกิจกรรม HK ต่ำ แต่ G-6-Pase สูง เนื่องจาก มีกลูโคสเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซีสที่ต่ำ จึงต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่จากแหล่งอาหารอื่นที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต เช่น จากกรดแอมิโน หรือ กลีเซอรอล เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบในตัวปลา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมีองค์ประกอบไขมันในตัวสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมเอนไซม์ G-6-PD ในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสูงกว่าปลาที่ได้รับกลูโคส เพราะ G-6-PD เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปไลซีส คือ กระบวนการที่สังเคราะห์ไขมันจากกลูโคสและมีการสะสมเป็นไขมันในตัวปลา

การศึกษารูปแบบของคาร์โบไฮเดรตในรูปแบบอื่นๆ ที่มีการศึกษา คือ คาร์โบไฮเดรตในรูปแบบของ normal maize starch และ waxy maize starch ซึ่ง normal maize starch ประกอบด้วย อะไมโลส (amylase) 25-28% ส่วน waxy maize starch ประกอบด้วย อะไมโลสเพียง 1 % ซึ่งรูปแบบของแป้งจะมีผลต่อสารอาหารที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ของแป้งสำหรับปลา โดยจากการทดลองของ Bergot (1993) อ้างโดย Enes และคณะ (2006) พบว่า ปลาเรนโบว์เทร้าท์สามารถใช้แป้งในรูป waxy maize starch ได้ดีกว่าแป้งในรูปแบบ normal maize starch และในการศึกษาของ Enes และคณะ (2006) โดยได้ศึกษาทั้งรูปแบบของแป้ง 2 ชนิด คือ normal maize starch(NS) และ waxy maize starch (WS)และศึกษาทั้ง 2 ระดับ คือ 10% และ 20% โดยให้อาหารมีระดับโปรตีน 48% และไขมัน 14% เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต (control) และอาหารที่มีระดับโปรตีนสูง คือ โปรตีน 68% และไขมัน 14% (diet HP) ซึ่งทดลองในปลากะพงยุโรป (*D. labrax*) จากผลการศึกษา พบว่า ปลากะพงขาวยุโรปสามารถใช้แป้งในรูปแบบ waxy

maize starch ที่ระดับ 20% ได้ดี รองลงมา คือ normal maize starch ที่ระดับ 20% โดยพิจารณาจากผลการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลึซึมของคาร์โบไฮเดรตในตับ โดยปลาที่ได้รับอาหารในสูตร WS20 และ NS20 มีกิจกรรมของกลูโคไคเนส (Glucokinase: GK) และ ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase: PK) ที่สูงซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซีส สลายกลูโคสเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในร่างกาย ส่วนปลาที่ได้รับอาหารในสูตร HP รองลงมา คือ Control และ NS10 มีกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซีส คือ ฟรุกโตส-1,6-บิสฟอสเฟต (Fructose-1,6-bisphosphate: FBPase)ที่สูง เนื่องจาก ในอาหารมีแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่สามารถใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานได้ต่ำ จึงต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต เช่น สังเคราะห์จากโปรตีน และไขมันในอาหาร และเมื่อพิจารณาไปถึงการสลายกรดแอมิโน (amino acid catabolism) พบว่า มีกิจกรรมของ กลูตาเมทดีไฮโดรจีเนส (Glutamate dehydrogenase: GDH) ในระดับสูง ซึ่งมีความสอดคล้องกับกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซีส คือ ปลาที่ได้รับอาหารในสูตร control และ HP มีการสลายกรดแอมิโนที่สูงตามไปด้วย

จากการศึกษารูปแบบของคาร์โบไฮเดรตทีมีผลต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในตับปลา พบว่า ปลาสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตในรูปแบบที่เป็นโครงสร้างซับซ้อน จำพวก แป้งข้าวโพด หรือ แป้งในรูปแบบ waxy maize starch ที่มีอะไมโลสเป็นส่วนประกอบเพียง 1% ได้ดีกว่าการใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีรูปร่างเชิงเดี่ยว เช่น กลูโคส การที่ปลาสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้ต่ำ เนื่องมาจาก การทำงานและการควบคุมสารอาหารที่ไม่เป็นปกติ ของกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในตับ (Panserat *et al*., 2001) และเมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ เช่น แป้ง (starch) มีกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนไกลโคไลซีส และลิโปเจเนซีสที่สูง เนื่องจาก ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากแหล่งคาร์โบไฮเดรตในอาหารได้เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้ กลูโคสที่ได้จากการย่อยที่มีอยู่มากเกินไปจะถูกสังเคราะห์เป็นไกลโคเจนและส่งผลไปถึงกระบวนการลิโปเจเนซีสเพื่อสังเคราะห์เป็นไขมันสะสมในตัว (Enes *et al*., 2006) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสจะมีกระบวนการไกลโคไลซีสที่ต่ำ แต่มีกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซีสที่สูง เนื่องจาก ปลาสามารถใช้กลูโคสที่มีอยู่ในอาหารเพื่อใช้สลายเป็นแหล่งพลังงานได้ต่ำ จึงต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ จากแหล่งของกรดแอมิโนหรือกลีเซอรอลในอาหาร นอกจากนี้ เมื่อวัดถึงกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายกรดแอมิโน พบว่า ถ้ามีกิจกรรมของกลูโคนีโอเจเนซีสสูงจะส่งผลให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ในกระบวนการสลายกรดแอมิโนสูงตามไปด้วย เนื่องจากต้องสลายกรดแอมิโนที่มีอยู่ในอาหารเพื่อนำมาสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใหม่

2.8.1.2 อัตราส่วนของโปรตีนต่อคาร์โบไฮเดรตในอาหาร

Fernández และคณะ (2007) ได้ศึกษาการแทนที่โปรตีนด้วยแป้งข้าวโพดสุก (GSC) ในปลา gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) ขนาดปลานิ้ว โดยอาหารทดลองประกอบด้วย โปรตีน 63% GCS 5% (LC diet), โปรตีน 54% GSC 18% (MC diet) และโปรตีน 47% GSC 26% (HC diet) โดยอาหารทั้ง 3 สูตร มีระดับพลังงานในอาหารที่ใกล้เคียงกัน จากการทดลอง พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตร MC มีน้ำหนักตัวสุดท้ายสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตร LC และ HC และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตร HC ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการสะสมโปรตีนในตัวปลา มีค่าสูงในปลาที่ได้รับอาหารในสูตร HC มากกว่า MC และ LC ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบในตัวปลา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารในสูตร HC มีองค์ประกอบไขมันในตัวปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตร MC และ LC ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม ชี้ให้เห็นว่า มีการปรับเมแทบอลิซึมตามระดับของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร ดังนี้ คือ กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคไลซีส คือ กิจกรรม PK มีค่าสูงตามการเพิ่มขึ้นของระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซีส คือ กิจกรรมของเอนไซม์ FBPase-1 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปจีเนซีส คือ กิจกรรมของ G6P-DH และ 6PG-DH มีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับคาร์โบไฮเดรตที่สูงขึ้น ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายกรดแอมิโน คือ กิจกรรมของอะลานีน แอมิโนทรานส์เฟอร์เรส (Alanine aminotransferase: ALAT) ในระดับสูงเมื่อมีการแทนที่โปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตในระดับที่ต่ำ คือ ปลาที่ได้รับอาหารในสูตร LC

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนของโปรตีนต่อคาร์โบไฮเดรตในอาหาร พบว่า เมื่อมีการเพิ่มการแทนที่โปรตีนด้วยแป้งข้าวโพดสุกในระดับที่เหมาะสม คือ แทนที่ลงไปประมาณไม่น้อยกว่า 18% แต่ไม่มากเกิน 26% จะเห็นได้ว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนด้วยแป้งสุกในระดับ 18% ปลามีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ดีกว่าปลาที่มีการแทนที่โปรตีนด้วยแป้งข้าวโพด 26% และ 5% ตามลำดับ เมื่อศึกษาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ พบว่า มีการปรับเมแทบอลิซึมตามระดับของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร โดยเมื่อมีการทดแทนโปรตีนด้วยแป้งข้าวโพดสุกในระดับที่สูงขึ้น จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซีสที่สูงขึ้น และยังส่งผลต่อกระบวนการลิโปไลซีสให้สูงตามไปด้วย คือ ในตัวปลาเกิดกระบวนการสายกลูโคสเพื่อเป็นแหล่งพลังงานได้ดี นอกจากนี้ ยังสามารถนำไปสะสมโดยสามารถสังเคราะห์ไขมันจากกลูโคสที่มีอยู่มากเพียงพอในอาหาร และยังสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายกรดแอมิโนลงได้ และชี้ให้เห็นว่า ในปลา gilthead sea bream (*S. aurata*) สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ดี เมื่ออาหารประกอบด้วยแป้งข้าวโพดสุกในระดับ 18% และโปรตีน 54% โดยในอาหารมีอัตราส่วนของโปรตีนต่อคาร์โบไฮเดรตในระดับที่เหมาะสม ในตัวปลาจะเกิดการสำรองโปรตีน (protein sparing effect)

2.8.1.3 อุณหภูมิ

Moreira และคณะ (2008) และ Couto และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 18°C และ 25° โดย Moreira และคณะ (2008) ศึกษาในปลากะพงยุโรป (*D. labrax*) และ Couto และคณะ (2008) ศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม (*S. aurata*) จากการศึกษา พบว่า อุณหภูมิที่มีผลต่อการใช้คาร์โบไฮเดรต คือ การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน มีค่าสูงในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C มากกว่าที่ 18°C ในปลากะพงยุโรป พบว่า องค์ประกอบของไขมันในตัวปลาและพลังงานในตัวปลามีค่าสูงในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C มากกว่าที่ 18°C และเพิ่มขึ้นตามระดับแป้งที่เพิ่มขึ้นในอาหาร แต่ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI) และดัชนีเครื่องใน (Viscera index: VI) มีค่าสูงในการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18°C มากกว่าที่ 25°C ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม เมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิซึมของตับ พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซีสเพียงกระบวนการเดียวเท่านั้น โดยในปลากะพงยุโรป พบว่า ปลาที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°C มีกิจกรรมของเอนไซม์เฮกโซไคเนส (HK) ที่สูงกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18°C แต่ไม่มีผลต่อกระบวนการของเอนไซม์กลูโคไคเนส (GK) ในขณะที่ปลากิลท์เฮดซีบรีม มีกิจกรรมของเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (PK) ที่สูงกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18°C แต่ไม่มีผลต่อกระบวนการ GK เช่นเดียวกัน

จากผลการศึกษาเห็นได้ว่า การเลี้ยงปลาในอุณหภูมิที่สูงประมาณ 25°C ทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่ดี นอกจากนี้ยังส่งผลต่อกระบวนการไกลโคไลซีสหรือกระบวนการสลายคาร์โบไฮเดรตเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในร่างกายที่สูงกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18°C

2.9 วัตถุประสงค์

2.9.1 เพื่อศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

2.9.2 เพื่อศึกษาระดับของคาร์โบไฮเดรตต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสำรองโปรตีน และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

บทที่ 3

การทดลองที่ 1 การศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

3.1 บทคัดย่อ

ศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสะสมสารอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมในปลากะพงขาว โดยการเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด คือ กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าวชนิดไม่สกัดน้ำมัน ที่ระดับ 17 เปอร์เซ็นต์ และอาหารมีโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ ทดลองเลี้ยงในปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 5.84±0.10 กรัม/ตัว ในน้ำจืด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังมีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดแต่ไม่แตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี (P>0.05) รองลงมา คือปลาที่ได้รับแป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว เด็กซ์ตริน และกลูโคส ตามลำดับ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและแป้งมันสำปะหลัง มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน การสะสมไขมัน และการสะสมพลังงานดีที่สุด (P<0.05) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน รวมถึงประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารต่างๆ ต่ำที่สุด (P<0.05) ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลา (*In vivo* protein digestibility) ที่ได้รับเด็กซ์ตรินและกลูโคสมีค่าต่ำสุด (P<0.05) การทดสอบย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) พบว่า ผลผลิตมอลโตสมีค่าสูงสุดและต่ำสุด ในอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินและกลูโคส ตามลำดับ ระดับน้ำตาลในเลือดของปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีระดับต่ำสุดแต่มีการสะสมไกลโคเจนในตับสูงสุด (P<0.05) ดัชนีไขมันสะสมในช่องท้องมีระดับสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ PK, G6Pase และ G6PDH มีค่าเด่นชัดในปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างอย่างง่าย ได้แก่ กลูโคส และเด็กซ์ตริน และปลาที่ได้รับกลูโคสมีองค์ประกอบโปรตีนในตัวต่ำสุด (P<0.05)

สรุปได้ว่า คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน คือ แป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ดีสำหรับปลากะพงขาว ซึ่งทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร รวมถึงประสิทธิภาพการสำรองโปรตีนได้ดีที่สุด แต่แป้งสาลีมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากสามารถลดการใช้แหล่งโปรตีนหลักลงได้ 2.38 เปอร์เซ็นต์

3.2 บทนำ

โปรตีนเป็นสารอาหารหลักที่มีความจำเป็นและมีราคาแพง ใช้เพื่อการเจริญเติบโต เป็นส่วนประกอบหลักในอาหารและถือเป็นต้นทุนหลักในการสร้างสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำ (Mohapatra *et al*., 2003; Stone, 2003; Fu, 2005; Borba *et al*., 2006; Kumar *et al*., 2006a; Tan *et al*., 2007) ในสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลากินเนื้อมีแนวโน้มในการนำโปรตีนไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในสภาวะที่มีการขาดแคลนหรือในอาหารมีแหล่งพลังงานที่ไม่เหมาะสม การใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรคำนึงถึงแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein energy) คือ ไขมันหรือคาร์โบไฮเดรต (El-sayed and Garling, 1988; Chou and Shiau, 1996; Nankervis *et al*., 2000; Watanabe *et al*., 2001 อ้างโดย Borba *et al*., 2006) โดยการใช้แหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับและสัดส่วนที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้สูงสุด หรือที่เรียกว่า การสำรองโปรตีน (protein-sparing effect) (Tan *et al*., 2007; Stone *et al*., 2003) ไม่เพียงทำให้ต้นทุนอาหารลดลงแต่ยังรวมไปถึงการลดของเสียไนโตรเจนที่ปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม เป็นผลให้ปลาที่ผลิตได้มีคุณภาพและมาตรฐานการผลิตของฟาร์มที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น (Kaushik and Médale, 1994; Borba *et al*., 2006) แม้ว่า ไขมันเป็นแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนที่มีประสิทธิภาพและมีความสำคัญสำหรับปลา แต่เมื่อเปรียบเทียบกับคาร์โบไฮเดรตแล้วไขมันถือว่าเป็นแหล่งพลังงานที่มีราคาแพง (Stone *et al*., 2003; Kumar *et al*., 2006a) นอกจากนี้ ไขมันในระดับที่สูงเกินไปจะมีผลต่อคุณภาพของเม็ดอาหาร (Jauncey, 1982) และมีผลเพิ่มองค์ประกอบของไขมันในตัวและในเครื่องในอันส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค (Helland and Grisdale-Helland, 1998; Company *et al*., 1999; Cyrino *et al*., 1999; Portz *et al*., 2001 อ้างโดย Martino *et al*., 2005; Tan *et al*., 2007) เป็นการลดผลผลิตและคุณภาพของปลา (Martino *et al*., 2005)

ดังนั้น คาร์โบไฮเดรตจึงเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจาก คาร์โบไฮเดรตเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีราคาถูก สามารถหาได้ง่ายและเป็นแหล่งพลังงานพร้อมใช้ และถ้ามีการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารปลามีผลทำให้ต้นทุนอาหารต่ำลงได้ (Fynn-Aikins *et al*., 1992; Wilson, 1994) ซึ่งการจัดเตรียมให้อาหารมีแหล่งพลังงานที่มาจากคาร์โบไฮเดรตในระดับที่เพียงพอและเหมาะสม ทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้อย่างสูงสุด โดยเป็นการลดการนำโปรตีนมาสลายเพื่อเป็นแหล่งพลังงานหรือการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ (Wu *et al*.,

2007a) ปลาจึงนำโปรตีนไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ และใช้พลังงานจากคาร์โบไฮเดรต ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของการสำรองโปรตีน (protein retention) และสำรองพลังงาน (energy retention) ภายในตัวปลา แม้ว่าคาร์โบไฮเดรตจะเป็นแหล่งของพลังงานในอาหารสำหรับปลาที่มีราคาถูก แต่ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (NRC, 1993; Wilson, 1994; Shiau, 1997; Hutchins *et al*., 1998; Lee and Lee, 2003; Tan *et al*., 2006) โดยการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในปลาสัมพันธ์กับลักษณะทางกายวิภาคและหน้าที่การทำงานของระบบทางเดินอาหาร และเกี่ยวเนื่องไปถึงอวัยวะต่างๆ (Krogdahl *et al*., 2005; Wu *et al*., 2007c) รวมไปถึงกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สัตว์น้ำปรับตัวเพื่อให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัยที่แตกต่างกัน (Walton and Cowey, 1982; Lee and Lee, 2003)และการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตยังขึ้นกับ ชนิด ระดับความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุลและความสุกดิบของคาร์โบไฮเดรตในอาหารของปลา (Bergot, 1979; Hutchins *et al*., 1998; Lee *et al*., 2003)

3.3 วัตถุประสงค์

3.3.1 เพื่อศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design; CRD) โดยใช้อาหารที่มีส่วนประกอบพื้นฐานใกล้เคียงกัน แต่มีแหล่งคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ทั้งหมด 7 สูตร สูตรละ 4 ซ้ำ ใช้ตู้ทดลองขนาด 40×60×50 เซนติเมตร จำนวน 28 ตู้ ใช้ปลาจำนวน 15 ตัวต่อตู้ ทำการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.4.2 การเตรียมปลาสำหรับการทดลอง

นำปลากะพงขาวที่มีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.5 กรัม/ตัว จำนวน 2,000 ตัว อนุบาลในน้ำจืดในถังไฟเบอร์กลาสทรงกลมขนาดความจุ 1 ตัน จำนวน 3 ถัง ถังละประมาณ 700 ตัว มีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา โดยให้อาหารสำเร็จรูป เพื่อฝึกให้ปลาเคยชินกับอาหารสำเร็จรูป จากนั้นจึงคัดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกัน 20 ตัว ใส่ตู้ทดลองที่มีความจุน้ำประมาณ 100 ลิตร จำนวน 32 ตู้ เมื่อฝึกให้ปลาคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและอาหารทดลอง โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ จนปลาอิ่ม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้น จึงคัดปลาขนาดใกล้เคียงกันที่มีน้ำหนักประมาณ 4-5 กรัม/ตัว จำนวน 15 ตัว/ตู้ ปรับสภาพปลาจนกระทั่งยอมรับอาหารทดลองทุกชุดการ

ทดลอง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 วัน ชั่งน้ำหนักรวม บันทึกข้อมูลน้ำหนักเริ่มต้น และหาน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นของปลากะพงขาวที่ทดลอง โดยก่อนชั่งปลาสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร/ น้ำ 1 ลิตร

3.4.3 การเตรียมอาหาร

3.4.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารที่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารทดลอง โดยวิธีการของ (AOAC, 1999)

3.4.3.2 อาหารทดลองและการเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลอง 7 สูตร มีระดับโปรตีนและไขมันในอาหารใกล้เคียงกันเท่ากับ 45 % และ 12% (Catacutan and Coloso, 1998) ตามลำดับ ในส่วนของโปรตีนใช้แหล่งโปรตีนจาก 3 แหล่ง คือ ปลาป่น เครื่องในปลาทูน่าป่น และกากถั่วเหลืองชนิดสกัดน้ำมัน สำหรับสัดส่วนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงขาว โดยระดับเครื่องในปลาทูน่าป่นใช้ระดับที่สามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในผลการศึกษาของสุภาพร (2549) และระดับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่สามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นของ Tantikitti และคณะ (2005) ซึ่งกำหนดให้ใช้เครื่องในปลาทูน่าป่นทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยในสูตรอาหารแต่ละสูตรใช้ปลาป่น 67.5 เปอร์เซ็นต์ เครื่องในปลาทูน่าป่น 22.5 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน 10 เปอร์เซ็นต์ (ชุติมา, 2555)

อาหารทดลองทุกสูตร มีระดับของคาร์โบไฮเดรตเท่ากัน คือ 17% ของอาหาร แต่มีแหล่งของคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน คือ กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งมันสำปะหลัง รำข้าว และแป้งสาลี ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวก จ.) อาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหารเม็ดแห้งแบบจม

เตรียมอาหารทดลอง โดยชั่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามส่วนประกอบของอาหารแต่ละสูตรที่คำนวณไว้ ซึ่งเป็นอาหารแบบ practical diet มีปลาป่น เครื่องในปลาทูน่าป่น และกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นแหล่งของโปรตีน ผสมส่วนประกอบวัตถุดิบที่มีลักษณะแห้งให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร แล้วจึงเติมน้ำประมาณ 20-25% จากนั้นทำการผสมต่ออีกประมาณ 10 นาที จึงนำไปอัดเม็ด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร นำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดแล้วไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 60ºC นาน 18 ชั่วโมง นำไปร่อนด้วยตะแกรงตาถี่เพื่อเอาอาหารส่วนที่เป็นผงออก บรรจุถุงพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20ºC และนำตัวอย่างอาหารของทุกสูตรวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีการ (AOAC, 1999)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร การทดลองที่ 1

วัตถุดิบ	องค์ประกอบทางโภชนาการ (เปอร์เซ็นต์)					
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น	เยื่อใย	NFE
ปลาป่น	70.62±1.37	6.81±0.41	19.70±0.08	8.38±0.21	0.21±0.01	-5.72
เครื่องในปลาทูน่าป่น	64.06±0.77	11.64±0.33	6.62±0.06	19.85±0.55	0.07±0.01	-2.24
กากถั่วเหลือง	48.86±1.35	2.66±0.20	6.60±0.13	9.09±0.10	3.28±0.19	29.51
กลูโคส	-	-	-	-	-	-
เด็กซ์ตริน	0.56±0.03	0.76±0.02	0.13±0.01	8.93±0.36	0.07±0.01	89.55
แป้งมันสำปะหลัง	0.07±0.01	0.46±0.11	0.10±0.02	9.75±0.34	0.09±0.01	89.53
แป้งข้าวโพด	0.12±0.00	0.39±0.01	0.14±0.01	10.93±0.49	0.03±0.00	88.39
แป้งข้าวจ้าว	7.08±0.07	0.59±0.01	0.31±0.02	10.59±0.15	0.14±0.01	81.29
แป้งสาลี	15.73±0.07	1.16±0.03	0.53±0.03	9.39±0.60	0.18±0.04	73.01
รำข้าว	12.25±0.70	17.58±0.47	9.59±0.03	13.44±0.15	8.41±0.14	38.73

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของอาหาร (กรัม/ 100 กรัม) การทดลองที่ 1

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร						
	1 (กลูโคส)	2 (เด็กซ์ตริน)	3 (แป้งมันสำปะหลัง)	4 (แป้งข้าวโพด)	5 (แป้งข้าวจ้าว)	6 (แป้งสาลี)	7 (รำข้าว)
ปลาป่น	43.00	43.00	43.00	43.00	42.20	41.10	42.30
เครื่องในปลาทูน่าป่น	15.80	15.80	15.80	15.80	15.50	15.10	15.50
กากถั่วเหลือง	9.30	9.30	9.30	9.30	9.00	8.80	9.10
CMC	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
วิตามินรวม[1]	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
แร่ธาตุรวม[2]	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
น้ำมันปลา	7.30	7.30	7.30	7.30	7.40	7.50	5.00
แกลบ	0.30	0.30	0.30	0.30	1.60	3.20	3.80
กลูโคส	17.00	-	-	-	-	-	-
เด็กซ์ตริน	-	17.00	-	-	-	-	-
แป้งมันสำปะหลัง	-	-	17.00	-	-	-	-
แป้งข้าวโพด	-	-	-	17.00	-	-	-
แป้งข้าวจ้าว	-	-	-	-	17.00	-	-
แป้งสาลี	-	-	-	-	-	17.00	-
รำข้าว	-	-	-	-	-	-	17.00
NaCl	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
<u>องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)</u>							
โปรตีน	42.59	44.11	43.70	44.53	45.34	45.32	46.82
ไขมัน	12.78	13.90	10.31	12.93	14.62	13.94	15.09
เยื่อใย	0.67	0.39	0.42	0.45	0.87	1.47	2.94
NFE	16.18	22.02	23.85	21.78	19.59	20.46	13.45
เถ้า	13.62	13.17	13.41	13.67	13.59	13.66	15.26
ความชื้น	14.16	6.41	8.31	6.64	5.99	5.15	6.44
พลังงานรวม (KJ/g)	19.68	19.77	19.41	19.79	19.71	19.96	18.71
P/E (มิลลิกรัมโปรตีน/ กิโลจูล)	21.64	22.31	22.51	22.50	23.00	22.71	25.02

[1]วิตามินรวม ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยยูเนี่ยน ฟีดมิลล์ จำกัด

[2] แร่ธาตรวม (กรัม/ อาหาร1 กิโลกรัม): $NaH_2PO_4.2H_2O$ 15; $CaHPO_4$ 8; KCl 5; KH_2PO_4 10: แป้งข้าวจ้าว

3.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโต และการใช้อาหาร

ศึกษาโดยให้อาหารทดลองตามชุดการทดลอง และซ้ำที่ได้สุ่มไว้ โดยให้กินจนอิ่ม 2 มื้อต่อวัน ในช่วงเช้าประมาณ 8.00 น. และเย็นประมาณ 16.00 น. ให้อาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ก่อนให้อาหารมื้อเช้าดูดสิ่งขับถ่ายในตู้ออกให้หมด เปลี่ยนน้ำใหม่ทุกวันก่อนให้อาหารมื้อเย็น โดยถ่ายน้ำเก่าออกประมาณ 70% บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลากินทุกวันเพื่อทราบปริมาณอาหารที่ปลากินแต่ละวัน วัดอุณหภูมิและลักษณะผิดปกติภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือดและการเกิดบาดแผล รวมทั้งสังเกตพฤติกรรมที่ผิดปกติในปลาแต่ละกลุ่มและใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรคตามสภาพของปลา ระหว่างการเลี้ยงทำการชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ โดยไม่มีการให้อาหารก่อนการชั่งน้ำหนัก 24 ชั่วโมง สลบปลาก่อนชั่งโดยใช้น้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร โดยชั่งน้ำหนักปลาทุกตัวในตู้ทดลองด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่งน้ำหนักปลาทุกตัวในตู้ในแต่ละชุดการทดลอง นับตัวอย่างปลาที่เหลือและเก็บตัวอย่างปลาหลังการทดลองไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าต่างๆ ได้แก่

1) อัตราการรอดตาย = (จำนวนปลาเริ่มต้น/จำนวนปลาที่เหลือ) x 100

2) น้ำหนักที่เพิ่ม (Weight gain, %)

$$= \frac{[\text{น้ำหนักปลาสุดท้ายเฉลี่ย (กรัม/ตัว)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว)}]}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว)}} \times 100$$

3) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR)

= น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม/ตัว) / น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)

4) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency ratio: FE)

= น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว) / น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม/ตัว)

5) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR, %ต่อวัน)

$= [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$

W_1 = น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม/ตัว)

W_2 = น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม/ตัว)

t_1 = วันเริ่มต้นการทดลอง

t_2 = วันที่สิ้นสุดการทดลอง

6) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio: PER)

= น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว) / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม/ตัว)

7) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention efficiency: PRE, %) (Martino *et al*., 2005)

$$= \left[\frac{(\text{final body weight} \times \text{final body protein}) - (\text{initial body weight} \times \text{initial body protein})}{\text{total protein intake (g)}}\right] \times 100$$

8) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention efficiency: LRE, %) (Martino *et al*., 2005)

$$= \left[\frac{(\text{final body weight} \times \text{final body lipid}) - (\text{initial body weight} \times \text{initial body lipid})}{\text{total lipid intake (g)}}\right] \times 100$$

9) ประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (Energy retention efficiency: ERE, %) (Martino *et al*., 2005)

$$= \left[\frac{(\text{final body weight} \times \text{final body energy}) - (\text{initial body weight} \times \text{initial body energy})}{\text{total energy intake (g)}}\right] \times 100$$

3.4.5 การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรต และกิจกรรมของเอนไซม์เกี่ยวกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลาเพื่อศึกษาพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

3.4.5.1 ระดับของกลูโคสในเลือด

หลังสิ้นสุดการทดลอง ปลายังคงได้รับอาหารติดต่อกันอย่างน้อย 3 วัน เก็บตัวอย่างปลา 3 ตัวต่อตู้ หลังจากปลาได้รับอาหารเย็น 6 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักปลา จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดปลา บริเวณ caudal vein โดยใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Sodium Fluoride; NaF+EDTA) นำเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เก็บส่วนของพลาสมา เพื่อนำไปหาปริมาณกลูโคสในเลือดด้วย glucose oxidase method โดยใช้ชุดทดลองของ Stanbio Glucose LiquiColor® Procedure No. 1070

3.4.5.2 ดัชนีไขมันในตัว ดัชนีตับ การสะสมไกลโคเจนในตับ

เก็บตัวอย่างปลา 3 ตัว/ตู้ หลังจากดูดเลือดเรียบร้อยแล้ว (ใช้ตัวอย่างจากการวิเคราะห์กลูโคสในเลือด) ชั่งน้ำหนักปลา ผ่าตัดส่วนไขมันในช่องท้อง ชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำมาคำนวนณค่าดัชนีไขมันในช่องท้อง (Intraperitoneal fat ratio: IPF) (Rawles and Gatlin, 1998) จากนั้น ตัดส่วนของตับมาชั่งน้ำหนัก เพื่อหาดัชนีของตับ (Hepatosomatic index: HSI)

IPF% = [น้ำหนักไขมันในช่องท้อง (กรัม, น้ำหนักสด)/ น้ำหนักปลา (กรัม, น้ำหนักสด)] x 100

HSI% = [น้ำหนักตับ (กรัม, น้ำหนักสด)/ น้ำหนักปลา (กรัม, น้ำหนักสด)] x 100

นำตัวอย่างตับใส่ในไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC เพื่อรอการวิเคราะห์หาปริมาณไกลโคเจนในตับตามวิธีการของ Hassid และ Abraham (1957) (ภาคผนวก ก.) โดยนำเนื้อเยื่อตับ น้ำหนักประมาณ 1 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์ ขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 30% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำหลอดไปต้มใน Water bath อุณหภูมิ 100ºC เป็นเวลา 25 นาที เพื่อย่อยเนื้อเยื่อตับ จากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว เติมโซเดียมซัลเฟตอิ่มตัว ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมแอลกฮอร์ 95% 1.1 เท่าของสารละลายในหลอด เพื่อตกตะกอนไกลโคเจน นำสารละลายภายในหลอดไปให้ความร้อนอีกครั้งจนสารละลายเริ่มเดือด ทำให้สารเย็น นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนใสด้านบนทิ้งเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนไกลโคเจน ตกตะกอนไกลโคเจนอีกครั้ง ด้วยแอลกอฮอร์ 95% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรนำไปให้ความร้อนอีกครั้งจนสารละลายเริ่มเดือด ทำสารผสมภายในหลอดให้เย็น นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง ส่วนที่เหลือในหลอด คือ ไกลโคเจนบริสุทธิ์ ละลายตะกอนไกลโคเจนด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 50

มิลลิลิตร จากนั้น ดูดสารละลายไกลโคเจน 5 มิลลิลิตร ผสมสารละลาย Anthrone 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100ºC นาน 10 นาที วัดความยาวคลื่นที่ 590 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 100 มิลลิกรัม%

3.4.5.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลางในปลากะพงขาว

3.4.5.3.1 การวิเคราะห์ กิจกรรมของเอนไซม์ Pyruvate kinase (EC 2.7.1.40), Glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9) และ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (EC 1.1.1.49)

เก็บตัวอย่างปลา 3 ตัวต่อตู้ หลังจากปลาได้รับอาหารเย็น 6 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักปลา จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดปลา บริเวณ caudal vein ใส่ในหลอดไมโครทิว (microtube) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เพื่อให้เลือดแยกชั้น จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 4,000 รอบ/ นาที เพื่อเก็บตัวอย่างซีรัม เก็บซีรัมใส่ไนโตรเจนเหลวทันที จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ Pyruvate kinase (PK) จากนั้น เก็บตัวอย่างตับ น้ำหนักประมาณ 0.02-0.03 กรัม โดยเลือกผ่าตัดบริเวณขั้วตับด้านบน โดยเลือกในบริเวณเดียวกันทุกตัว และซับเลือดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ชั่งน้ำหนัก ใส่ในไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 80ºC เพื่อนำมาสกัดเอนไซม์และวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) และตัดตับส่วนที่เหลือ น้ำหนักประมาณ 0.10-0.15 กรัม ชั่งน้ำหนัก ใส่ในไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC เพื่อนำมาสกัดเอนไซม์และหากิจกรรมของเอนไซม์ Glucose-6-phosphatase โดยกิจกรรมเอนไซม์ทั้ง 3 ตัว คือ PK, G6Pase และ G6PDH วิเคราะห์ตามวิธีการของ Bergmeyer และคณะ (1974) (ภาคผนวก ข.)

3.4.6 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา (*In vivo* nutrient digestibility)

หลังจากสิ้นสุดการศึกษาการเจริญเติบโต ให้อาหารที่มีโครมิกซ์ออกไซด์เป็นมาร์กเกอร์ในอาหารที่ระดับ 0.5% โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการศึกษาการเจริญเติบโต เก็บตัวอย่างมูลปลาเมื่อให้อาหารเป็นระยะเวลานาน 1 เดือน ทำให้แห้งโดย อบที่อุณหภูมิ 60ºC บดมูลของปลาที่แห้งและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20ºC เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณโครมิกออกไซด์ตามวิธีการของ Furukawa และ Tsukahara (1966) โปรตีน และไขมัน ตามวิธีการของ AOAC (1999) และคำนวณประสิทธิภาพการย่อยอาหารตามสมการของ Cho and Slinger (1979) อ้างโดย Terrazas- Fierro และคณะ (2010)

ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง = 100 – [100 x (โครเมียมในอาหาร/ โครเมียมในมูลปลา)]

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน} = 100 - \left\{ 100 \times \left[\frac{\text{โครเมียมในอาหาร}}{\text{โครเมียมในมูล}} \times \frac{\text{โปรตีนในมูลปลา}}{\text{โปรตีนในอาหาร}} \right] \right\}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการย่อยไขมัน} = 100 - \left\{ 100 \times \left[\frac{\text{โครเมียมในอาหาร}}{\text{โครเมียมในมูล}} \times \frac{\text{ไขมันในมูลปลา}}{\text{ไขมันในอาหาร}} \right] \right\}$$

3.4.7 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate digestibility)

ศึกษาโดยการเลี้ยงปลากะพงขาว น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 35-40 กรัม/ ตัว ในถังขนาด 56x76x36 เซนติเมตร จำนวน 3 ถัง ถังละ 10 ตัว ให้อาหารที่มีองค์ประกอบใกล้เคียงกับอาหารทดลองการทดลองที่ 1 คือ โปรตีน 45% ไขมัน 12% และแป้งมันสำปะหลัง 17% ให้อาหาร 2 มื้อต่อวัน โดยให้ปลากินจนอิ่ม (satiation) ในช่วงเช้าประมาณ 8.00 น. และเย็นประมาณ 16.00 น.ให้อาหารติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

เก็บตัวอย่างไส้ติ่ง (pyloric caeca) และลำไส้ (intestine) ของปลา โดยในวันเก็บตัวอย่าง อดอาหารปลาเป็นเวลา 24-30 ชั่วโมง เพื่อให้ในทางเดินอาหารไม่มีอาหารเหลืออยู่ สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ชั่งน้ำหนักปลา จากนั้น ผ่าตัดส่วนของไขมันออก ตัดส่วนของไส้ติ่งและลำไส้ ใส่ในหลอดไมโครทิว (Microtube) ชั่งน้ำหนัก และแช่ตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวทันที

การสกัดเอนไซม์ (extraction enzyme) (Modified from Ihekoronye, 1986) เติม 50 mM Tris-Buffer saline + 5 mM $CaCl_2$ pH 8.0 ในสัดส่วน 1/5 W/V และบดตัวอย่างให้ละเอียด ด้วยแท่งบด โดยให้หลอดไมโครทิวแช่ในน้ำแข็งตลอดเวลา เมื่อตัวอย่างละเอียดดีนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที ในรอบแรก พยายามดูดส่วนของไขมัน

ทิ้ง และดูดส่วนใสใส่หลอดไมโครทิวอันใหม่ นำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ 12,000 รอบ/ นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที เก็บสารละลายส่วนใส (crude enzyme extract) ที่อุณหภูมิ 4ºC วัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์สกัด ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al*., 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) และเจือจางโปรตีนเท่ากับ 5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร ด้วย 50 mM Tris-Buffer saline + 5 mM $CaCl_2$ pH 8.0 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC เพื่อใช้สำหรับทำปฏิกิริยา

โดยการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* Protein Digestibility) (Modified from Ihekoronye, 1986) เตรียมซับเสตรท (substrate) คือ อาหารทดลอง ให้มีความเข้มข้นของโปรตีน 2.5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร โดยใช้ 50 mM Phosphate buffer pH 8.0 ดูดซับเสตรทที่เตรียมใส่ไมโครทิว ปริมาตร 500 µl เติม Chloramphenical 1% ปริมาตร 10 µl จากนั้นเติมเอนไซม์สกัด (ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร) ปริมาตร 50 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (26±1ºC) หมุนเหวี่ยงบนเครื่อง rotator ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 0 นาที และ 360 นาที หลังจากได้เวลาตามที่กำหนด หยุดปฏิกิริยาด้วย Trichloroacetic acid (TCA) 40% ปริมาตร 125 µl และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex นำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 10 นาที เก็บส่วนใส หรือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อย (digested product) ในไมโครทิว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอมิโนอิสระ (Free amino acid group) โดยใช้ TNBS's Method ตามวิธีการของ Benjakul and Morrissey (1997) ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอมิโนอิสระ วิเคราะห์โดย เจือจางผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยลง 10 เท่า ด้วย 50 mM Phosphate Buffer pH 8.0 ใช้ผลิตภัณฑ์ที่เจือจาง ปริมาตร 62.5 µl เติม 0.2125 M Phosphate Buffer pH 8.2 ปริมาตร 1,000 µl เติม 0.01% TNBS ปริมาตร 500 µl ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex นำไปบ่มใน water bath อุณหภูมิ 50ºC นาน 30 นาที โดยปิดตัวอย่างด้วยฟอยล์ เพื่อป้องกันแสง เมื่อครบเวลา หยุดปฏิกิริยาด้วย 0.1 M Sodium Sulphite 1,000 µl วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานลิวซีน (Leucine) (Benjakul and Morrissey, 1997) แสดงค่าที่วิเคราะห์ได้ในหน่วย mmole L-Leucine

การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate Digestibility) เตรียมซับเสตรท (Modified from Ihekoronye, 1986) คือ อาหารทดลองสูตรต่างๆ น้ำหนัก 10 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ละลายซับเสตรทด้วย 50 mM Phosphate buffer pH 8.0 ดูดซับเสตรทที่เตรียมได้ใส่หลอดไมโครทิว ปริมาตร 500 µl เติม Chloramphenical 1% ปริมาตร 10 µl จากนั้นเติมเอนไซม์สกัด (ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร) ปริมาตร 50 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (26±1ºC) หมุนเหวี่ยงบนเครื่อง rotator ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 0 นาที และ 360 นาที หลังจากได้เวลาตามที่กำหนด หยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดไมโครทิวแช่ในน้ำแข็งอุณหภูมิ 4ºC ทันที และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 10 นาที เก็บส่วนใส หรือ

ผลิตภัณฑ์ (digested product) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ reducing sugar ที่ได้จากการย่อย ตามวิธีการของ Supannapong และคณะ (2008) โดยวัดปริมาณทันทีหลังจากย่อยเสร็จ โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อย ปริมาตร 250 µl เติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1% ปริมาตร 250 µl ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำ 1.25 มิลลิลิตร และนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 540 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโตส (maltose) (Modified from Benfeld, 1951) แสดงค่าที่วิเคราะห์ได้ในหน่วย mmole maltose

วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์อะไมเลส ตามวิธีการของ Bergmeyer และคณะ (1974) (ภาคผนวก ค.) จากเอนไซม์สกัดที่เจือจาง ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร

3.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร ประสิทธิภาพการสะสมสารอาหาร องค์ประกอบทางเคมีในตัวสิ้นสุดการทดลอง ประสิทธิภาพการย่อยอาหารในปลา ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง และกิจกรรมของเอนไซม์ นำมาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's HSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5 ผลการทดลอง

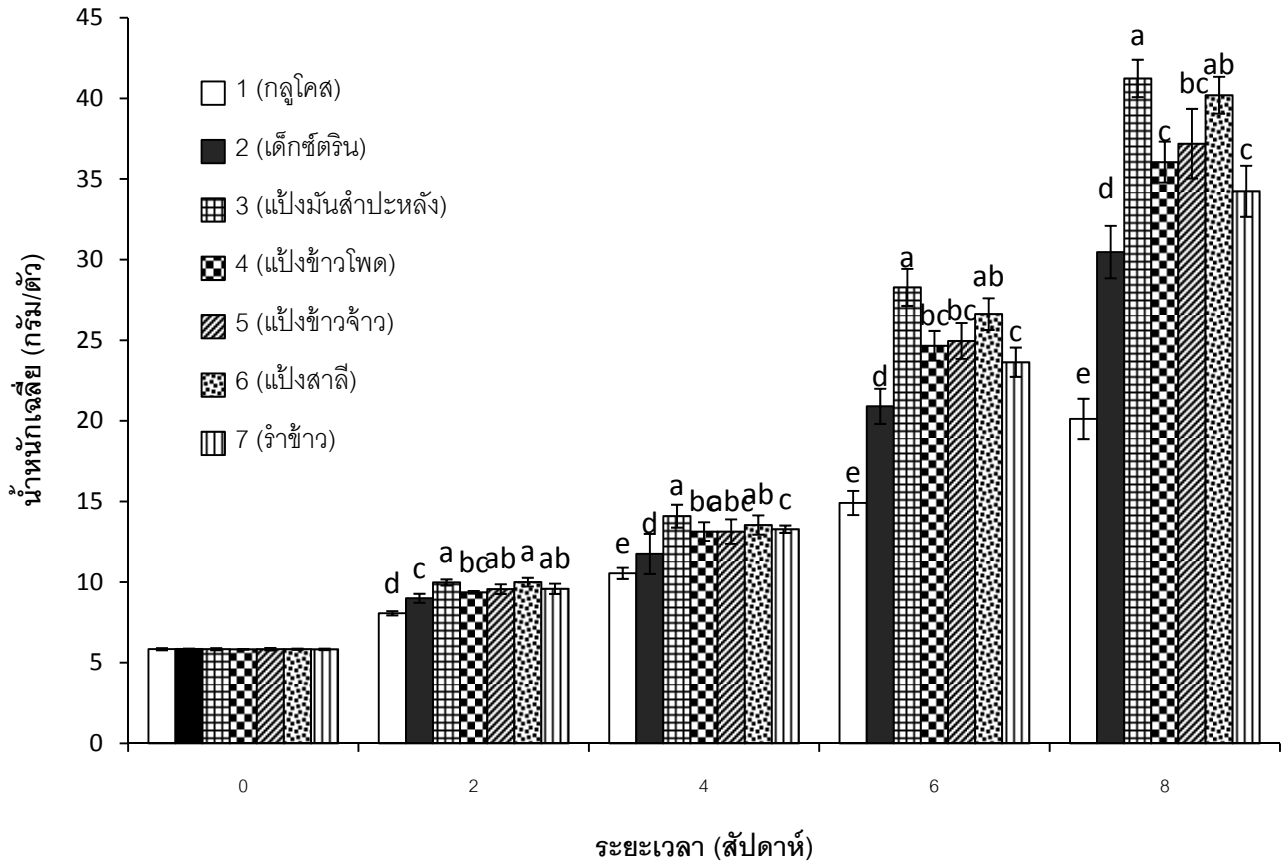
3.5.1 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลองที่มีชนิดคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด คือ กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าว พบว่า อาหารทดลองมีค่าโปรตีนอยู่ในช่วง 42.59-46.82 เปอร์เซ็นต์ ไขมันอยู่ในช่วง 10.31-15.09 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยอยู่ในช่วง 0.39-2.94 เปอร์เซ็นต์ เถ้าอยู่ในช่วง 13.17-15.26 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 5.15-14.16 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทร็ก อยู่ในช่วง 13.45-23.85 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวมอยู่ในช่วง 18.71-19.96 กิโลจูล/กรัม และสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงาน (P/E Ratio) อยู่ในช่วง 21.64-25.02 มิลลิกรัมโปรตีน/ กิโลจูล (ตารางที่ 3)

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมี พบว่า อาหารที่มีส่วนประกอบของกลูโคส มีค่าโปรตีนต่ำกว่าอาหารสูตรอื่นๆ คือ 42.59 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความชื้นสูงที่สุด เท่ากับ 14.16 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง มีค่าไขมันต่ำกว่าสูตรอื่นๆ คือ 10.31 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารที่มีรำข้าวเป็นส่วนประกอบมีค่าเยื่อใยและค่าเถ้าสูงที่สุด เท่ากับ 2.94 และ 15.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3.5.2 อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีชนิดของคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มมีความแตกต่างกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 1) หลังสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งมันสำปะหลัง มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายสูงที่สุด เท่ากับ 41.24±1.16 กรัม/ตัว รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว และเด็กซ์ตริน มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายเท่ากับ 40.20±1.41, 37.19±2.16, 36.05±1.27, 34.24±1.58 และ 30.47±1.63 กรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบของกลูโคส มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายต่ำที่สุด เท่ากับ 20.12±1.25 กรัม/ตัว ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งมันสำปะหลังมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว เด็กซ์ตรินและกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางภาคผนวกที่ ช.1)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม มีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย โดยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง เท่ากับ 605.84±23.46 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 588.92±24.12 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว และเด็กซ์ตริน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 537.18±44.84, 518.28±21.02, 486.72±22.79 และ 420.95±27.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มต่ำที่สุด เท่ากับ 244.92±25.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้ง 5 ชนิด คือ กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด และรำข้าว มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถติ (P<0.05) (ตารางที่ 4)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีแนวโน้มเช่นเดียวกับ น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง เท่ากับ 3.49±0.06 เปอร์เซ็นต์/วัน ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและแป้งข้าวจ้าว ที่มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 3.45±0.06 และ 3.30±0.13 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวโพด รำข้าว เด็กซ์ตริน และกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเฉพาะในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำสุด เท่ากับ 2.21±0.13 เปอร์เซ็นต์/วัน (ตารางที่ 4)

อัตราการรอดตาย ของปลาที่ได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด มีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แม้ว่าอัตราการรอดตายของปลาไม่มีความแตกต่างกันแต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว และแป้งสาลี มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับเด็กซ์ตรินและรำข้าว มีอัตราการรอดตาย 98.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีอัตราการรอดตายต่ำสุด เท่ากับ 96.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

สูตรอาหาร	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)		เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม[2]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ[3]	อัตราการรอดตาย[4]
	เริ่มต้น	สุดท้าย		(เปอร์เซ็นต์/วัน)	(เปอร์เซ็นต์)
1 (กลูโคส)	5.84±0.07	20.12±1.25^{e}	244.92±25.15^{e}	2.21±0.13^{e}	96.67±3.85
2 (เด็กซ์ตริน)	5.83±0.01	30.47±1.63^{d}	420.95±27.19^{d}	2.95±0.09^{d}	98.33±3.33
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	5.84±0.08	41.24±1.16^{a}	605.84±23.46^{a}	3.49±0.06^{a}	100.00±0.00
4 (แป้งข้าวโพด)	5.84±0.04	36.05±1.27^{c}	518.28±21.02^{c}	3.25±0.06^{bc}	100.00±0.00
5 (แป้งข้าวจ้าว)	5.85±0.03	37.19±2.16^{bc}	537.18±44.84^{bc}	3.30±0.13^{abc}	100.00±0.00
6 (แป้งสาลี)	5.84±0.07	40.20±1.41^{ab}	588.92±24.12^{ab}	3.45±0.06^{ab}	100.00±0.00
7 (รำข้าว)	5.83±0.05	34.24±1.58^{c}	486.72±22.79^{c}	3.16±0.07^{c}	98.33±3.33

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม = {[(น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (กรัม/ ตัว) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ ตัว))]/ (น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว))} x 100

[3] อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ =[(LN น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว) - LN น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ ตัว))/ จำนวนวันที่ทดลอง] x 100

[4] อัตราการรอดตาย =[จำนวนปลาที่เหลือ (ตัว) / จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)] x 100

3.5.3 ปริมาณการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

ปริมาณการกินอาหารของปลาที่ได้รับอาหารที่มีชนิดคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณการกินอาหารสูงสุด เท่ากับ 42.87±2.16 กรัม/ตัว ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี ซึ่งมีปริมาณการกินอาหาร เท่ากับ 40.13±1.57 กรัม/ตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด รำข้าว เด็กซ์ตริน และกลูโคส ซึ่งมีปริมาณการกินอาหารเท่ากับ 37.77±3.18, 37.11±1.91, 36.34±1.18, 31.76±2.85 และ 27.77±1.14 กรัม/ตัว ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีปริมาณการกินอาหารต่ำสุด (ตารางที่ 5)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงสุด คือ 1.95±0.10 และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด เท่ากับ 1.17±0.05 รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด รำข้าว และเด็กซ์ตริน ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 1.20±0.02, 1.21±0.04, 1.23±0.03, 1.28±0.06 และ 1.29±0.05 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่า ประสิทธิภาพการใช้อาหารมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี เท่ากับ 0.86±0.03 และไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวโพด ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร เท่ากับ 0.83±0.03, 0.83±0.02, 0.81±0.02 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย รำข้าว เด็กซ์ตริน และกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีประสิทธิภาพใช้อาหารต่ำที่สุด เท่ากับ 0.51±0.03 และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

สูตรอาหาร	น้ำหนักอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ[2]	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร[3]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[4]
1 (กลูโคส)	27.77±1.14^{d}	1.95±0.10^{b}	0.51±0.03^{c}	1.21±0.06^{c}
2 (เด็กซ์ตริน)	31.76±2.85^{cd}	1.29±0.05^{a}	0.78±0.03^{b}	1.76±0.06^{ab}
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	42.87±2.16^{a}	1.21±0.04^{a}	0.83±0.03^{ab}	1.89±0.06^{a}
4 (แป้งข้าวโพด)	37.11±1.91^{b}	1.23±0.03^{a}	0.81±0.02^{ab}	1.83±0.04^{a}
5 (แป้งข้าวจ้าว)	37.77±3.18^{b}	1.20±0.02^{a}	0.83±0.02^{ab}	1.83±0.04^{a}
6 (แป้งสาลี)	40.13±1.57^{ab}	1.17±0.05^{a}	0.86±0.03^{a}	1.89±0.08^{a}
7 (รำข้าว)	36.34±1.18^{bc}	1.28±0.06^{a}	0.78±0.047^{b}	1.67±0.08^{b}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ ตัว) / น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ ตัว)

[3] ประสิทธิภาพการใช้อาหาร = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ ตัว) / น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ ตัว)

[4] ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ ตัว) / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม/ ตัว)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งทั้ง 4 ชนิด คือ แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวโพด มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด อยู่ในช่วง 1.83-1.89 ซึ่งไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน ที่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน เท่ากับ 1.76±0.06 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว และกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำสุด เท่ากับ 1.21±0.06 (ตารางที่ 5)

3.5.4 ผลของระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในตัว (Intraperitoneal fat ratio: IPF) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI) และการสะสมไกลโคเจนในตับ (liver glycogen) หลังปลาได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง

ระดับน้ำตาลในเลือด หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง และเก็บเลือดเพื่อนำมาวัดระดับน้ำตาลในเลือด พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพด มีปริมาณน้ำตาลในเลือดสูงสุด เท่ากับ 6.83±1.43 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี แป้งมันสำปะหลัง รำข้าว เด็กซ์ตริน มีค่าเท่ากับ 6.44±1.47, 6.36± 1.58, 5.94±2.21, 5.51±1.13 และ 4.60±0.92 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำสุด เท่ากับ 2.82±0.91 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดมีระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี แป้งมันสำปะหลัง และรำข้าว อย่างมันัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับ เด็กซ์ตริน และกลูโคส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่6)

ดัชนีไขมันในช่องท้อง (IPF) ที่ได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด หลังการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินมีค่าดัชนีไขมันในช่องท้องสูงที่สุด เท่ากับ 4.62±0.81 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี และรำข้าว ซึ่งมีค่าดัชนีไขมันในช่องท้อง เท่ากับ 4.20±0.87 และ 3.55±1.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (P>0.05) แต่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง กลูโคส และแป้งข้าวจ้าว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว มีค่าดัชนีไขมันในช่องท้องต่ำสุด เท่ากับ 3.26±0.64 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

ดัชนีตับ (HSI) พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด มีค่าดัชนีตับอยู่ในช่วง 2.15-2.40 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 6)

การสะสมไกลโคเจนในตับ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีค่าไกลโคเจนในตับสูงที่สุด เท่ากับ 195.27±54.48 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับ 1 กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว ที่มีค่าไกลโคเจนในตับ เท่ากับ 172.17±31.93 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับ 1 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด และรำข้าว ซึ่งปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตทั้ง 5 ชนิดนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส (P<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี มีไกลโคเจนในตับต่ำที่สุด เท่ากับ 116.85±25.19 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับ 1 กรัม และแตกต่างจากปลาที่ได้รับกลูโคส แป้งข้าวจ้าว และเด็กซ์ตริน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 6)

3.5.5 กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase EC 2.7.1.40) กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase EC 3.1.3.9) และกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase EC 1.1.1.49) หลังปลากะพงขาวได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง

กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate kinase; Unit/mg protein) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน มีกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนสสูงที่สุด เท่ากับ 42.11±14.39 Unit/mg protein และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว ซึ่งมีค่ากิจกรรมไพรูเวทไคเนส 26.66±8.83 Unit/ mg protein ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวโพด ซึ่งมีกิจกรรมไพรูเวทไคเนส เท่ากับ 20.28±4.56, 14.71±8.71 และ 13.59±3.41 Unit/ mg protein ตามลำดับ (P>0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส และแป้งมันสำปะหลัง มีค่ากิจกรรมไพรูเวทต่ำที่สุด เท่ากับ 9.86±2.76 และ 8.28±1.90 Unit/ mg protein ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวโพด (P>0.05) (ตารางที่ 7)

กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสฟาเตส (mUnit/ mg protein) พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ มีกิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสฟาเตส สูงที่สุด เท่ากับ 1.49±0.40 mUnit/ mg protein และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว รำข้าว แป้งสาลี และเด็กซ์ตริน ตามลำดับ ซึ่งมีค่ากิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสฟาเตส อยู่ในช่วง 0.92-0.45 mUnit/ mg protein (ตารางที่ 7)

กิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Unit/ mg protein) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซ์ตริน และกลูโคส ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ มีกิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนสสูงสุด เท่ากับ 1.56±0.30 และ 1.50±0.42 Unit/ mg protein ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งสาลี และแป้งข้าวจ้าว ที่มีกิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส อยู่ในช่วง 1.23 – 1.06 Unit/ mg protein (P>0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว มีกิจกรรมกลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.79±0.23 Unit/ mg protein และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน และกลูโคส (P<0.05) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ผลของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในช่องท้อง (Intraperitoneal fat ratio: IPF , %) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI, %) และการสะสมไกลโคเจนในตับ หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง[1]

ชุดการทดลอง	น้ำตาลในเลือด[2] (มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร)	IPF (%)[3]	HSI (%)[4]	ไกลโคเจนในตับ มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับสด (กรัม)
1 (กลูโคส)	2.82±0.91^{c}	3.33±0.48^{b}	2.40±0.47^{a}	195.27±54.48^{a}
2 (เด็กซ์ตริน)	4.60±0.92^{bc}	4.62±0.81^{a}	2.28±0.47^{a}	158.79±33.12^{bc}
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	5.94±2.21^{ab}	3.37±0.62^{b}	2.23±0.40^{a}	150.45±19.70^{bcd}
4 (แป้งข้าวโพด)	6.83±1.43^{a}	3.53±0.72^{b}	2.22±0.33^{a}	127.37±13.44^{cd}
5 (แป้งข้าวจ้าว)	6.44±1.47^{ab}	3.26±0.64^{b}	2.15±0.37^{a}	172.17±31.93^{ab}
6 (แป้งสาลี)	6.36±1.58^{ab}	4.20±0.87^{ab}	2.23±0.38^{a}	116.85±25.19^{d}
7 (รำข้าว)	5.51±1.13^{ab}	3.55±1.05^{ab}	2.29±0.38^{a}	126.50±21.70^{cd}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=9) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] น้ำตาลในเลือด (มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร) = [(ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง 500 นาโนเมตร/ ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคสมาตรฐาน (100 มิลลิกรัม/ เดซิลิตร)) x 100] x 0.0056

[3] ดัชนีไขมันในช่องท้อง (IPF, %) = [ไขมันในช่องท้อง (กรัม)/ น้ำหนักปลา (กรัม)] x 100

[4] ดัชนีตับ (HSI, %) = [น้ำหนักตับ (กรัม) / น้ำหนักปลา (กรัม)] x 100

ตารางที่ 7 ผลของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate kinase; EC 2.7.1.40) กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: G6Pase; EC 3.1.3.9) และกลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: G6PDH; EC 1.1.1.49) หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	Pyruvate Kinase (Unit/mg protein)	G6Pase (mUnit/mg protein)	G6PDH (Unit/mg protein)
1 (กลูโคส)	9.86±2.76[c]	1.48±0.40[a]	1.50±0.42[a]
2 (เด็กซ์ตริน)	42.11±14.39[a]	0.45±0.26[b]	1.56±0.30[a]
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	8.28±1.90[c]	0.92±0.25[b]	1.23±0.24[ab]
4 (แป้งข้าวโพด)	13.59±3.41[bc]	0.85±0.36[b]	1.14±0.34[ab]
5 (แป้งข้าวจ้าว)	14.71±8.71[bc]	0.76±0.26[b]	1.06±0.29[ab]
6 (แป้งสาลี)	20.28±4.56[bc]	0.60±0.27[b]	1.08±0.14[ab]
7 (รำข้าว)	26.66±8.83[b]	0.71±0.29[b]	0.79±0.23[b]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=9) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

3.5.6 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (ADMD) พบว่า ปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของน้ำหนักแห้ง มีค่าอยู่ในช่วง 72.63-78.93 เปอร์เซ็นต์ โดยอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของน้ำหนักแห้งสูงสุด เท่ากับ 78.93±0.72 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่8)

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน (APD) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 89.05±0.38 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาคือ อาหารที่ประกอบด้วยแป้งทั้ง 4 ชนิด คือ แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว และแป้งสาลี ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งต่างๆ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสและเด็กซ์ตริน มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ต่ำที่สุด และมีความแตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วย

คาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน เท่ากับ 83.31±0.68 และ 82.85±0.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่8)

ประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมัน (ALD) ประสิทธิภาพการย่อยไขมันของปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตทั้ง 7 ชนิด มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันอยู่ในช่วง 82.04-89.87 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แม้ว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันต่ำสุด เท่ากับ 82.01±4.12 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของไขมันสูงสุด เท่ากับ 89.87±2.47 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง (ADMD) โปรตีน (APD) และไขมัน (ALD) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด

สูตรอาหาร	ADMD	APD	ALD
1 (กลูโคส)	78.93±0.72[a]	83.31±0.68[c]	82.04±4.12[a]
2 (เด็กซ์ตริน)	74.71±1.67[b]	82.85±0.98[c]	83.98±2.61[a]
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	74.12±0.22[b]	86.68±0.22[b]	89.87±2.47[a]
4 (แป้งข้าวโพด)	72.63±1.57[b]	86.50±0.78[b]	87.60±1.99[a]
5 (แป้งข้าวจ้าว)	72.72±0.91[b]	85.12±0.71[b]	88.91±2.40[a]
6 (แป้งสาลี)	74.63±0.09[b]	86.09±0.45[b]	86.02±2.85[a]
7 (รำข้าว)	72.94±1.70[b]	89.05±0.38[a]	83.70±4.20[a]

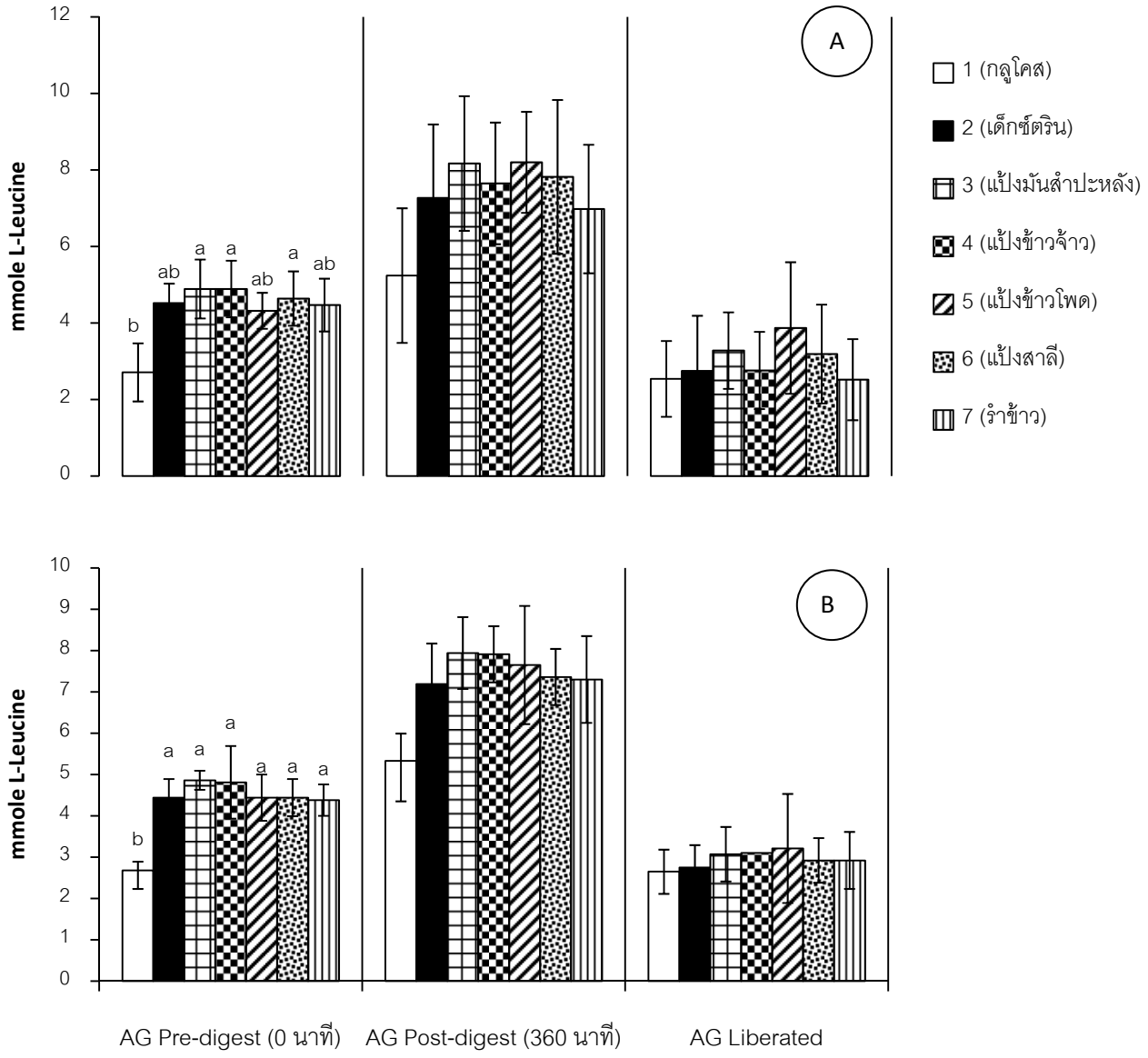
[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

3.5.7 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง ของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว

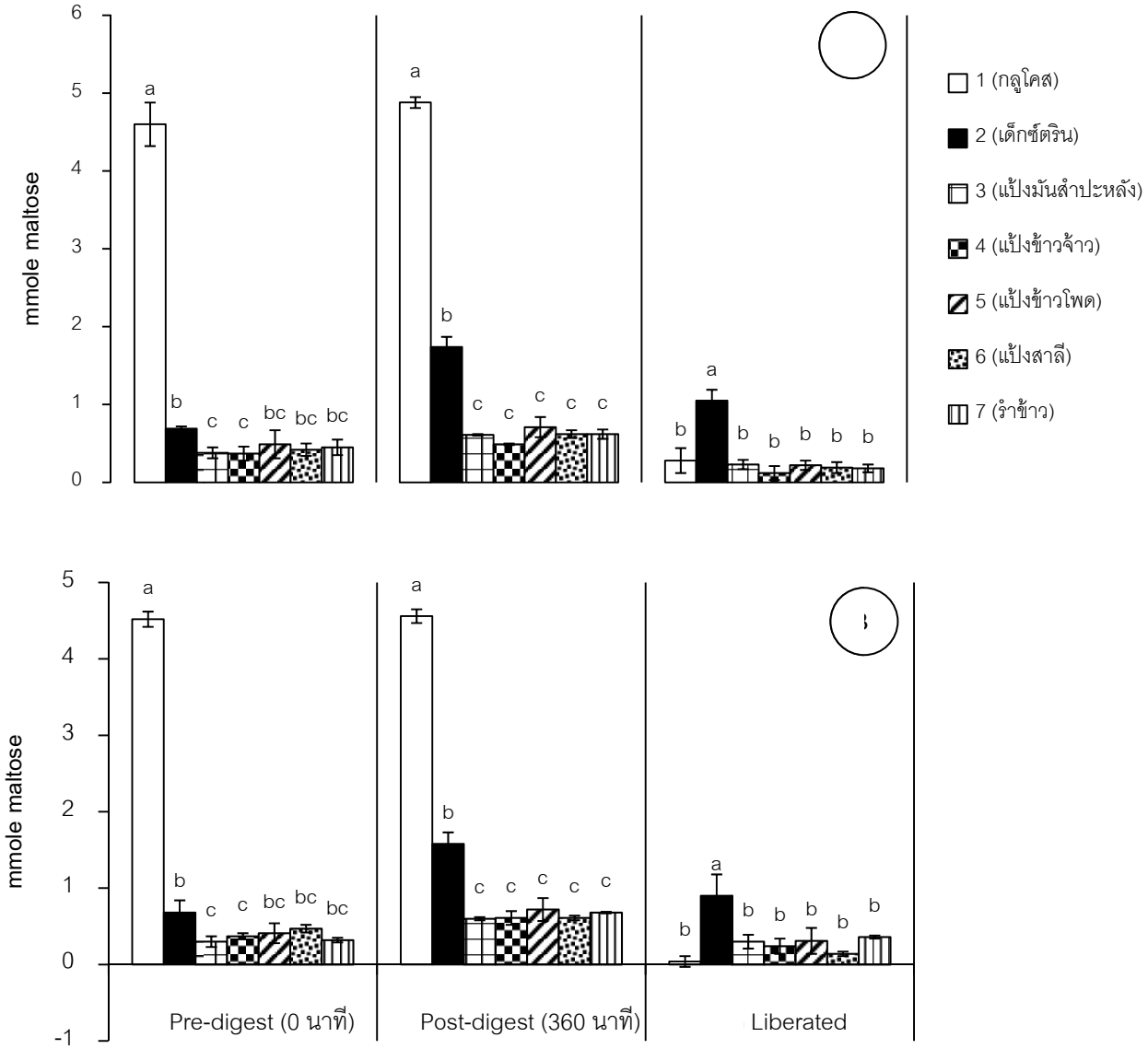
ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* protein digestibility) ระดับการย่อยโปรตีนในนาทีที่ 0 ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยกลูโคส มีระดับต่ำที่สุด ($P<0.05$) ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ มีระดับการย่อยได้ในนาทีที่ 0 ไม่แตกต่างกัน และมีค่ามากกว่าอาหารที่มีส่วนประกอบของกลูโคส แต่เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์สกัดเป็นเวลา 360 นาที แม้ว่าอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ยังคงมีค่าที่ต่ำกว่าอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อดูผลผลิตที่ได้จากการย่อยโปรตีน (360 นาที- 0 นาที) พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้ง 7 ชนิด มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ภาพที่ 2)

ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) พบว่า โครงสร้างโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต ($P<0.05$) การย่อยโดยเอนไซม์ที่สกัดจากไส้ติ่ง พบว่า ผลผลิตที่เวลาเริ่มต้น (0 นาที) ของอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีค่าสูงสุด เท่ากับ 4.60±0.07 mmole maltose และแตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมา คือ อาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน แป้งข้าวจ้าว รำข้าว และแป้งสาลี มีผลผลิตที่ได้จากการย่อยอยู่ในช่วง 0.42-0.69 mmole maltose ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังและแป้งข้าวโพด มีผลผลิตในนาทีที่ 0 ต่ำสุด มีค่าอยู่ในช่วง 0.37-0.38 mmole maltose และแตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคสและเด็กซ์ตริน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หลังผ่านการย่อยเป็นระยะเวลา 360 นาที พบว่าผลผลิตการย่อยคาร์โบไฮเดรตของอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ยังคงมีค่าสูงสุด แต่ไม่แตกต่างจากนาทีที่ 0 มากนัก รองลงมา คือ อาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน ที่มีผลผลิตเพิ่มขึ้นมากกว่า 1 เท่า ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนจำพวก แป้งชนิดต่างๆ และรำข้าว มีผลผลิตการย่อยได้ที่นาที 360 รองลงมาจากกลูโคสและเด็กซ์ตริน และแตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสและเด็กซ์ตริน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาผลผลิตที่ได้จากการย่อย (360 นาที – 0 นาที) พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน มีผลผลิตที่ได้จากการย่อยสูงที่สุด เท่ากับ 1.05±0.14 mmole maltose และแตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์สกัดจากลำไส้ พบว่ามีแนวโน้มคล้ายกับการย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง โดย ผลผลิตที่ได้จากการย่อย (360 นาที-0 นาที) ของอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินมีค่ามากที่สุด คือ 0.90±0.28 mmole maltose รองลงมา คือ อาหารที่ประกอบด้วยแป้งชนิดต่างๆ และรำข้าว ที่มีผลผลิตจาการย่อยอยู่ในช่วง 0.14-0.36 mmole maltose ส่วนอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีผลผลิตที่ได้จาการย่อยต่ำที่สุด เพียง 0.04 mmole

maltose และจากผลการศึกษาโดยรวมของประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน มีผลผลิตที่ได้จากการย่อยสูงสุด รองลงมา คือ แป้งชนิดต่างๆ และรำข้าว ส่วนกลูโคส มีผลผลิตที่ได้จากการย่อยต่ำที่สุด เนื่องจาก โครงสร้างของโมเลกุลเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ไม่ต้องการการย่อยด้วยเอนไซม์ จึงมีผลผลิตจากการย่อยของอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีค่าต่ำสุด (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด โดย A คือ เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง และ B คือ เอนไซม์สกัดจากลำไส้ ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง (ตารางภาคผนวกที่ ช.3)



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด โดย A คือ เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง และ B คือ เอนไซม์สกัดจากลำไส้ ใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง (ตารางภาคผนวกที่ ช.4)

3.5.8 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา

องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า องค์ประกอบของความชื้นในปลาเริ่มต้นการทดลองมีค่ามากกว่าในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง แต่องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีน ไขมัน เถ้า และพลังงาน ของปลาสิ้นสุดการทดลองมีค่าสูงกว่าปลาเริ่มต้นการทดลอง

ความชื้น ในปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่าเท่ากับ 75.38±0.52 เปอร์เซ็นต์ แต่ปลาสิ้นสุดการทดลองมีองค์ประกอบของความชื้นในตัวลดลง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้ง 7 ชนิด มีองค์ประกอบของความชื้นในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง อยู่ในช่วง 70.25-71.19 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 9)

โปรตีน องค์ประกอบของโปรตีนในปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่า 16.19±0.11 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลอง พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีองค์ประกอบของโปรตีนในตัวต่ำกว่าปลาเริ่มต้นการทดลอง โดยมีองค์ประกอบของโปรตีนในตัวต่ำที่สุด เท่ากับ 16.08±0.29 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าว มีองค์ประกอบของโปรตีนสิ้นสุดการทดลองสูงกว่าปลาเริ่มต้นการทดลอง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 17.14-17.77 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตทั้ง 6 ชนิด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 9)

ไขมัน จากผลการศึกษา พบว่า ไขมันในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองมีค่าสูงกว่าในตัวปลาเริ่มต้นการทดลอง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้ง 7 ชนิด ไม่มีความแตกต่างขององค์ประกอบของไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง4.62-6.16 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่า องค์ประกอบของไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลองจะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีองค์ประกอบของไขมันสิ้นสุดการทดลองสูงสุด เท่ากับ 6.16±0.87 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

เถ้า พบว่า ปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตทั้ง 7 ชนิด มีองค์ประกอบของเถ้าในตัวสิ้นสุดการทดลองสูงกว่าปลาเริ่มต้นการทดลอง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคสและแป้งข้าวโพด มีองค์ประกอบของเถ้าในตัวสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด เท่ากับ 4.37±0.23 และ 4.36±0.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าว ซึ่งมีองค์ประกอบของเถ้าอยู่ในช่วง 3.88-4.18 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน ซึ่งมีองค์ประกอบของเถ้าในตัวต่ำที่สุด เท่ากับ 3.76±0.24 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) (ตารางที่ 9)

พลังงาน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีชนิดคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด มีองค์ประกอบของพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) มีค่าอยู่ในช่วง 6.42-6.60 กิโลจูล/ กรัม ซึ่งมีค่าสูงกว่าปลาเริ่มต้นการทดลอง (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ฐานน้ำหนักสด)[2]

ชุดการทดลอง	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)				พลังงาน
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	(กิโลจูล/ กรัม)
ปลาเริ่มทดลอง[1]	65.77±0.92	16.19±0.11	3.93±0.34	3.83±0.20	4.83±0.10
1 (กลูโคส)	54.38±1.82^{b}	16.08±0.29^{b}	6.16±0.87	4.37±0.23^{a}	6.60±0.27
2 (เด็กซ์ตริน)	59.40±2.37^{a}	17.14±0.38^{a}	5.34±1.05	3.76±0.24^{b}	6.43±0.17
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	59.90±1.57^{a}	17.52±0.34^{a}	5.49±0.13	4.15±0.24^{ab}	6.58±0.21
4 (แป้งข้าวโพด)	61.31±1.69^{a}	17.66±0.59^{a}	4.62±0.77	4.36±0.23^{a}	6.45±0.29
5 (แป้งข้าวจ้าว)	60.78±0.89^{a}	17.66±0.18^{a}	5.53±0.39	3.88±0.13^{ab}	6.42±0.13
6 (แป้งสาลี)	59.17±1.72^{a}	17.59±0.23^{a}	5.82±0.75	4.18±0.16^{ab}	6.49±0.24
7 (รำข้าว)	60.57±1.79^{a}	17.77±0.55^{a}	6.04±0.76	4.15±0.32^{ab}	6.48±0.26

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

3.5.9 ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน

ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE; Protein Retention Efficiency) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนต่ำสุด เท่ากับ 19.72±1.30 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซ์ตริน แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว แป้งสาลี และรำข้าว มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยอาหารที่มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนสูงสุด คือ แป้งสาลี โดยมีค่าเท่ากับ 34.21±1.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวโพด เด็กซ์ตริน และรำข้าว ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนอยู่ในช่วง 31.32-34.01 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (LRE; Lipid Retention Efficiency) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง มีประสิทธิภาพการสะสมไขมันสูงสุด เท่ากับ 46.77±2.13 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี มีประสิทธิภาพการสะสมไขมัน เท่ากับ 38.50±7.05 เปอร์เซ็นต์ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง ไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส เด็กซ์ตริน แป้งข้าวโพด แป้งข้าวจ้าว และรำข้าว ไม่มีความแตกต่างของประสิทธิภาพการสะสมไขมันจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีประสิทธิภาพการสะสมไขมันต่ำสุด คือ 29.04±4.65 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

ประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (ERE; Energy Retention Efficiency) ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี มีประสิทธิภาพการสะสมพลังงานสูงสุด เท่ากับ 32.24±2.50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวจ้าว แป้งมันสำปะหลัง และเด็กซ์ตริน มีประสิทธิภาพการสะสมพลังงานอยู่ในช่วง 29.33-30.68 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวโพด รำข้าว และกลูโคส ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีประสิทธิภาพการสะสมพลังงานต่ำที่สุด เท่ากับ 20.23±1.29 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างจากปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein Retention Efficiency: PRE, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid Retention Efficiency: LRE, %) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (Energy Retention Efficiency: ERE, %) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	(เปอร์เซ็นต์)		
	PRE[2]	LRE[3]	ERE[4]
1 (กลูโคส)	19.72±1.30[b]	29.04±4.65[b]	20.23±1.29[c]
2 (เด็กซ์ตริน)	31.69±1.90[a]	32.65±6.46[b]	29.33±0.98[ab]
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	34.01±1.05[a]	46.77±2.13[a]	29.49±0.51[ab]
4 (แป้งข้าวโพด)	33.47±2.00[a]	30.46±5.74[b]	28.85±0.90[b]
5 (แป้งข้าวจ้าว)	33.88±0.96[a]	34.17±2.73[b]	30.68±0.86[ab]
6 (แป้งสาลี)	34.21±1.39[a]	38.50±7.05[ab]	32.24±2.50[a]
7 (รำข้าว)	31.32±2.33[a]	34.74±4.47[b]	28.63±1.37[b]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] PRE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x โปรตีนในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x โปรตีนในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ โปรตีนรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

[3] LRE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x ไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x ไขมันในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ ไขมันรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

[4] ERE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x พลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x พลังงานในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ พลังงานรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรต 7 ชนิด คือ กลูโคส (glucose) เด็กซ์ตริน (dextrin) แป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) แป้งข้าวโพด (corn starch) แป้งข้าวจ้าว (rice flour) แป้งสาลี (wheat flour) รำข้าว (rice bran) ต่ออัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารในปลากะพงขาว ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน (complexity carbohydrate) เกิดจากพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะมิโลส: amylose) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะมิโลเพคติน: amylopectin) ทั้ง 4 ชนิด คือ แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาลี แป้งข้าวจ้าว และแป้งข้าวโพด มีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีที่สุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว ซึ่งนอกจากเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนแล้ว ยังมีส่วนประกอบของเยื่อใยในส่วนประกอบของวัตถุดิบที่สูง เด็กซ์ตริน เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ผ่านความร้อน และทำให้เกิดการย่อยมาแล้วบางส่วน และกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีโครงสร้างเล็กที่สุด ตามลำดับ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการกินอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเจริญเติบโตต่ำที่สุด ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลี มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาถึงการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร พบว่า อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี มีค่าการใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลี พบว่า แป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) มีองค์ประกอบของโปรตีน 0.7เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.46 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรต ประมาณ 89.53 เปอร์เซ็นต์ แต่แป้งสาลีมีองค์ประกอบของโปรตีน 15.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแป้งสาลีไปเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารจะช่วยลดการใช้วัตถุดิบโปรตีนในอาหารลงได้ 1-2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาอัตราการกินอาหาร พบว่า แม้ปริมาณการกินอาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี ประมาณ 2.5 กรัม/ ตัว แต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อคำนวณการใช้ประโยชน์จากอาหาร ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีจึงมีประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีกว่าปลาที่ได้รับแป้งชนิดอื่นๆ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถการใช้แป้งของปลา คือ อัตราส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในแป้งที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อการย่อยได้ของสารอาหาร (Hemre *et al*., 2002; Rawles and Lochman, 2003; Svihus *et al*., 2005;

Sá *et al*., 2008) ซึ่งการมีองค์ประกอบของอะไมโลสที่สูง มีความเกี่ยวข้องกับการลดการย่อยได้ (Svihus *et al*., 2005 อ้างโดย Sá *et al*., 2008) ในปลาชนิดต่างๆ การใช้ประโยชน์จากแป้งอย่างมีประสิทธิภาพ ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของอะไมโลสต่ออะไมโลเพคติน (Sá *et al*., 2008) โดยแป้งที่มีองค์ประกอบของอะไมโลสสูง ทำให้ปลาย่อยได้น้อย (Svihus *et al*., 2005) โดย Cui และคณะ (2010) ได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการใช้แป้งข้าวโพด (corn starch) และแป้งสาลี (wheat starch) ในปลาช่อนทะเล (*Rachycentron canadum*) พบว่า ปลาช่อนทะเล สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งสาลีเพื่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ดีกว่าแป้งข้าวโพด เนื่องจาก มีอัตราส่วนของอะไมโลสต่ออะไมโลเพคตินในโครงสร้างแป้งที่ต่ำกว่า โดยแป้งข้าวโพด (normal maize starch) โดยทั่วไปประกอบด้วย อะไมโลส 18-33 เปอร์เซ็นต์ และอะไมโลเพคติน 67-82 เปอร์เซ็นต์ (Buléon *et al*., 1998 อ้างโดย Sá *et al*., 2008) และแป้งสาลี (wheat bread and wheat flour) มีอะไมโลส 28.4 เปอร์เซ็นต์ อะไมโลเพคติน 71.6 เปอร์เซ็นต์ (Fredrikssan *et al*., 1998) นอกจากนี้ โครงสร้างภายในเม็ดแป้ง (granule) ของแป้งสาลี ง่ายต่อการทำลายด้วยกระบวนการผลิตภายในโรงงานอุตสาหกรรม และส่งผลทำให้เอนไซม์อะไมเลสเข้าไปย่อยได้ง่ายขึ้น (Bergot, 1993 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) นอกจากนี้ ปริมาณการกินอาหารของปลาเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการได้รับสารอาหารและการเจริญเติบโต ซึ่งปลาที่ได้รับทั้งแป้งข้าวโพดและแป้งข้าวจ้าว มีการปริมาณการกินอาหารที่ต่ำกว่าปลาที่ได้รับแป้งมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จึงส่งผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากปลาที่ได้รับแป้งมันสำปะหลัง

สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าวชนิดไม่สกัดน้ำมัน (rice bran) แม้จะมีอัตราการเจริญเติบโตรองลงมาจากที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง แต่น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่มีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งชนิดต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องมาจากโครงสร้างและองค์ประกอบของวัตถุดิบ ที่มีองค์ประกอบของเยื่อใย (fiber) สูงกว่าวัตถุดิบชนิดอื่นๆ ซึ่งอาจส่งผลทางลบต่อประสิทธิภาพการย่อย การดูดซึม และประสิทธิภาพการใช้อาหาร โดย Shiau (1997) ได้ศึกษาในปลานิล (hybrid tilapia) (*Oreochromis niloticus x O. aureas*) พบว่า การดูดซึมคาร์โบไฮเดรตในลำไส้มีค่าต่ำ เมื่ออาหารมีส่วนประกอบของเยื่อใย (fiber) และ Valente และคณะ (2010) ศึกษาในปลาแบล็คสปอตซีบรีม (blackspot seabream , *Pagellus bogaraveo*) พบว่า ข้าวสาลี (wheat meal) และรำข้าวสาลี (wheat bran) มีความแตกต่างกันในส่วนขององค์ประกอบในตัววัตถุดิบ คือ เยื่อใย (fiber) และแป้ง (starch) ที่มักมีผลต่อการย่อยและลดการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารชนิดอื่น (Hilton *et al*., 1983; Anderson *et al*., 1984; Fynn-aikins *et al*., 1992; NRC, 1993; Lee *et al*., 2003) แต่อย่างไรก็ตาม ปลากิเบลคาร์ป (gibel carp) (

Carrassius auratus gibelio) ซึ่งเป็นปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ (omnivorous) ที่ได้รับอาหารที่มีเซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบ 20 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี (Tan *et al*., 2006) เพราะระดับของเยื่อใยที่เหมาะสมในอาหาร สามารถทำให้อาหารในลำไส้เดินทางช้าลง จึงช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหารเข้าไปใช้ในร่างกาย และปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้ในระดับสูงกว่าปลากินเนื้อ เนื่องจากมีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในทางเดินอาหารที่สูง (Hidalgo *et al*., 1993; Kumar *et al*., 2008) และมีจำนวนและความจำเพาะของ Insulin receptor ที่สูงกว่า (Parrizas *et al*., 1994; Banos *et al*., 1998 อ้างโดย Kumar *et al*., 2008) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ในปลากะพงขาวซึ่งเป็นปลากินเนื้อ การใช้รำข้าวชนิดไม่สกัดน้ำมันในระดับ 17 เปอร์เซ็นต์ อาจจะเป็นระดับที่สูงเกินไป เพราะลักษณะทางกายภาพของปลากะพงขาว คือ มีลำไส้สั้น และอาจจะมีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ต่ำ จึงทำให้ไม่สามารถใช้รำข้าวเพื่อเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตได้ดี สอดคล้องกับผลการศึกษาในส่วนของการใช้ประโยชน์จากโปรตีนที่มีระดับต่ำในอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าวชนิดไม่สกัดน้ำมัน เนื่องจากปลาไม่สามารถใช้แหล่งพลังงานจากรำข้าวได้ดี จึงมีการนำพลังงานจากส่วนของโปรตีนมาใช้เป็นพลังงาน ทำให้ปลาไม่สามารถนำโปรตีนไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ต่ำไปด้วย

ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินที่มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำกว่าปลาที่ได้รับแป้งและรำข้าว แสดงให้เห็นว่าปลากะพงขาวไม่สามารถใช้เด็กซ์ตรินเพื่อเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและไขมัน พบว่ามีระดับต่ำกว่าปลากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเกิดจากเนื่องจากโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตของเด็กซ์ตรินเป็นวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยความร้อนมาแล้วบางส่วน มีผลทำให้พันธะหรือสายคาร์โบไฮเดรตคลายเกลียว ทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยและทำปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น ส่งผลต่อการย่อยและการดูดซึมที่เร็วขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการเคลื่อนที่ของอาหารในทางเดินที่เร็วขึ้น ทำให้มีการย่อยที่มีประสิทธิภาพต่ำลง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบที่มีอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำที่สุด พบว่า ปลากะพงสามารถใช้เด็กซ์ตรินได้ดีกว่ากลูโคส ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาในปลาหลายชนิด เช่น ปลาไชนีสลองเสนาท์ แคทฟิช (Chinese longsnout catfish, *Leiocassis longirostris* Günter) ที่ได้รับเด็กซ์ตรินและซูโครส มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเซลลูโล (cellulose) โซลูเบิลสตาร์ช (soluble starch) และกลูโคส ในระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ตามลำดับ (Tan *et al*., 2006) ปลาสไตร์ปแบส (striped bass, *Morone saxatilis*) ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับ กลูโคส เซลลูโลส และมอลโตส ตามลำดับ (Rawles and Gatlin III, 1998) ปลาซันไชน์แบส (sunshine bass, *Morone chrysops* Female x *M.*

saxatilis Male) ระยะวัยรุ่น ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินในระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 11 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 2 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส (Hutchins *et al*., 1998) และปลา ฟลาวเดอร์ (flounder, *Paralichthys olivaceus*) ระยะวัยรุ่น ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน 25 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมา คือ เด็กซ์ตริน 15 เปอร์เซ็นต์ และมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการสำรองโปรตีน และประสิทธิภาพการสำรองพลังงานดีที่สุด ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับกลูโคสในระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำที่สุด (Lee *et al*., 2003).

ในการศึกษาครั้งนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีปริมาณการกินอาหารต่ำที่สุด ($P<0.05$) เมื่อปลากินอาหารได้น้อยย่อมส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Deng และคณะ (2005) ซึ่งศึกษาในปลาสเตอร์เจี้ยน (sturgeon, *Acipenser transmontanus*) จากการศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ ปลามีอัตราการกินอาหารที่ต่ำ อาจเนื่องมาจากความไม่น่ากินของอาหาร เพราะเมื่อผสมกลูโคสลงในอาหาร ทำให้อาหารมีลักษณะเหนียว เยิ้ม ความชื้นสูง และอาหารมีกลิ่นไม่ชวนกินเท่ากับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ เมื่อปลามีอัตราการกินอาหารที่ต่ำ ย่อมส่งผลต่อการได้รับโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามินและแร่ธาตุไม่เพียงพอในการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต (Ellis and Reigh, 1991; Silverstein *et al*., 1999; Watanabe *et al*., 2001; Borba *et al*., 2006) และมีผลต่ออัตราการรอดตายที่ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ ถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Cui และคณะ (2010) ที่ศึกษาในปลาช่อนทะเล (*R. canadum*) ที่ได้รับอาหารประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการรอดตายต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เนื่องจากปลากินเนื้อที่ได้รับอาหารที่มีระดับกลูโคสสูง นอกจากมีปริมาณการกินอาหารที่ต่ำแล้ว ยังไม่สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่ได้รับได้อย่างเต็มที่ เนื่องจากปลาไม่สามารถจัดการกับกลูโคสส่วนเกินได้ และมีผลทำให้ปลาอยู่ภายใต้สภาวะเครียดจากการเผาผลาญ (metabolic stress) ตลอดเวลา (Pieper and Pfeffer, 1980) และมีผลไปกดทับระบบภูมิคุ้มกันที่ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลา (Maule *et al*., 1989; Wiik *et al*., 1989; Cui *et al*., 2010) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลาชนิดต่างๆ ที่ได้รับอาหารที่กลูโคส แล้วปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ต่ำสุด (Furuichi and Yone, 1982 อ้างโดย Cui *et al.,* 2010; Anderson *et al*., 1984; Wilson, 1994; Shiau and Peng, 1997; Hutchins *et al*., 1998; Wu *et al*., 2007d) เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างอย่างง่ายเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) เช่น กลูโคส ซึ่งการย่อยได้ของกลูโคสมีค่าสูง (ADC > 90 เปอร์เซ็นต์) (Buddington, 1987 อ้างโดย Stone *et al.,* 2003a)

สอดคล้องกับผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate Digestibility) ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ ที่พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตตั้งแต่นาทีที่ 0 ได้สูงสุด แต่เมื่อผ่านไป 360 นาที ค่าประสิทธิภาพการย่อยก็ยังคงได้เท่าเดิม หรืออาจเพิ่มขึ้นเพียงนิดเดียว แต่เมื่อคำนวณถึงผลผลิตที่เกิดขึ้น มีค่าเกือบเท่ากับ 0 mmole maltose ซึ่งเป็นผลมาจากโครงสร้างของกลูโคสซึ่งเป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุด ไม่ต้องการการย่อยด้วยเอนไซม์ในทางเดินอาหารก่อนจะมีการดูดซึม จึงอยู่ในรูปพร้อมใช้ที่สามารถลำเลียงกลูโคสเข้าสู่ร่างกายได้โดยตรง และรวดเร็ว แต่มีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำ เนื่องจาก “negative physiological effect” จากกลูโคสที่อิ่มตัวมากเกินไป (Pieper and Pfeffer, 1980) ต่างจากคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน (complex carbohydrate) กลุ่มโพลีแซคคาไรด์ เช่น แป้งหรือเด็กซ์ตริน จำเป็นต้องผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ภายในทางเดินอาหารก่อนที่จะมีการดูดซึม เช่น การศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้าท์ ถ้าใส่เด็กซ์ตรินในอาหาร 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่า ADC เท่ากับ 77.2 เปอร์เซ็นต์ (Singh and Nose, 1967 อ้างโดย Wilson, 1994) ส่วนแป้งข้าวโพด (corn starch) ถ้าใส่ในอาหาร 12.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าการย่อยได้ เท่ากับ 72.8 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร 25 เปอร์เซ็นต์ ค่าการย่อยได้ของอาหารจะลดลงเหลือ 60.9 เปอร์เซ็นต์ (Saad, 1989 อ้างโดย Wilson, 1994) ดังนั้น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ถูกดูดซึมเข้าไปในระบบทางเดินอาหารจะเร็วกว่ากลูโคสที่มาจากคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน ซึ่งการดูดซึมกลูโคสที่เร็วมากเกินไป มีผลทำให้กลูโคสปริมาณมากเข้าสู่ร่างกายก่อนที่จะมีการยกระดับของกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้คาร์โบไฮเดรตในกระบวนการเมแทบอลิซึมให้เพียงพอต่อการนำกลูโคสไปใช้ ซึ่งทำให้มีข้อจำกัดในการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้สูง และมีผลทำให้การใช้น้ำตาลจากโมเลกุลอิสระมีค่าต่ำในปลา นอกจากนี้กลูโคสปริมาณมาก อาจหายไปจากระบบหมุนเวียนเลือดก่อนที่เซลล์ในร่างกายนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ (Hilton and Atkinson, 1982; Lin and Shiau, 1995; Lin *et al*., 1997 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) ซึ่งเห็นได้จากข้อมูลการตอบสนองในเลือด (glycemic response) ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างรวดเร็วหลังการกินอาหาร ดังที่พบในการศึกษาครั้งนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำที่สุดเพียง 2.82 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร หลังการกินอาหารแล้ว 6 ชั่วโมง ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน จำพวกแป้งชนิดต่างๆ มีระดับน้ำตาลในเลือด 5.94-6.83 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร สูงกว่าปลาที่ได้รับกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปลาช่อนทะเล โดยปลาได้รับอาหารที่ประกอบด้วย กลูโคส ซูโครส มอลโตส เด็กซ์ตริน แป้งข้าวโพด และแป้งสาลี ในระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำสุด เท่ากับ 18.73 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร แตกต่างจากปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งมีระดับน้ำตาลในเลือดอยู่ในช่วง 23.90-32.05 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (Cui *et al*., 2010) โดย Pieper

และ Pfeffer (1980) ชี้ให้เห็นว่า การดูดซึมกลูโคสเข้าไปจำนวนมาก อาจขับถ่ายออกมาก่อนที่จะมีอินซูลิน (insulin) ในระดับที่เพียงพอที่จะนำกลูโคสไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในอาหาร (Furuichi and Yone, 1981; Hilton and Atkinson, 1982 อ้างโดย Cui *et al*., 2010)

ระดับน้ำตาลในเลือดของของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินมีระดับที่ใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับแป้งชนิดต่างๆ และรำข้าว ($P>0.05$) ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Cui และคณะ (2010) ที่ศึกษาในปลาช่อนทะเล โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีค่าน้ำตาลในเลือดและพลาสมาไตรกลีเซอไรด์ (plasma triglyceride) ต่ำกว่าปลาที่ได้รับ มอลโตส ซูโครส เด็กซ์ตริน แป้งข้าวโพด และแป้งสาลี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตริน แป้งข้าวโพด และแป้งสาลีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) น้ำตาลในเลือดในการศึกษาครั้งนี้ มีค่าอยู่ในช่วง 2.82- 6.83 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ซึ่งช่วงปกติของน้ำตาลในเลือด ไม่มีการกำหนดอย่างชัดเจนในปลาสายพันธุ์ต่างๆ (Hemre *et al*., 2002 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) ซึ่งระดับน้ำตาลในเลือดในการศึกษาครั้งนี้คล้ายกับการศึกษาในปลาคอด (Cod) ซึ่งมีค่าระหว่าง 2 และ 7 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (Hemre *et al*., 1993 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) ปลาแซลมอน มีค่าระหว่าง 3 ถึง 10 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (Arnesen *et al*., 1995; Hemre *et al*., 14995; Hemre and Hansen, 1998 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) แต่มีค่าต่ำกว่าในปลานิล ซึ่งมีค่าน้ำตาลในเลือดประมาณ 11 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (Hemre *et al*., 2002 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) และปลาช่อนทะเล มีระดับน้ำตาลในเลือด 18.73 ถึง 32.05 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (Cui *et al*., 2010) จากการศึกษาระดับน้ำตาลในเลือดทำให้เห็นภาพที่ชัดเจนขึ้นของการใช้ประโยชน์ได้ของคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ ในอาหาร โดยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่มีค่าต่ำ ในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสเป็นเพราะส่วนกลูโคสที่ดูดซึมไว้เป็นปริมาณมาก เข้าไปสู่ระบบเลือด จากนั้นเข้าไปสู่เซลล์เพื่อใช้กลูโคสให้เกิดประโยชน์แต่อาจมีปริมาณอินซูลินที่ไม่เพียงพอ อาจมีการขับทิ้งออกก่อนที่จะมีการนำกลูโคสไปใช้ให้เกิดประโยชน์ (Pieper and Pfeffer, 1980; Hilton and Atkinson, 1982 อ้างโดย Tan *et al*., 2006) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่คาร์โบไฮเดรตมีโครงสร้างซับซ้อน หลังการกินอาหาร 6 ชั่วโมง พบว่า มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนจะค่อยๆ ย่อยและดูดซึม จึงน่าจะมีอินซูลินที่เพียงพอที่จะนำกลูโคสจากโครงสร้างของแป้งไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้ปลาที่ได้รับแป้งชนิดต่างๆ มีการเจริญเติบโตที่ดี ยกเว้นปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพด โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพดและปลาที่ได้รับแป้งชนิดอื่นๆ พบว่า ปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพด มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปลาที่ได้รับแป้งชนิดอื่นๆ หลังอาหารมื้อสุดท้าย 6 ชั่วโมง อาจเนื่องโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ยากกว่าแป้งชนิดอื่นๆ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต เพราะเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับแป้งด้วยกันแล้ว ปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพดมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด Wilson (1994) กล่าวว่า ปลาที่

ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ต่ำสุด โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสหรือแป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อให้โครงสร้างของแป้งย่อยได้ง่ายขึ้น เช่น แป้งสุก (gelatinized starch)หรือเด็กซ์ตริน มักมีอาการน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลายาวนาน (prolonged hyperglycemia) และเมื่อทดสอบความต้านทานกลูโคส (glucose tolerance test) พบว่าความต้านทานกลูโคสมีความสัมพันธ์กับความไม่สามารถใช้น้ำตาลที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กลูโคสได้ในระดับสูง ซึ่งสัมพันธ์กับปัจจัยดังนี้ 1. มีกิจกรรมเอนไซม์ Hexokinase ที่ต่ำและขาดการเหนี่ยวนำด้วยเอนไซม์ glucokinase 2. กลูโคสมีความสำคัญน้อยกว่ากรดแอมิโนในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน 3. ปลามีปริมาณหรือจำนวนของ insulin receptors น้อยกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 4. ความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง insulin โดย somatostatin ในระหว่างที่มีน้ำตาลในเลือดสูง ดังนั้น การขาดแคลนการเหนี่ยวนำ glucokinase และการมีกิจกรรมเอนไซม์ Hexokinase ที่ต่ำ (low km) แสดงให้เห็นว่า ปลาสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ดี เนื่องจาก มีการย่อยและการดูดซึมเข้าไปในร่างกายอย่างช้าๆ ในขณะที่ น้ำตาลที่มีโครงสร้างอย่างง่าย ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวดูดซึมอย่างรวดเร็ว มีผลทำให้น้ำตาลในเลือดสูง (Tung and Shiau, 1991) และมีผลลดกิจกรรมเอนไซม์ Hexokinase เนื่องจากมีปฏิกิริยาการยับยั้งโดย glucose-6-phosphate และมีผลทำให้ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีอัตราการเจริญเติบโตได้ต่ำสุด ส่วนความแตกต่างของค่าน้ำตาลในเลือด ที่มีค่าอยู่ในช่วงกว้างระหว่างสายพันธุ์ปลา เนื่องมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์ปลา เช่นปลากินเนื้อ (carnivorous) หรือปลาที่กินทั้งพืชทั้งเนื้อ (omnivorous) ความแตกต่างของช่วงอายุปลา วิธีการศึกษา เช่น อุณหภูมิขณะทดลองหรืออุณหภูมิขณะเก็บเลือด ระยะเวลาในการให้อาหาร หรือวิธีการให้อาหารก่อนการเก็บเลือด (Hemre *et al*., 2002)

ดัชนีไขมันในช่องท้อง (IPF) ดัชนีตับ (HSI) และไกลโคเจนในตับ แสดงให้เห็นว่าแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลีเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ดี ทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี โดยมีการสะสมเป็นไขมันในช่องท้อง ดัชนีตับ และไกลโคเจนสะสมในตับในระดับต่ำ เนื่องจากการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต หากไม่ได้มีการใช้เป็นแหล่งพลังงานจะทำให้มีการสะสมในตับ อาจเป็นไขมันหรือไกลโคเจน นอกจากนี้ อาจนำไปสะสมเป็นไขมันในตัว หลังจากที่มีการเปลี่ยนรูปแล้ว (Brauge et al., 1994; Fu, 2005) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินและกลูโคส พบว่าปลาไม่สามารถใช้เด็กซ์ตรินเพื่อการเจริญเติบโตได้ดี โดยมีการสะสมไขมันในช่องท้องสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำสุด แต่มีค่าดัชนีตับและไกลโคเจนในตับสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่งผลให้น้ำหนักแห้งในตัวสูง แต่มีปริมาณโปรตีนในตัวต่ำกว่าปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ คล้ายกับการศึกษาในปลาฟลาวเดอร์ ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำสุด และมีค่าไกลโคเจนในตับสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตจากแหล่งอื่นๆ อาจเพราะการดูดซึมกลูโคสที่มากเกินไป ไม่

สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดี จึงเกิดการสะสมเป็นไกลโคเจนในตับ (Lee *et al*., 2003) เช่นเดียวกับการศึกษาในปลากิเบลคาร์ปและปลาไชนีสลองเสนาท์แคทฟิช ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสและเด็กซ์ตริน มีค่าไกลโคเจนในตับสูงกว่าซูโครสหรือแป้งโซลูเบิล (Tan *et al*., 2006) และในปลาช่อนทะเล Cui และคณะ (2010) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีค่า HSI และ VSI สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีตับมีความสัมพันธ์กับการสะสมเป็นไกลโคเจนในตับ โดยในปลาฟลาวเดอร์ พบว่า ค่าดัชนีตับมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับไกลโคเจนในตับ ($r = 0.88$; $P<0.05$) ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาในปลาหลายชนิด (Hung *et al*., 1990; Fynn-Aikins *et al*., 1992; Hutchins *et al*., 1998; Lee *et al*., 2003) ในการศึกษาครั้งนี้พบสหสัมพันธ์ทางบวกระหว่างดัชนีตับและไกลโคเจนในตับในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ในปลากะพงขาวการปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำข้าว (rice bran) นอกจากมีดัชนีตับที่สูงแล้ว ยังมีองค์ประกอบของไขมันในตัวสูงกว่าปลาที่ๆได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าคาร์โบไฮเดรตที่ดูดซึมได้นอกจากใช้เป็นแหล่งพลังงานยังสามารถเปลี่ยนรูปด้วยกระบวนการลิโปจีนีซิส (lipogenesis) เป็นไขมันสะสมในตัวหรือในตับ (Mokoginta *et al*., 2004) เช่นเดียวกับผลการศึกษาในปลาปลาแบล็คสปอตซีบรีม (Blackspot seabream, *P. bogavaveo*) ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยรำสาลี (wheat bran) เหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มไขมันในตับอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี (Valente *et al*., 2010)

การศึกษาครั้งนี้ศึกษากิจกรรมเอนไซม์ 3 ชนิด ซึ่งเป็นตัวแทนของกิจกรรมหลัก 3 กระบวนการ คือ กิจกรรมเอนไซม์ Pyruvate kinase (PK) (เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนำกลูโคสไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน, glycolysis) กิจกรรมเอนไซม์ glucose-6-phosphatase (G6Pase) (เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่, gluconeogenesis) และกิจกรรมเอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase: G6PDH (เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนำสารอาหารไปสังเคราะห์เป็นไขมัน, lipogenesis) โดยการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ glycolysis และ pentose phosphate pathway (หรือกระบวนการ lipogenesis) สามารถใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์ทางบวก ระหว่างความซับซ้อนของโครงสร้างคาร์โบไฮเดรต อัตราการเจริญเติบโตรวมถึงประสิทธิภาพการใช้อาหาร คือ น้ำหนักที่เพิ่ม ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการสำรองหรือสะสมพลังงาน คือ ดัชนีของไขมันในช่องท้องและองค์ประกอบของไขมันในตัว (Hutchins *et al*., 1998) โดยปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตที่มีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริฐเติบโตที่ดี จะมีการเหนี่ยวนำกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ glycolysis และ lipogenesis ที่สูง และลดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis ส่วนคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ทำให้ปลาที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำ จะทำให้กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ

กระบวนการ gluconeogenesis สูงขึ้น คือ ต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ (Panserat *et al*., 2000; Caseras *et al*., 2002 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) การศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในตับ แสดงผลที่ชัดเจนในคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างย่อยง่าย เช่น กลูโคสและเด็กซ์ตริน ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำสุด พบว่า เด็กซ์ตรินสามารถเหนี่ยวนำกิจกรรมเอนไซม์ PK ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ glycolysis ได้สูงสุด และมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis คือ G6Pase ที่ต่ำ ส่วนเด็กซ์ตรินและกลูโคส ยังเหนี่ยวนำกิจกรรมเอนไซม์ G6PDH ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ lipogenesis ได้สูงกว่าปลาที่ได้รับแป้งชนิดต่างๆ ซึ่ง G6PDH เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการทำงานของกระบวนการแอนาบอลิซึม (anabolism) คือ การเผาผาญพลังงานเพื่อเปลี่ยนสารต่างๆ ให้มีความซับซ้อนขึ้น เพื่อสร้างเป็นเนื้อเยื่อภายในตัวหรือภายในตับ เพราะเกิดการกระตุ้น 2 ปฏิกิริยาพร้อมกัน ปฏิกิริยาที่เกิดในกระบวนการ pentose phosphate pathway และเตรียมอย่างละ ½ ปฏิกิริยา เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ไขมัน เทียบเท่ากับการสร้าง ribose-5-phosphate ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์และกรดนิวคลีอิก (Towle *et al*., 1997 อ้างโดย Cui *et al*., 2010) และจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า กลูโคสและเด็กซ์ตรินมีผลการเหนี่ยวนำกิจกรรมเอนไซม์ G6PDH ได้สูงไม่แตกต่างกัน เป็นการเหนี่ยวนำสารอาหารให้เกิดการสังเคราะห์ไขมันในตัว แต่อาจจะมีกลไกการสะสมไขมันที่แตกต่างกัน โดยปลาที่ได้รับกลูโคสมีผลทำให้เกิดการสะสมไขมันในองค์ประกอบตัวที่สูงแต่มีผลไม่ชัดเจนในการสะสมเป็นไขมันในช่องท้อง ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซ์ตรินมีการสะสมไขมันในช่องท้องที่สูงแต่มีผลการสะสมไขมันในตัวไม่สูง สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลาช่อนทะเลที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคสมีกิจกรรมเอนไซม์ G6PDH ที่สูงและมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับองค์ประกอบของไขมันในตัว (Cui *et al*., 2010) และในปลากิลเฮด ซีบรีม เมื่อได้รับอาหารที่มีระดับคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น มีกิจกรรมของ G6PDH สูงขึ้นเป็นสัดส่วนกับองค์ประกอบของไขมันในตัวที่เพิ่มขึ้น (Metón *et al*., 1999 อ้างโดย Couto *et al*., 2008; Fernández *et al*., 2007; Enes *et al*., 2008) และสอดคล้องกับปลาหลายสายพันธุ์ (Hung *et al*., 1989; Hung and Strorebakken, 1994 อ้างโดย Cui *et al*., 2010; Enes *et al*., 2006) ซึ่งกลูโคสที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย นอกจากใช้เป็นแหล่งพลังงานยังสามารถเปลี่ยนรูปเป็นไขมันสะสมในตัวหรือตับโดยกระบวนการ lipogenesis (Mokoginta *et al*., 2004) และกลูโคสที่ถูกดูดซึมอาจไม่ได้นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทั้งหมด แต่อาจนำไปสะสมเป็นไขมันหรือไกลโคเจนหลังการเปลี่ยนรูปแล้ว (Brauge *et al*., 1994; Lanari *et al*., 1999; Cui *et al*., 2010) ในการศึกษาครั้งนี้ กลูโคสมีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำสุด มีกิจกรรม G6Pase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis สูงที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทำให้ทราบว่าปลากะพงขาวไม่สามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานในอาหารได้ดี ทำให้ต้องมีการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่จากสารตัวกลางที่ได้จากการสลายกรดอะมิ

โน เช่นเดียวกับการศึกษาในปลาเก๋าโดย Shiau และ Lin (2002) ซึ่งพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส เมื่อวัดกิจกรรมเอนไซม์ภายในตับ พบว่า กิจกรรมเอนไซม์ hexokinase (glycolysis) และ G6PDH ในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส มีกิจกรรมเอนไซม์ G6Pase สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ hexokinase และG6Pase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ glycolysis และ gluconeogenesis ตามลำดับ ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ hexokinase ภายในตับที่สูง และกิจกรรกมเอนไซม์ G6Pase ที่ต่ำ ในปลาที่ได้รับแป้งมากกว่าปลาที่ได้รับกลูโคส แสดงว่าปลาเก๋าสามารถใช้แป้งเพื่อการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้กลูโคส ดังนั้น การเตรียมอาหารให้มีระดับพลังงานหรือมีคาร์โบไฮเดรตจากแหล่งคาร์โบไฮเดตที่เหมาะสม จึงเป็นการเตรียมกระบวนการ glycolysis ขั้นกลางสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ที่สำคัญ (Greiner *et al*., 1994 อ้างโดย Hutchins *et al*., 1998) จะช่วยลดกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ gluconeogenesis (Hemre *et al*., 2002) ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสำรองโปรตีน

จากการศึกษาประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน และประสิทธิภาพการสะสมพลังงานในปลากะพงขาวครั้งนี้ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลีเป็นส่วนประกอบในอาหาร มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (LRE) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (ERE) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น แสดงให้เห็นว่าปลา 2 กลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสำรองโปรตีน (protein sparing effect) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้สูงสุด Hemre และคณะ (2002) ได้รายงานว่าการเกิดการสำรองโปรตีน วัดจากการเพิ่มขึ้นของการสะสมโปรตีน (protein retention) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสุทธิ (ANPU) ของปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพดที่ไม่ผ่านความร้อน (non-gelatinize corn starch) มีค่าสูงกว่าแป้งข้าวโพดสุก (gelatinize corn starch) ($P<0.05$) แสดงถึง การสำรองโปรตีนในอาหาร (Kumar *et al*., 2006) ซึ่งสัตว์น้ำสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนให้มีประสิทธิภาพสูงสุดได้ ถ้าพัฒนาอาหารโดยการแทนที่โปรตีนบางส่วนด้วยคาร์โบไฮเดรตและไขมันที่เหมาะสมในอาหาร เพื่อให้เกิดการสำรองโปรตีน ซึ่งคาร์โบไฮเดรตที่ถูกดูดซึมอาจใช้เป็นแหล่งพลังงานทันที หรือเก็บไว้ในรูปของไกลโคเจนในตับหรือในกล้ามเนื้อ รวมทั้งสังเคราะห์เป็นสารประกอบอื่นๆ เช่น ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น และบางส่วนอาจมีการขับทิ้ง (Furuichi, 1983; Lovell, 1988 อ้างโดย Stone *et al*., 2003b) ในทางตรงกันข้าม ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส นอกจากมีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ต่ำสุด ยังมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ไขมัน และพลังงานต่ำ

ที่สุด ซึ่งเป็นข้อยืนยันว่าปลากะพงขาวไม่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กลูโคส เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในอาหารได้ดี ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาในปลาส่วนใหญ่ เมื่อได้รับกลูโคสในระดับสูง มีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้ง แม้ว่าการย่อยได้ของกลูโคสมีค่าสูง (Lee and Lee, 2004; Fu, 2005,2007) เนื่องจาก การดูดซึมกลูโคสในอาหารที่เร็วเกินไป มีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็วทุกครั้งที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส ซึ่งส่งผลอันตรายจากการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา (Stone, 2003b)

3.7 **สรุปผลการศึกษา**

ปลากะพงขาวสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อน คือ แป้งมันสำปะหลัง และแป้งสาลีได้ดีที่สุด โดยทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารรวมถึงประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และยังเกิดผลการสำรองโปรตีนได้ดีที่สุด โดยอาหารมีโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ และแป้งที่ระดับ 17 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร แต่แป้งสาลีมีความเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตในอาหารสำหรับปลากะพงขาว เนื่องจาก แป้งสาลีมีโปรตีนค่อนข้างสูงประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น ถ้ามีการนำไปใช้สร้างสูตรอาหาร จะสามารถลดการใช้แหล่งโปรตีนหลักในอาหารลงได้ประมาณ 2-3 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทำให้ต้นทุนอาหารสัตว์น้ำลดต่ำลงได้

บทที่ 4

การทดลองที่ 2 ระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสำรองโปรตีน ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* digestibility) และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมในการใช้คาร์โบไฮเดรตในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

4.1 บทคัดย่อ

ศึกษาระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงขาว โดยจัดชุดการทดลองแบบแฟคโทเรียล 5x2 รวม 10 ชุดการทดลอง ประกอบด้วยระดับคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้งสาลี 5 ระดับ โดยเพิ่มที่ระดับ 5 % ควบคู่กับการลดระดับโปรตีนรวมในอาหารระดับละ 3% ดังนี้ แป้งสาลี (โปรตีน) %: 15 (45), 20 (42), 25 (39), 30 (36) และ 35 (33)% โดยใช้แป้งสาลี 2 รูปแบบ คือ แป้งดิบ (raw starch) และแป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน หรือ แป้งสุก (gelatinized starch) แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 4 ซ้ำ เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 6.79±0.01 กรัม/ ตัว โดยให้อาหารจนอิ่ม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในน้ำจืด จากการศึกษาพบว่า ทุกชุดการทดลองมีอัตรารอดตาย 100% (P>0.05) ปลามีอัตราการกินอาหารที่ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) และรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร (P>0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% และโปรตีน 39% มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-20% และโปรตีนรวม 42-45% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ซึ่งแสดงถึงผลการสำรองโปรตีน (protein sparing effect) ที่ดีกว่าอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง (โปรตีน 42-45%) (P<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำสุด (P<0.05) ขณะที่ผลการทดสอบย่อยโปรตีนในหลอดทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) นอกจากนี้การทดสอบย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองและการสะสมไกลโคเจนในตับพบว่ามีระดับสูงในอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีสุกและเพิ่มขึ้นตามระดับการเพิ่มแป้งสาลี (P<0.05) มีผลของอิทธิพลร่วมของระดับแป้งและรูปแบบของแป้งต่อระดับน้ำตาลในเลือดและดัชนีไขมันในช่องท้อง (P<0.05) ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลาง พบว่า การเพิ่มระดับแป้งสาลีมีผลเพิ่มกิจกรรม PK (P<0.05) และลดกิจกรรม G6Pase (P<0.05) แต่ระดับแป้งและรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ G6PDH (P>0.05) ดังนั้น แป้งสาลีที่ระดับ 25% และโปรตีนรวม 39%

เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว ทำให้สามารถลดการใช้โปรตีนในอาหารได้ 3.50% ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลากะพงขาว

4.2 บทนำ

การศึกษาแหล่งวัตถุดิบพลังงานทางเลือก เป็นสิ่งที่ควรคำนึงสำหรับความยั่งยืนในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวหรืออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆ ซึ่งปัจจุบันมีอัตราการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจและการผลิตที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Tacon, 2003) ถึงแม้จะไม่มีการศึกษาความต้องการคาร์โบไฮเดรตในอาหารสำหรับปลาแต่ละชนิดอย่างชัดเจน แต่การผลิตอาหารให้มีคาร์โบไฮเดรตในระดับที่เพียงพอ ถือเป็นความสำคัญ เพื่อที่จะลดการนำโปรตีนและไขมันซึ่งมีราคาสูงกว่ามาสลายเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน และการเตรียมให้อาหารมีระดับคาร์โบไฮเดรตที่เพียงพอยังมีความสำคัญเพื่อใช้ในการเตรียมกระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นกลาง (metabolic intermediates) สำหรับการสังเคราะห์สารประกอบชีวโมเลกุลที่สำคัญต่างๆ ทั้งนี้ คาร์โบไฮเดรตยังช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของเม็ดอาหารให้ดีขึ้น (Wilson, 1994) เป็นที่ทราบกันว่า โปรตีนเป็นแหล่งวัตถุดิบหลักในอาหารปลากินเนื้อ และมีราคาแพงที่สุด โดยระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงขาว อยู่ในช่วง 42.5-50 เปอร์เซ็นต์ (Sakara *et al.,* 1988, 1989 อ้างโดย Glencross, 2006; Catacutan and Coloso, 1995) การแทนที่โปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตหรือไขมันเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน ไม่เพียงแต่เป็นการลดราคาอาหารสัตว์น้ำลง แต่ยังมีผลในการลดระดับไนโตรเจนส่วนเกินที่เป็นของเสีย ซึ่งมีผลเสียต่อคุณภาพน้ำ และระบบการเพาะเลี้ยง อีกทั้งยังสามารถลดมลพิษที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงลงได้ ซึ่งการนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสามารถทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้สูงสุด และเกิดการสำรองโปรตีน (protein sparing effect) (Hemre *et al.,* 2002; Stone, 2003) อีกทั้งคาร์โบไฮเดรตยังหาได้ง่าย เป็นแหล่งพลังงานพร้อมใช้ที่มีราคาถูกกว่าไขมัน แม้ว่า ไขมันจะเป็นแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนที่สำคัญ (non-protein energy) สำหรับปลา (Kaushik *et al.,* 1989) ดังนั้น คาร์โบไฮเดรต จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์น้ำ

ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตของปลาชนิดต่างๆ มีความแตกต่างกันค่อนข้างมาก (Wilson, 1994; Stone *et al.,* 2003 part III) เนื่องจากโครงสร้างระบบทางเดินอาหารภายในตัวปลาที่แตกต่างกัน (Krogdahl *et al.,* 2005) โดยปลากินเนื้อ (carnivorous fish) มีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตค่อนข้างจำกัด นอกจากนี้ ความสามารถในการย่อยขึ้นอยู่กับ แหล่งและชนิดของคาร์โบไฮเดรต ระดับของคาร์โบไฮเดรต และเทคโนโลยีที่นำมาประยุกต์ใช้ (technological treatment applied) ในกระบวนการทำให้แป้งสุก (gelatinization) หรือกระบวนการ extrusion (Wilson, 1994; Hemre *et al.,* 2002; Stone, 2003) โดยแป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโครงสร้างซับซ้อน ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดใหญ่ 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylase) และอะไมโล

เพคติน (amylopectin) โดยอะไมโลส มีลักษณะพิเศษ คือเป็นโครงสร้างสายตรง ในขณะที่อะไมโลเพคติน มีโครงสร้างที่เป็นกิ่งก้าน ซึ่งแป้งดิบ (raw or normal or native starch) (Fernández *et al.,* 2007; Enes *et al*., 2008; Sá *et al.,* 2008) โดยทั่วไป ประกอบด้วย อะไมโลส 18-33% และอะไมโลเพคติน 72-80% (Buléon *et al*., 1998) มีรายงานว่าเป็นแหล่งพลังงานที่ไม่ดี เนื่องจาก สามารถย่อยได้ต่ำ (Enes *et al*., 2006) และการมีอะไมโลสที่สูง มีความเกี่ยวข้องกับการลดการย่อยได้ (Svihus *et al*., 2005) ในขณะที่ แป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน หรือที่เรียกว่าแป้งสุก (gelatinized starch) สามารถปรับปรุงการย่อยได้ของแป้ง ซึ่งเป็นการปรับเปลี่ยนแกรนูล (granule) ของโครงสร้างแป้ง ซึ่งทำให้เอนไซม์เข้าทำงานได้มากขึ้น (Watson and Johnson, 1965; Bergot, 1993) และมีรายงานว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุก (ผสมอาหารในระดับ 20-30%) ทำให้การเจริญเติบโตของปลากิลท์เฮดซีบรีมและปลาเรนโบว์เทราท์ดีขึ้น (Banós *et al.,* 1998; Alvarez *et al*., 1999; Venou *et al.,* 2003; Fernández *et al.,* 2007) การศึกษาในปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุกในระดับต่ำ (แป้งดิบ 80: แป้งสุก 20) มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุกสูง (แป้งดิบ 0: แป้งสุก 100) แต่อาหารที่มีระดับแป้งสุกสูงเกินไป แสดงถึง การสะสมไกลโคเจนในตับและน้ำตาลในเลือดในระดับสูง ซึ่งส่งผลให้ปลาเครียดเนื่องจากอาหารในระยะยาว ดังนั้น แป้งสุกในระดับต่ำจึงเหมาะสมต่อปลายี่สกเทศ (Kumar *et al.,* 2007)

การศึกษาชนิดคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์จากอาหาร ในบทที่ 3 คาร์โบไฮเดรตที่ปลากะพงขาวสามารถย่อยได้และนำสารอาหารไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ดี คือ คาร์โบไฮเดรตชนิดที่มีโครงสร้างซับซ้อน (complex carbohydrate) จำพวกแป้งชนิดต่างๆ แต่แป้งที่ปลาสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต และมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีนประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนที่ดี ซึ่งแสดงถึงการสำรองโปรตีน ทำให้สามารถใช้แทนที่โปรตีนได้บางส่วน คือ แป้งสาลี ดังนั้น จึงมีความสำคัญในการผลิตอาหารให้มีระดับและรูปแบบของแป้งสาลีที่เหมาะสมในอาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาว เพื่อใช้แป้งสาลีเป็นแหล่งพลังงานในอาหารแทนการใช้แหล่งพลังงานจากโปรตีน ซึ่งอาจส่งผลให้ลดระดับโปรตีนในอาหารลง โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเป็นการลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับปลากะพงขาวได้

4.3 วัตถุประสงค์

4.3.1 เพื่อศึกษาระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสำรองโปรตีน ในปลากะพงขาว

4.3.2 เพื่อศึกษาระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro digestibility*)

4.3.3 เพื่อศึกษาระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตต่อกิจกรรมเอนไซม์ในทางเดินอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลางในการใช้คาร์โบไฮเดรต

4.4 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

4.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) จัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล โดยใช้อาหารที่มีส่วนประกอบพื้นฐานใกล้เคียงกัน และใช้ชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่ปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีที่สุดจากผลการทดลองที่ 1 คือ แป้งสาลี ที่ระดับ 15, 20, 25, 30 และ 35% ของอาหาร ควบคู่กับลดระดับโปรตีนในอาหารลงระดับละ 3% ดังนี้ แป้งสาลี (โปรตีนรวม)%: 15 (45), 20 (42), 25 (39), 30 (36) และ 35 (33)% ตามลำดับ โดยนำแป้งสาลีผ่านกระบวนการให้ความร้อน 2 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1 ไม่ผ่านความร้อน (แป้งดิบ: raw starch) และรูปแบบที่ 2 ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 120ºC 30 นาที ร่วมกับความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว (แป้งสุก: gelatinized starch) รวมอาหารทดลอง 10 สูตร สูตรละ 4 ซ้ำ ใช้ตู้ทดลองขนาด 40×60×50 เซนติเมตร จำนวน 40 ตู้ ปลาจำนวน 15 ตัวต่อตู้ ทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

4.4.2 การเตรียมปลาสำหรับการทดลอง

นำปลากะพงขาวความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 0.5 กรัม/ ตัว จำนวน 4,000 ตัว อนุบาลในน้ำจืดในถังไฟเบอร์กลาสทรงกลมขนาดความจุ 1 ตัน จำนวน 4 ถัง โดยปล่อยปลาถังละประมาณ 1,000 ตัว และให้ออกซิเจนตลอดเวลา โดยให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับอนุบาลปลากะพงขาว วันละ 2 มื้อ เพื่อฝึกให้ปลาเคยชินกับอาหารสำเร็จรูป เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน และคัดขนาดปลาทุกๆ 7 วัน เพื่อให้ปลามีขนาดใกล้เคียงกัน และลดปัญหาปลากินกันเอง เนื่องจากปลากะพงมีนิสัยชอบกินปลาที่มีขนาดเล็กกว่า จากนั้น คัดปลาที่มีน้ำหนักประมาณ 4 กรัม จำนวน 20 ตัว ใส่ตู้ทดลองที่มีความจุน้ำ 100 ลิตร จำนวน 42 ตู้ แล้วเริ่มฝึกปลาให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและการทดลอง โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ จนปลาอิ่ม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้น คัดปลาที่มีลักษณะเข้ากับสภาพแวดล้อมการทดลองได้ดีและยอมรับอาหาร ขนาดประมาณ 5-6 กรัม/ตัว จำนวน 15 ตัว/ตู้ โดยชั่งน้ำหนักรวม ก่อนชั่งปลา สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร/ น้ำ 1 ลิตร บันทึก

ข้อมูลน้ำหนักเริ่มต้น และเริ่มการทดลอง โดยใช้อาหารอนุบาลผสมกับอาหารทดลอง โดยค่อยๆ ปรับให้อาหารทดลองเป็น 100% ซึ่งใช้ระยะเวลา ประมาณ 3 วัน

4.4.3 การเตรียมอาหารทดลอง

4.4.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารใช้เป็นวิธีการของ (AOAC, 1999)

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหาร การทดลองที่ 2

วัตถุดิบ	องค์ประกอบทางโภชนาการ (เปอร์เซ็นต์)					
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น	เยื่อใย	NFE
ปลาป่น	68.00±0.69	14.65±0.22	11.30±0.06	7.12±0.13	0.24±0.03	-1.31
เครื่องในปลาทูน่าป่น	67.88±0.37	12.93±1.37	6.40±0.24	17.40±0.17	0.22±0.07	-4.83
กากถั่วเหลือง	49.92±1.01	3.32±0.54	6.76±0.07	8.07±0.11	2.91±0.20	29.02
แป้งสาลี	13.95±0.26	1.14±0.03	0.74±0.01	10.85±0.38	0.12±0.00	73.2

4.4.3.2 อาหารทดลองและการเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลอง 10 สูตร มีแป้งสาลีที่ผ่านความร้อน 2 รูปแบบ และมีระดับต่างกันดังนี้

สูตรที่ 1 แป้งสาลี 15% โปรตีนรวม 45% ในรูปแบบแป้งดิบ (raw starch)

สูตรที่ 2 แป้งสาลี 15% โปรตีนรวม 45% ในรูปแบบแป้งสุก (gelatinized starch)

สูตรที่ 3 แป้งสาลี 20% โปรตีนรวม 42% ในรูปแบบแป้งดิบ (raw starch)

สูตรที่ 4 แป้งสาลี 20% โปรตีนรวม 42% ในรูปแบบแป้งสุก (gelatinized starch)

สูตรที่ 5 แป้งสาลี 25% โปรตีนรวม 39% ในรูปแบบแป้งดิบ (raw starch)

สูตรที่ 6 แป้งสาลี 25% โปรตีนรวม 39% ในรูปแบบแป้งสุก (gelatinized starch)

สูตรที่ 7 แป้งสาลี 30% โปรตีนรวม 36% ในรูปแบบแป้งดิบ (raw starch)

สูตรที่ 8 แป้งสาลี 30% โปรตีนรวม 36% ในรูปแบบแป้งสุก (gelatinized starch)

สูตรที่ 9 แป้งสาลี 35% โปรตีนรวม 33% ในรูปแบบแป้งดิบ (raw starch)

สูตรที่ 10 แป้งสาลี 35% โปรตีนรวม 33% ในรูปแบบแป้งสุก (gelatinized starch)

ในส่วนของโปรตีนใช้แหล่งโปรตีนจาก 3 แหล่ง คือ ปลาป่น เครื่องในปลาทูน่าป่น และกากถั่วเหลืองชนิดสกัด โดยระดับเครื่องในปลาทูน่าป่นใช้ระดับที่สามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นจากการศึกษาของสุภาพร (2549) และระดับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่สามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นของ Tantikitti และคณะ (2005) โดยแต่ละสูตรมีสัดส่วนของปลาป่น: เครื่องในปลาทูน่า: กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน เท่ากับ 67.5: 22.5 :10 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับโปรตีนเริ่มต้นที่ 45% ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว น้ำหนักเริ่มต้น 5 กรัม จากการศึกษาของ ชุติมา และคณะ (2555) และมีระดับไขมันใกล้เคียงกันเท่ากับ 12% โดยไม่ปรับระดับพลังงานในอาหารทดลองให้ใกล้เคียงกัน โดยใช้แกลบเป็นส่วนเติมเต็มในสูตรที่มีแป้งสาลีที่ระดับต่างๆ ซึ่งอาหารทดลองเป็นอาหารเม็ดแห้งแบบจม

การเตรียมอาหารทดลอง โดยชั่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามส่วนประกอบอาหารแต่ละสูตร ในส่วนของแป้งสุก (gelatinized starch) นำแป้งสาลีที่ชั่งตามปริมาณที่ใช้ในแต่ละสูตรไปผ่านกระบวนการให้ความร้อน โดยใช้เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที หลังจากให้ความร้อนแล้ว ทิ้งแป้งให้เย็น นำมาบด จากนั้นผสมส่วนประกอบวัตถุดิบที่มีลักษณะแห้งให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร จึงเติมน้ำมันและส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วเติมน้ำ 20-25% ของอาหาร จากนั้นทำการผสมต่อกันอีก 10 นาที จึงทำการอัดเม็ด ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร นำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดไปอบที่อุณหภูมิ 60ºC นาน 18 ชั่วโมง นำไปร่อนด้วยตะแกรงตาถี่เพื่อนำอาหารส่วนที่เป็นผงออก บรรจุถุงพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20ºC วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองทุกสูตร ตามวิธีการของ AOAC (1999)

ตารางที่ 12 องค์ประกอบของอาหารทดลอง (กรัม/ 100 กรัม) การทดลองที่ 2

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร									
	แป้งสาลี 15% โปรตีน 45%[1]		แป้งสาลี 20% โปรตีน 42%		แป้งสาลี 25% โปรตีน 39%		แป้งสาลี 30% โปรตีน 36%		แป้งสาลี 35% โปรตีน 33%	
	ดิบ	สุก	ดิบ	สุก	ดิบ	สุก	ดิบ	สุก	ดิบ	สุก
ปลาป่น	42.80		39.10		35.50		31.90		28.30	
เครื่องในปลาทูน่าป่น	14.30		13.10		11.80		10.60		9.40	
กากถั่วเหลือง	8.60		7.90		7.20		6.50		5.70	
CMC	2.50		2.50		2.50		2.50		2.50	
วิตามินรวม[2]	0.60		0.60		0.60		0.60		0.60	
แร่ธาตุรวม[3]	4.00		4.00		4.00		4.00		4.00	
น้ำมันปลา	3.90		4.60		5.30		6.00		6.70	
แกลบ	8.10		8.00		7.90		7.70		7.60	
แป้งสาลี	15.00		20.00		25.00		30.00		35.00	
NaCl	0.20		0.20		0.20		0.20		0.20	
ปริมาณรวม	100.00		100.00		100.00		100.00		100.00	
องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)										
โปรตีน	47.05	46.51	43.89	44.06	41.54	41.35	38.85	38.28	35.87	35.78
ไขมัน	11.52	11.54	13.21	12.63	11.58	11.63	13.33	12.62	13.25	13.27
เยื่อใย	3.3	3.3	3.16	3.06	3.2	3.11	2.72	2.81	2.82	2.67
NFE	18.13	19.32	21.23	21.87	26.04	25.61	28.05	28.68	31.76	31.95
เถ้า	11.88	11.22	11.40	11.13	10.50	10.60	10.21	10.17	9.35	9.60
ความชื้น	8.12	8.11	7.11	7.25	7.14	7.7	6.84	7.44	6.95	6.73
พลังงานรวม (KJ/g)	20.07	19.73	20.02	20.13	20.1	18.87	19.38	19.01	19.29	19.5
P/E (mg โปรตีน/ KJ)	23.44	23.57	21.92	21.89	20.67	21.91	20.05	20.14	18.60	19.37

[1] แต่ละระดับประกอบด้วยอาหาร 2 สูตร ซึ่งมีความแตกต่างกัน ดิบ คือแป้งสาลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน และสุก คือ แป้งสาลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 ºC ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

[2] วิตามินรวม ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยยูเนี่ยน ฟีดมิลล์ จำกัด

[3] แร่ธาตุรวม (กรัม/ อาหาร 1 กิโลกรัม): $NaH_2PO_4.2H_2O$ 15; $CaHPO_4$ 8; KCl 5; KH_2PO_4 10; แป้งสาลี 2.

4.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโต และการให้อาหาร

ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บทที่ 3 (ข้อ 3.4.4)

4.4.5 การเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรต และกิจกรรมของเอนไซม์เกี่ยวกับการใช้คาร์โบไฮเดรต

4.4.5.1 ระดับของกลูโคสในเลือด

วิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บทที่ 3 (ข้อ 3.4.5.1)

4.4.5.2 ดัชนีไขมันในตัว ดัชนีตับ การสะสมไกลโคเจนในตับ

วิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บทที่ 3 (ข้อ 3.4.5.2)

4.4.5.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมขั้นกลางในปลากะพงขาว

4.4.5.3.1 การวิเคราะห์ กิจกรรมของเอนไซม์ Pyruvate kinase (EC 2.7.1.40), Glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9) และ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (EC 1.1.1.49)

วิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บทที่ 3 (ข้อ 3.4.5.3.1)

4.4.5.4 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน (pepsin) ทริปซิน (trypsin) และอะไมเลส (α-amylase)

ใช้ตัวอย่างปลาที่อดอาหารเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทางเดินอาหารปราศจากอาหาร จากนั้นเก็บตัวอย่างจากส่วนของกระเพาะอาหาร ชั่งน้ำหนัก ใส่ไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรอการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ pepsin เก็บตัวอย่างจากส่วนไส้ติ่ง (pyloric ceaca) ชั่งน้ำหนัก ใส่ไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรอการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ trypsin และเก็บลำไส้ส่วนต้น (interior intestine) ถึงลำไส้ส่วนปลาย (posterior intestine) ชั่งน้ำหนัก ใส่ในไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรอการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ trypsin และ α-amylase วิเคราะห์ตามวิธีการของ Bergmeyer และคณะ (1974) (ภาคผนวก ค.)

4.4.6 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate digestibility)

วิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 บทที่ 3 (ข้อ 3.4.7)

4.4.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง และกิจกรรมของเอนไซม์ นำมาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล แบบ 2 ทาง (Two-way ANOVA) เปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's HSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.5 ผลการทดลอง

4.5.1 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง

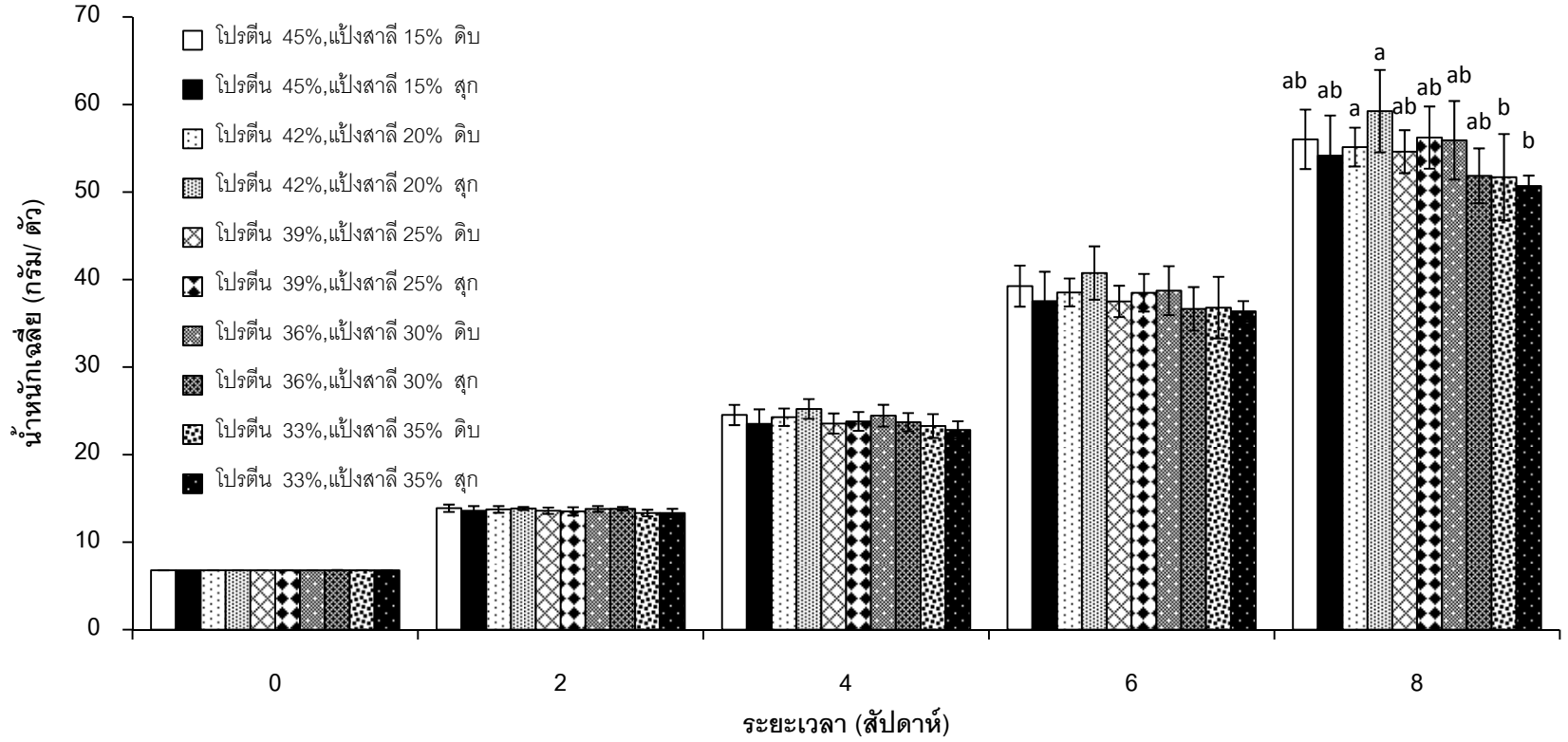
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง ที่ศึกษาระดับของแป้งสาลีในอาหาร โดยการเพิ่มระดับของแป้งสาลีในอาหารระดับละ 5 เปอร์เซ็นต์ ควบคู่กับการลดแหล่งโปรตีนหลักในอาหารระดับละ 3 เปอร์เซ็นต์ รวมเป็น 5 ระดับ คือแป้งสาลี 15%โปรตีน 45%, แป้งสาลี 20% โปรตีน 42%, แป้งสาลี 25% โปรตีน 39%, แป้งสาลี 30% โปรตีน 36% และแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% และรูปแบบแป้ง 2 รูปแบบ คือ แป้งดิบ คือ แป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน และแป้งสุก คือ แป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นระยะเวลา 30 นาที ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่า โปรตีนในอาหารมีค่าลดลงตามระดับการสร้างสูตรอาหาร ที่มีการกำหนดให้โปรตีนมีค่าลดลงระดับละ 3 เปอร์เซ็นต์ ไขมันในอาหารมีค่าอยู่ในช่วง 11.58-13.33 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนฟรีเอ็กแทร็ก (NFE) มีค่าอยูในช่วง 18.13- 31.95 เปอร์เซ็นต์ เถ้ามีค่าอยู่ในช่วง 9.35- 11.88 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น มีค่าอยู่ในช่วง 6.73- 8.12 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานรวมมีค่าอยู่ในช่วง 18.87-20.13 เปอร์เซ็นต์ โดยค่าไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทร็ก มีค่าเพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มระดับของแป้งสาลีในอาหาร ส่วนค่าเถ้า ความชื้น และพลังงาน มีค่าลดลงตามการเพิ่มขึ้นของแป้งสาลีในอาหารและลดแหล่งโปรตีนหลัก คือ ปลาป่น เครื่องในปลาทูน่า และกากถั่วเหลืองในอาหารลง (ตารางที่ 12)

4.5.2 อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

ปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 6.79±0.01 กรัม/ตัว ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนแตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ รูปแบบของแป้ง ไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ แต่ระดับแป้งสาลี มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20%และโปรตีน 42%มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายสูงที่สุด คือ 57.19 กรัม/ตัว แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45%, แป้งสาลี 25% โปรตีน 39% และ แป้งสาลี 30% โปรตีน 36% ($P>0.05$) ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายเท่ากับ 55.09, 55.42 และ 53.89 กรัม/ ตัว ตามลำดับ ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 35 เปอร์เซ็นต์และโปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายต่ำสุด เท่ากับ 51.20 กรัม/ ตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 13)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม พบว่า ปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% และโปรตีน 42% มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15% โปรตีน 45%, แป้งสาลี 25% โปรตีน 39% และแป้งสาลี 30% โปรตีน 36% ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35 และโปรตีน 33เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มมีค่าสูงสุดในปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% คือ 742.11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 25% โปรตีน 39%, แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% และแป้งสาลี 30% โปรตีน 36% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มเท่ากับ 716.18, 711.19, 639.26และ 654.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มต่ำสุด เท่ากับ 654.17 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่า ปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 3.80 เปอร์เซ็นต์/วัน รองลงมา คือ ปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 25% โปรตีน 39%, แป้งสาลี 15% โปรตีน 45%, แป้งสาลี 30% โปรตีน 36% มีค่าเท่ากับ 3.75, 3.73 และ 3.69 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-30% และโปรตีน 36-45% มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่ปลาที่รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35%และโปรตีน 33% มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำสุด เท่ากับ 3.60เปอร์เซ็นต์/วัน และมีความแตกต่างจากปลาที่รับอาหารประกอบด้วยแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 13)



ภาพที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางภาคผนวกที่ ช.2)

ตารางที่ 13 น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตาย ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม/ ตัว)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม[4]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)[5]	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)[6]
15 (45) %[1]	ดิบ	56.02	724.83	3.77	100
	สุก	54.16	697.55	3.70	100
20 (42) %	ดิบ	55.14	712.10	3.74	100
	สุก	59.25	772.12	3.86	100
25 (39) %	ดิบ	54.62	704.54	3.72	100
	สุก	56.23	727.81	3.77	100
30 (36) %	ดิบ	55.92	723.3	3.76	100
	สุก	51.86	663.22	3.63	100
35 (33) %	ดิบ	51.70	662.19	3.62	100
	สุก	50.70	646.16	3.59	100
Pooled SEM		5.79	85.33	0.19	
ระดับแป้งสาลี					
Probability level		0.036	0.038	0.032	ns
15 (45)%[2]		55.09^{ab}	711.19^{ab}	3.73^{ab}	
20 (42)%		57.19^{a}	742.11^{a}	3.80^{a}	
25 (39)%		55.42^{ab}	716.17^{ab}	3.75^{ab}	
30 (36)%		53.89^{ab}	693.26^{ab}	3.69^{ab}	
35 (33)%		51.20^{b}	654.17^{b}	3.60^{b}	
รูปแบบแป้ง					
Probability level		0.836	0.815	0.772	ns
ดิบ[3]		54.68	705.39	3.72	
สุก		54.44	701.37	3.71	
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) x รูปแบบแป้ง					
Probability level		0.228	0.230	0.249	ns

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=4) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=8) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=20) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[4] เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม = {[(น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (ตัว/กรัม) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ ตัว))]/(น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว))}x 100

[5] อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ={[(LN น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ ตัว) – LN น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ ตัว))] / จำนวนวันทดลอง} x 100

[6] อัตรารอดตาย = [จำนวนปลาที่เหลือ (ตัว) / จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)] x 100

4.5.3 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

หลังจากปลาได้รับอาหารทดลองเป็นระยะ 8 สัปดาห์ พบว่า ระดับและรูปแบบของแป้งสาลี ไม่มีผลต่อน้ำหนักอาหารที่ปลากิน ($P>0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบของแป้งดิบและแป้งสุก มีปริมาณการกินอาหารอยู่ในช่วง 48.69-54.39 กรัม/ ตัว (ตารางที่ 14)

ในส่วนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหารมีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-25% และโปรตีน 39-45% มีอัตราการเปลี่ยนอาหาร อยู่ในช่วง 1.03-1.07 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลี 30-35% และโปรตีน 33-36% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 1.13-1.17 (ตารางที่ 14)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหารมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดย ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับต่ำสุด คือ โปรตีน 33% และแป้งสาลี 35% มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงสุด เท่ากับ 2.39 แต่ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30% และโปรตีน 36% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ที่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน เท่ากับ 2.31 ซึ่งสูงกว่าจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15-25% และโปรตีน 39-45% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูงสุด คือ 45% มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำสุด เท่ากับ 2.08 (ตารางที่ 14)

4.5.4 ผลของอาหารทดลองต่อระดับน้ำตาลในเลือด ดัชนีไขมันในช่องท้อง ดัชนีตับ และการสะสมไกลโคเจนในตับ

ดัชนีตับ พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อดัชนีตับ (P>0.05) โดยปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่แตกต่างกัน 10 ชุดการทดลอง ตลอด 8 สัปดาห์ มีดัชนีตับในช่วง 1.92-2.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15)

ไกลโคเจนในตับ พบว่า ที่ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน 5 ระดับ และรูปแบบของแป้งมีผลต่อไกลโคเจนในตับ โดยปลากะพงขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีรูปแบบเป็นแป้งสุก จะมีการสะสมไกลโคเจนในตับที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งดิบ ในอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีนในระดับเดียวกัน และการสะสมไกลโคเจนในตับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30% โปรตีน 36% มีปริมาณไกลโคเจนในตับสูงสุด เท่ากับ 107.55 มิลลิกรัม/น้ำหนักตับสด 1 กรัม ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% และแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15-20% และโปรตีน 42-45% (ตารางที่ 15)

น้ำตาลในเลือดและดัชนีไขมันในช่องท้อง แสดงผลของอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่าง ระดับแป้งสาลีและโปรตีน ในรูปแบบของแป้งสุกและแป้งดิบ หลังปลาได้รับอาหารแล้ว 6 ชั่วโมง โดยระดับน้ำตาลในเลือด มีแนวโน้มลดลงตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร โดยสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีระดับต่ำ คือ 15-25% และโปรตีน 39-45% มีปริมาณน้ำตาลในเลือดอยู่ในช่วง 5.39-7.10 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ซึ่งมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลีสูง คือ แป้งสาลี 30-35% และโปรตีน 33-36% ที่มีระดับน้ำตาลอยู่ในช่วง 3.57-5.07 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร (ตารางที่ 15)

ส่วนดัชนีไขมันในช่องท้อง พบว่า ทั้งระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหาร รวมถึงรูปแบบของแป้ง ล้วนมีผลต่อค่าดัชนีไขมันในช่องท้อง และมีผลของอิทธิพลร่วม ระหว่างระดับแป้งสาลี,โปรตีน และรูปแบบของแป้งในอาหาร (P<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% และแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% ในรูปแบบแป้งดิบ มีค่าดัชนีไขมันในช่องท้องสูงสุด เท่ากับ 4.43 และ4.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 20% โปรตีน 42%, แป้งสาลี30% โปรตีน 36% ทั้งในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก แป้งสาลี 25% โปรตีน 39% และแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% ในรูปแบบแป้งสุก ที่มีดัชนีไขมันสะสมในช่องท้อง อยู่ในช่วง 3.43-3.80 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% ในรูปแบบแป้งสุกและแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% ในรูปแบบแป้งดิบ ที่มีดัชนีไขมันสะสมในช่องท้องต่ำสุด อยู่ในช่วง 2.97-2.99 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05) (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 น้ำหนักอาหารที่ปลากิน การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	น้ำหนักอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ[4]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[5]
15 (45) %[1]	ดิบ	50.46	1.03	2.07
	สุก	48.69	1.03	2.09
20 (42) %	ดิบ	49.72	1.03	2.22
	สุก	54.39	1.04	2.19
25 (39) %	ดิบ	51.32	1.07	2.24
	สุก	52.32	1.06	2.28
30 (36) %	ดิบ	53.95	1.10	2.34
	สุก	51.76	1.15	2.27
35 (33) %	ดิบ	52.48	1.17	2.39
	สุก	51.16	1.17	2.40
Pooled SEM		5.35	0.05	0.10
ระดับแป้งสาลี				
Probability level		0.401	<0.001	<0.001
15 (45)%[2]		49.57	1.03^{a}	2.08^{d}
20 (42)%		52.05	1.03^{a}	2.20^{c}
25 (39)%		51.82	1.07^{a}	2.26^{bc}
30 (36)%		52.85	1.13^{b}	2.31^{ab}
35 (33)%		51.82	1.17^{b}	2.39^{a}
รูปแบบแป้ง				
Probability level		0.941	0.321	0.757
ดิบ[3]		51.58	1.08	2.25
สุก		51.66	1.09	2.25
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง				
Probability level		0.253	0.251	0.431

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=4) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=8) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=20) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[4] อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ ตัว) / น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ ตัว)

[5] ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ ตัว) / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม/ ตัว)

ตารางที่ 15 ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose) ดัชนีไขมันในช่องท้อง (Intraperitoneal fat ratio: IPF, %) ดัชนีตับ (Hepatosomatic index: HSI, %) และการสะสมไกลโคเจนในตับ หลังจากปลากินอาหาร 6 ชั่วโมง

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	น้ำตาลในเลือด[4] มิลลิโมลกลูโคส/ลิตร	IPF (%)[5]	HSI (%)[6]	ไกลโคเจนในตับ[7] มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับสด(กรัม)
15 (45) %[1]	ดิบ	5.39^{abc}	4.43^{a}	2.04	92.22
	สุก	6.22^{ab}	2.99^{b}	2.14	97.64
20 (42) %	ดิบ	5.72^{abc}	3.46^{ab}	1.97	93.50
	สุก	7.10^{a}	3.80^{ab}	1.99	96.82
25 (39) %	ดิบ	6.29^{ab}	2.97^{b}	2.03	92.19
	สุก	6.35^{ab}	3.47^{ab}	1.95	105.83
30 (36) %	ดิบ	4.90^{bcd}	3.56^{ab}	1.96	105.56
	สุก	3.57^{d}	3.43^{ab}	1.92	109.55
35 (33) %	ดิบ	4.12^{cd}	4.34^{a}	2.03	99.05
	สุก	5.07^{bcd}	3.60^{ab}	1.97	101.23
Pooled SEM		1.20	0.72	0.22	9.71
ระดับแป้งสาลี					
Probability level		<0.001	0.030	0.333	0.001
15 (45)%[2]		5.81	3.71	2.09	94.93^{b}
20 (42)%		6.41	3.63	1.98	95.16^{b}
25 (39)%		6.32	3.22	1.99	99.01^{ab}
30 (36)%		4.24	3.49	1.94	107.55^{a}
35 (33)%		4.60	3.97	2.00	100.14^{ab}
รูปแบบแป้ง					
Probability level		0.120	0.049	0.818	0.005
	ดิบ[3]	5.29	3.75	2.01	96.50^{B}
	สุก	5.66	3.46	1.99	102.21^{A}
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง					
Probability level		0.006	<0.001	0.662	0.363

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=9) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=18) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=45) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[4] น้ำตาลในเลือด (มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร) = [(ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง 500 นาโนเมตร/ ค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคสมาตรฐาน (100 มิลลิกรัม/ เดซิลิตร)) x 100] x 0.0056

[5] ดัชนีไขมันในช่องท้อง (IPF, %) = [ไขมันในช่องท้อง (กรัม)/ น้ำหนักปลา (กรัม)] x 100

[6] ดัชนีตับ (HSI, %) = [น้ำหนักตับ (กรัม) / น้ำหนักปลา (กรัม)] x 100

[7] ไกลโคเจนในตับ (มิลลิกรัม/ น้ำหนักตับสด (กรัม)) = (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 590 nm x 100)/(1.11 x ค่าการดูดแสงของกลูโคสมาตรฐาน 100 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ที่ความยาวคลื่น 590 nm)x น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

4.5.5 กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase: EC 2.7.1.40) กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: EC 3.1.3.9) และกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: EC 1.1.1.49) หลังปลากะพงขาวได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง

กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส พบว่า รูปแบบแป้งไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส ($P<0.05$) แต่ระดับของแป้งสาลีมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส ($P<0.05$) กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร โดยปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูงสุด คือ แป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% มีกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนสสูงสุด เท่ากับ 4.87 Unit/ mg protein และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30-15% และโปรตีน 36-45% ที่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส อยู่ในช่วง 1.86-2.27 Unit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 16)

กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส พบว่า รูปแบบแป้งและระดับแป้งสาลีในอาหารมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีดิบมีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงกว่าแป้งสาลีสุก และกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส ลดลงตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีระดับต่ำสุด คือ แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% มีกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส เท่ากับ 42.75 mUnit/ mg protein รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 20-30% และโปรตีน 36-42% มีกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส อยู่ในช่วง 31.28-37.95 mUnit/ mg protein และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูงสุด คือ แป้งสาลี 35% ที่มีกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส ต่ำสุด เท่ากับ 24.17 mUnit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 16)

กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส พบว่า ทั้งรูปแบบแป้งและระดับแป้งสาลีในอาหาร ไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส อยู่ในช่วง 0.62-1.15 Unit/ mg protein (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อกิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate kinase: EC 2.7.1.40) กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส (Glucose-6-phosphatase: EC 3.1.3.9) และกลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase: EC 1.1.1.49) หลังจากปลาได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	Pyruvate Kinase (Unit/mg protein)	G6Pase (mUnit/mg protein)	G6PDH (Unit/mg protein)
15 (45) %[1]	ดิบ	1.41	56.52	1.00
	สุก	2.32	28.98	1.00
20 (42) %	ดิบ	1.61	37.33	0.62
	สุก	2.29	33.44	0.90
25 (39) %	ดิบ	1.42	35.41	0.79
	สุก	2.56	27.15	0.67
30 (36) %	ดิบ	2.21	37.15	0.77
	สุก	2.34	38.74	0.76
35 (33) %	ดิบ	5.05	30.16	0.99
	สุก	4.69	18.17	1.15
Pooled SEM		2.51	19.3	0.51
ระดับแป้งสาลี				
Probability level		0.001	0.039	0.131
15 (45)%[2]		1.86^{b}	42.75^{a}	1.00
20 (42)%		1.95^{b}	35.39^{ab}	0.76
25 (39)%		1.99^{b}	31.28^{ab}	0.73
30 (36)%		2.27^{b}	37.95^{ab}	0.76
35 (33)%		4.87^{a}	24.17^{b}	1.07
รูปแบบแป้ง				
Probability level		0.320	0.011	0.576
	ดิบ[3]	2.34	39.32^{A}	0.84
	สุก	2.84	29.30^{B}	0.89
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง				
Probability level		0.880	0.175	0.760

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=9) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=18) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=45) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.5.6 ผลของกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และอะไมเลส

กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน พบว่า มีผลของอิทธิพลร่วมระหว่างระดับแป้งสาลีและรูปแบบแป้ง ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30% และโปรตีน 36% ทั้งในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก มีกิจกรรมเอนไซม์เปปซินสูงสุด อยู่ในช่วง 19.19-19.41 Unit/ mg protein ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% รูปแบบแป้งดิบ, แป้งสาลี 20% โปรตีน 42% รูปแบบแป้งสุก, แป้งสาลี 25% โปรตีน 39% รูปแบบแป้งดิบ และ แป้งสาลี 35% โปรตีน 33% ทั้งรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน อยู่ในช่วง 16.49-18.19 Unit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% รูปแบบแป้งสุก, แป้งสาลี 20% โปรตีน 42% รูปแบบแป้งดิบ และแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% รูปแบบแป้งสุก ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน อยู่ในช่วง 14.64-15.66 Unit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15% และโปรตีน 45% ในรูปแบบแป้งสุก มีกิจกรรมเอนไซม์เปปซินต่ำสุด เท่ากับ 14.64 Unit/ mg protein (ตารางที่ 17)

กิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ซึ่งวิเคราะห์ทั้งในไส้ติ่งและลำไส้ พบว่า กิจกรรมเอนไซม์ทริปซินบริเวณลำไส้ไม่มีผลจากระดับแป้งและโปรตีน รวมถึงรูปแบบแป้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 13.81-21.52 mUnit/ mg protein และมีกิจกรรมเอนไซม์ ทริปซินต่ำกว่าบริเวณไส้ติ่ง ประมาณ 10 เท่า ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ที่วิเคราะห์บริเวณไส้ติ่ง พบว่า รูปแบบแป้ง ไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ($P>0.05$) แต่ระดับแป้งสาลีและโปรตีน มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% และแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% มีกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินสูงสุด อยู่ในช่วง 198.34-202.73 mUnit/ mg protein ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 20% โปรตีน 42% และแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน อยู่ในช่วง 131.84-150.26 mUnit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 30% และโปรตีน 33% ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินต่ำสุด เท่ากับ 100.47 mUnit/ mg protein (ตารางที่ 17)

กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส พบว่า มีผลของอิทธิพลร่วมระหว่างระดับแป้งสาลีและรูปแบบแป้ง ($P<0.05$) โดย ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% รูปแบบแป้งสุก มีกิจกรรมอะไมเลสสูงสุด เท่ากับ 1.35±0.40 Unit/ mg protein ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% รูปแบบแป้งดิบ และแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% รูปแบบแป้งสุก ที่มีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส อยู่ในช่วง 0.82-1.10 Unit/ mg protein แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 20% โปรตีน 42%, แป้งสาลี 30% โปรตีน 36%, แป้งสาลี 35% โปรตีน 33% ทั้งในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก และแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% รูปแบบแป้งดิบ ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซศม์อะไมเลส อยู่ในช่วง 0.23-0.90 Unit/ mg protein อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย สาลี 25% โปรตีน 39% รูปแบบแป้งดิบ มีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสต่ำสุด เท่ากับ 0.23 Unit/ mg protein (ตารางที่ 17)

4.5.7 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในปลาเริ่มทดลองและปลาสิ้นสุดการทดลอง หลังการเลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า องค์ประกอบของเถ้าในตัวปลาเริ่มต้นการทดลองและปลาสิ้นสุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ องค์ประกอบความชื้นในตัวเริ่มต้นการทดลองมีค่าสูงกว่าปลาสิ้นสุดการทดลอง ส่วนองค์ประกอบของโปรตีน ไขมัน และพลังงานของปลาสิ้นสุดการทดลอง มีค่าสูงกว่าในปลาเริ่มต้นการทดลอง (ตารางที่ 18)

รูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในปลาสิ้นสุดการทดลอง (P>0.05) และระดับของแป้งสาลีและโปรตีน ไม่มีผลต่อความชื้น ไขมัน และเถ้า ในปลาสิ้นสุดการทดลอง (P>0.05) แต่มีผลต่อองค์ประกอบของโปรตีน และพลังงานในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง (P<0.05) (ตารางที่ 18)

ความชื้นในตัวปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่าเท่ากับ 76.00±0.09 เปอร์เซ็นต์ หลังปลาได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ความชื้นมีค่าลดลง โดยมีค่าความชื้นในตัว อยู่ในช่วง 69.89-71.17 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 18)

ไขมันในปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่าเท่ากับ 2.93±0.10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปลาได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีน ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่า แม้ระดับแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบแป้ง ไม่มีผลต่อองค์ประกอบไขมันในตัว (P>0.05) แต่ไขมันในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเกือบ 1 เท่าตัว โดยมีค่าองค์ประกอบไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง อยู่ในช่วง 5.03-6.57 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 18)

องค์ประกอบเถ้า ในปลาเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.11±0.11 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณเถ้าในตัวมีค่าไม่แตกต่างจากปลาเริ่มต้นการทดลอง แม้ว่าจะได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบแป้งที่แตกต่างกัน โดยปลาสิ้นสุดการทดลองมีองค์ประกอบของเถ้าในตัวอยู่ในช่วง 4.49-4.74 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 18)

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีน โดยองค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่าเท่ากับ 15.56±0.30 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับอาหารที่มีแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า องค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลามีค่าสูงขึ้นและมีแนวโน้มเช่นเดียวกับอัตราการเจริญเติบโต โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีแป้งสาลี 20% และโปรตีน 45% มีองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด เท่ากับ 17.80เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15% โปรตีน 45% และแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% ซึ่งมีองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง เท่ากับ 17.65และ 17.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 30-35% และโปรตีน 33-36% ที่มีองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองต่ำสุด อยู่ในช่วง 17.35-17.40 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 18)

พลังงานในตัวปลาเริ่มต้นการทดลอง มีค่าเท่ากับ 4.71±0.07 กิโลจูล/ กรัม หลังได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีนแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า พลังงานในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองมีค่าสูงขึ้น โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% และโปรตีน 33% มีพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองสูงสุด เท่ากับ 6.69 กิโลจูล/ กรัม ซึ่งไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 20% โปรตีน 42%, แป้งสาลี 30% โปรตีน 36% และแป้งสาลี 15% โปรตีน 45% ที่มีองค์ประกอบพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลอง เท่ากับ 6.58, 6.53 และ 6.46 กิโลจูล/ กรัม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 25% และโปรตีน 39% ที่มีพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองต่ำสุด เท่ากับ 6.42 กิโลจูล/ กรัม (P<0.05) (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17 ผลของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนแตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และอะไมเลส หลังปลาได้รับอาหาร 24 ชั่วโมง

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	Pepsin	Trypsin		Amylase
			Pyloric ceaca	Intestine	
		(Unit/mg protein)	(mUnit/mg protein)		(Unit/mg protein)
15 (45) %[1]	ดิบ	17.67^{abc}	177.10	19.81	1.10^{ab}
	สุก	14.64c	228.37	21.15	1.35^{a}
20 (42) %	ดิบ	15.66^{bc}	200.30	20.63	0.90^{bcd}
	สุก	17.13^{abc}	100.23	20.57	0.68^{bcde}
25 (39) %	ดิบ	17.46^{abc}	220.49	13.81	0.23^{e}
	สุก	14.76^{bc}	176.19	19.86	0.82^{abc}
30 (36) %	ดิบ	19.41^{a}	107.46	21.52	0.74a^{bcde}
	สุก	19.19^{a}	93.47	19.53	0.26^{de}
35 (33) %	ดิบ	18.19^{ab}	100.97	20.45	0.44^{cde}
	สุก	16.49^{abc}	162.70	18.81	0.48^{cde}
Pooled SEM		2.38	98.69	12.11	0.33
Probability level		<0.001	0.006	0.843	<0.001
15 (45)%[2]		16.16	202.73^{a}	20.48	1.23
20 (42)%		16.39	150.26^{ab}	20.60	0.79
25 (39)%		16.11	198.34^{a}	16.84	0.53
30 (36)%		19.30	100.47^{ab}	20.52	0.50
35 (33)%		17.34	131.84^{b}	19.63	0.46
Probability level		0.011	0.647	0.761	0.595
	ดิบ[3]	17.68	161.27	19.25	0.68
	สุก	16.44	152.19	19.98	0.72
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง					
Probability level		0.020	0.064	0.836	<0.001

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=9) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=18) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=45) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ฐานน้ำหนักสด)

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)				พลังงาน
		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	(กิโลจูล/กรัม)
ปลาเริ่มต้นทดลอง[1]		76.00±0.09	15.65±0.30	2.93±0.10	4.11±0.11	4.71±0.07
15 (45) %[2]	ดิบ	70.72	17.55	5.72	4.49	6.40
	สุก	70.39	17.75	5.85	4.53	6.52
20 (42) %	ดิบ	70.23	17.93	5.82	4.74	6.51
	สุก	70.21	17.67	6.16	4.67	6.64
25 (39) %	ดิบ	70.40	17.51	5.72	4.60	6.55
	สุก	71.17	17.61	5.03	4.62	6.28
30 (36) %	ดิบ	70.67	17.46	6.12	4.58	6.48
	สุก	70.03	17.33	5.75	4.70	6.59
35 (33) %	ดิบ	69.89	17.28	6.57	4.60	6.77
	สุก	70.14	17.42	6.09	4.65	6.61
Pooled SEM		0.82	0.42	1.1	0.23	0.26
Probability level		0.052	0.010	0.112	0.168	0.023
15 (45)%[3]		70.55	17.66^{ab}	5.79	4.51	6.46^{ab}
20 (42)%		70.22	17.80^{a}	6.00	4.70	6.58^{ab}
25 (39)%		70.78	17.56^{ab}	5.38	4.61	6.42^{b}
30 (36)%		70.35	17.39^{b}	5.93	4.64	6.54^{ab}
35 (33)%		70.01	$17.35^{b.}$	6.33	4.62	6.69^{a}
Probability level		0.985	0.886	0.332	0.500	0.799
	ดิบ[4]	70.38	17.55	6.00	4.60	6.54
	สุก	70.39	17.56	5.78	4.63	6.53
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง						
Probability level		0.090	0.386	0.572	0.751	0.054

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=4) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=8) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[4] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=20) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.5.8 ผลของการเพิ่มระดับแป้งสาลีและลดระดับโปรตีนในอาหาร ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ต่อประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน

ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่า รูปแบบแป้ง ทั้งแป้งดิบและแป้งสุก รวมถึงระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ไม่มีผลต่อ ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (LRE) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (ERE) ($P>0.05$) แต่การเพิ่มระดับแป้งสาลีและลดระดับโปรตีน ในอาหารมีผลต่อประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE) ($P<0.05$) แต่รูปแบบแป้งไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE) ($P>0.05$) (ตารางที่ 19)

ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE, %) พบว่า การเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารในขณะที่ลดโปรตีนรวมในอาหารทั้ง 5 ระดับ มีผลต่อประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูงสุด คือ 35% และโปรตีนในระดับต่ำสุด คือ 33% มีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 40.68 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30% โปรตีน 36% ที่มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน เท่ากับ 38.96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนทั้ง 2 ระดับ มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% มีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-25% และโปรตีน 39-45% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน อยู่ในช่วง 35.10-38.43 เปอร์เซ็นต์ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูงสุด คือ 45% และแป้งสาลี 15% มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำสุด (ตารางที่ 19)

ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (LRE, %) พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งในอาหาร ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการสะสมไขมัน ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลอง มีค่าประสิทธิภาพการสะสมไขมันอยู่ในช่วง 40.71-49.79 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 19)

ประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (ERE, %) พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน ($P>0.05$) ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลอง ที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีค่าประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน อยู่ในช่วง 29.34-31.46 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein Retention Efficiency: PRE, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid Retention Efficiency: LRE, %) และประสิทธิภาพการสะสมพลังงาน (Energy Retention Efficiency: ERE, %) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	เปอร์เซ็นต์		
		PRE[4]	LRE[5]	ERE[6]
15 (45) %[1]	ดิบ	34.72	48.69	30.34
	สุก	35.48	49.71	31.46
20 (42) %	ดิบ	38.44	43.60	31.28
	สุก	37.33	47.90	31.44
25 (39) %	ดิบ	38.16.	47.17	30.26
	สุก	38.71	40.92	30.84
30 (36) %	ดิบ	39.76	42.97	30.28
	สุก	38.15	40.71	30.08
35 (33) %	ดิบ	40.44	44.56	30.42
	สุก	40.92	41.18	29.34
Pooled SEM		1.88	9.41	1.95
Probability level		<0.001	0.137	0.155
15 (45)%[2]		35.10[c]	49.24	30.90
20 (42)%		37.89[b]	45.75	31.36
25 (39)%		38.43[b]	44.04	30.55
30 (36)%		38.96[ab]	41.84	30.18
35 (33)%		40.68[a]	42.87	29.88
Probability level		0.637	0.492	0.775
	ดิบ[3]	38.30	45.40	30.52
	สุก	38.12	44.10	30.63
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง				
Probability level		0.177	0.455	0.468

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=4) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=8) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=20) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[4] PRE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x โปรตีนในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x โปรตีนในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ โปรตีนรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

[5] LRE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x ไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x ไขมันในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ ไขมันรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

[6] ERE (%) = {[(น้ำหนักตัวสุดท้าย x พลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลอง) – (น้ำหนักตัวเริ่มต้น x พลังงานในตัวเริ่มต้นการทดลอง)]/ พลังงานรวมที่ได้รับ (กรัม)} x100

4.5.9 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate digestibility)

ผลของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

จากผลการทดลอง พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งไม่มีผลต่อการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (P>0.05) ทั้งก่อนย่อย (นาทีที่ 0) หลังย่อย (นาทีที่ 360) และผลผลิตที่ได้จากย่อย 6 ชั่วโมง ทั้งจาก เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ (ตารางที่ 20)

แต่ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate) พบว่า ระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต ในหลอดทดลอง (P<0.05) (ตารางที่ 21)

การย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งปลากะพงขาว ในการย่อยในนาทีที่ 0 พบว่า รูปแบบแป้งดิบ มีผลของการย่อยได้ดีกว่าแป้งสุก (P<0.05) แต่เมื่อย่อยไป 360 นาทีรูปแบบแป้งไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต แต่ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหารมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อย (P<0.05) โดยอาหารปลาที่มีส่วนประกอบของแป้งสาลีสูงสุด คือแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% มีค่าของประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้สูงสุด เท่ากับ 0.72 mmol-maltose รองลงมา คือแป้งสาลีที่มีระดับลดหลั่นลงมา คือ แป้งสาลี 30% โปรตีน 36%,แป้งสาลี 25% โปรตีน 39%และแป้งสาลี 15% โปรตีน 45% ตามลำดับ ซึ่งนอกจากแป้งสาลีทั้ง 3 ระดับ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตลดลงแต่ไม่แตกต่างจากอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และไม่แตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตน้อยที่สุดเท่ากับ 0.55 mmol-maltose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่อาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในชั่วโมงที่ 6 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% (P<0.05) และเมื่อดูผลผลิตที่ได้จากการย่อย พบว่าอาหารที่มีระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง (P>0.05) แต่รูปแบบของแป้งมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง โดยอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุกมีค่าผลผลิตที่ได้จากการย่อยสูงกว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน (P<0.05) (ตารางที่ 20)

ส่วนประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้ พบว่า การย่อยในนาทีที่ 0 ไม่มีความแตกต่างจากการย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง เนื่องจากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งดิบ จะมีประสิทธิภาพในการย่อยในนาทีที่ 0 สูงกว่าแป้งสุก (P<0.05) ในขณะที่ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหารไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตใน

หลอดทดลอง (P>0.05) แต่เมื่อย่อยไปถึงนาทีที่ 360 พบว่า รูปแบบแป้งไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต (P>0.05) แต่ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหารมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้ (P<0.05) โดยอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีระดับสูงสุด คือ 35% โปรตีน 33% มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 0.71 mmol-maltose รองลงมาคืออาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีระดับต่ำลงไป และค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20-30% และโปรตีน 36-42% โดยมีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต อยู่ในช่วง 0.60-0.68 mmol-maltose แต่แตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีระดับต่ำสุด คือแป้งสาลี 15% โปรตีน 45% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนผลผลิตที่ได้จากการย่อย คือ การย่อยนาทีที่ 360 – นาทีที่ 0 พบว่าอาหารที่ประกอบด้วยระดับแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบแป้งมีผลต่อผลผลิตที่ได้จากการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (P<0.05) และให้ผลของการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ชัดเจนมากขึ้น โดยอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีสุกหรือแป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนจะมีผลผลิตจากการย่อยคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน (P<0.05) อาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% โปรตีน 33% และแป้งสาลี 30% โปรตีน 36% มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่สูงสุด อยู่ในช่วง 0.22-0.23 mmol-maltose และไม่มีความแตกต่างจากประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองของอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20-25% และโปรตีน 36-39% ที่มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต อยู่ในช่วง 0.16-0.20 mmol-maltose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างจากอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับต่ำสุดคือ แป้งสาลี 15% และโปรตีน 45% ที่มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองต่ำสุด เท่ากับ 0.10 mmol-maltose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 20 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* protein digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ด้วยเอนไซม์สกัดจากใส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	เอนไซม์จากไส้ติ่ง			เอนไซม์จากลำไส้		
		mmole L-Leucine					
		AG Pre-digest 0 นาที	AG Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที-0นาที	AG Pre-digest 0 นาที	AG Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที-0นาที
15 (45) %[1]	ดิบ	4.24	6.20	1.95	4.16	5.79	1.63
	สุก	4.33	6.46	2.13	4.39	6.34	1.95
20 (42) %	ดิบ	4.33	6.14	1.81	4.36	6.05	1.69
	สุก	4.39	5.61	1.23	4.27	5.99	1.72
25 (39) %	ดิบ	4.21	5.79	1.58	4.19	5.73	1.55
	สุก	4.21	6.44	2.23	3.81	5.64	1.83
30 (36) %	ดิบ	4.05	5.76	1.71	3.78	5.46	1.68
	สุก	4.05	6.07	2.02	3.88	5.64	1.77
35 (33) %	ดิบ	4.02	5.52	1.50	3.72	5.37	1.65
	สุก	3.99	6.13	2.14	3.78	5.73	1.96
Pooled SEM		1.48	3.28	1.94	0.65	2.27	1.99
Probability level		0.931	0.998	0.936	0.038	0.908	1.000
15 (45)%[2]		4.29	6.33	2.04	4.27	6.07	1.79
20 (42)%		4.36	5.88	1.52	4.32	6.02	1.71
25 (39)%		4.21	6.11	1.90	4.00	5.69	1.69
30 (36)%		4.05	5.92	1.87	3.82	5.55	1.73
35 (33)%		4.01	5.83	1.82	3.75	5.55	1.80
Probability level		0.944	0.695	0.544	0.905	0.678	0.608
	ดิบ[3]	4.17	5.88	1.71	4.04	5.68	1.64
	สุก	4.19	6.14	1.95	4.02	5.87	1.85
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง							
Probability level		1.000	0.980	0.848	0.646	0.989	0.999

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=3) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=6) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=15) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตระดับต่างๆ และแป้งในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	รูปแบบแป้ง	เอนไซม์จากไส้ติ่ง			เอนไซม์จากลำไส้		
		mmole Maltose					
		Pre-digest 0 นาที	Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที-0นาที	Pre-digest 0 นาที	Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที-0นาที
15 (45) %[1]	ดิบ	0.47	0.53	0.06	0.53	0.59	0.06
	สุก	0.41	0.59	0.18	0.43	0.57	0.14
20 (42) %	ดิบ	0.43	0.52	0.09	0.50	0.60	0.10
	สุก	0.40	0.58	0.18	0.45	0.65	0.21
25 (39) %	ดิบ	0.47	0.59	0.12	0.53	0.60	0.07
	สุก	0.43	0.66	0.23	0.36	0.68	0.32
30 (36) %	ดิบ	0.44	0.59	0.15	0.45	0.65	0.20
	สุก	0.40	0.70	0.30	0.40	0.64	0.23
35 (33) %	ดิบ	0.48	0.74	0.26	0.51	0.66	0.15
	สุก	0.40	0.70	0.30	0.46	0.76	0.30
Pooled SEM		0.08	0.18	0.2	0.09	0.11	0.12
Probability level		0.573	0.049	0.101	0.301	0.028	0.022
15 (45)%[2]		0.44	0.56^{ab}	0.12	0.48	0.58^{b}	0.10^{b}
20 (42)%		0.41	0.55^{b}	0.13	0.47	0.63a^{b}	0.15a^{b}
25 (39)%		0.45	0.63^{ab}	0.17	0.45	0.64^{ab}	0.20^{ab}
30 (36)%		0.42	0.64^{ab}	0.23	0.43	0.64^{ab}	0.22^{a}
35 (33)%		0.44	0.72a	0.28	0.48	0.71^{a}	0.23^{a}
Probability level		0.006	0.161	0.019	<0.001	0.104	<0.001
	ดิบ[3]	0.46^{A}	0.59	0.14^{B}	0.50^{A}	0.62	0.12^{B}
	สุก	0.41^{B}	0.65	1.24^{A}	0.42^{B}	0.66	0.24^{A}
ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)% × รูปแบบแป้ง							
Probability level		0.904	0.799	0.930	0.198	0.388	0.091

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=3) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=6) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[3] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (n=15) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 22 การลดต้นทุนในการผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว ขนาดปลาเริ่มต้นประมาณ 5 กรัม โดยเลือกใช้แป้งสาลี (wheat flour) เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน) %	โปรตีนจากแป้งสาลี (%)[1]	แหล่งโปรตีนหลัก (%)[2]	ราคาอาหาร [3] (บาท/ กิโลกรัม)	ต้นทุนการผลิตปลา [4, 5] (บาท/ น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม)
15 (45)%	2.1	45-2.10= 42.90	61.64	63.35±1.82[a]
20 (42)%	2.8	42-2.80= 39.20	60.83	62.86±1.43[a]
25 (39)%	3.5	39-3.50= 35.50	60.02	64.02±1.61[ab]
30 (36)%	4.2	36-4.20= 31.80	59.25	66.64±2.66[bc]
35 (33)%	4.9	33-4.90= 28.10	58.47	68.25±1.67[c]

[1] ใช้ค่าองค์ประกอบโปรตีนในแป้งสาลี (wheat flour) ประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์

[2] แหล่งโปรตีนหลัก (%) = โปรตีนรวมในอาหาร (%) – โปรตีนที่ได้จากส่วนของแป้งสาลี (%)

[3] คำนวณราคาตามภาคผนวก ฉ.

[4] ต้นทุนการผลิตปลา (บาท/ อาหารปลา 1 กิโลกรัม) = [น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กิโลกรัม) x ราคาอาหาร (บาท/ กิโลกรัม)]/ น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)

[5] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาระดับและรูปแบบของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนครั้งนี้ เลือกใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีความเหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ได้แก่ แป้งสาลี เนื่องจาก ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี มีประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน ที่แสดงถึงผลการสำรองโปรตีนที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งชนิดอื่น นอกจากนี้ แป้งสาลีมีองค์ประกอบของโปรตีนสูงกว่าแป้งชนิดอื่น ทำให้ลดการใช้แหล่งโปรตีนหลักในอาหารลงได้ โดยการศึกษาครั้งนี้มีระดับของแป้งสาลีที่ 15, 20, 25, 30 และ35% ในอาหาร และมีการปรับลดระดับโปรตีนรวมในอาหารลงระดับละ 3% โดยโปรตีนมีระดับเริ่มต้นที่ 45% และรูปแบบแป้ง 2 รูปแบบ คือ ในรูปแบบแป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนหรือแป้งสาลีดิบ และแป้งที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน โดยใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที หรือแป้งสาลีสุก ซึ่ง Kumar และคณะ (2006) ได้รายงานไว้ว่า การปรับปรุงคาร์โบไฮเดรต จะมีผลปรับปรุงการใช้ประโยชน์ในปลา โดยการนำแป้งไปปรับปรุงหรือดัดแปลง เช่นการนำแป้งไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนกลายเป็นแป้งสุก ทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับเม็ดแป้งขนาดเล็กได้มากขึ้น (Bergot, 1983; Bergot and Breque, 1983; Podoskina *et al*., 1997; Mohapattra et al., 2003; Enes *et al*., 2006) ซึ่งมีผลปรับปรุงการย่อยได้ในปลากินเนื้อบางชนิด เช่น ปลากะพงยุโรป (European seabass; *Dicentrachus labrax*) (Peres and Oliva-teles, 2002) และปลาเซาท์เทริน แคทฟิช (Southern catfish; *Silurus meridinalis*)

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 15-30% (โปรตีน 45-36%) ปลามีน้ำหนักตัวสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงไกล้เคียงกัน (P>0.05) แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด (P<0.05) และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับ 15-25% (โปรตีน 45-39%) มีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 30-35% (โปรตีน 36-33%) (P<0.05) โดยปลาทุกชุดการทดลองมีอัตราการกินอาหารที่ไกล้เคียงกัน (P>0.05) ดังนั้น แป้งสาลีที่ระดับ 25% และโปรตีน 39% จึงเป็นระดับในอาหารที่เหมาะสมสำหรับปลากะพงขาว เนื่องจาก ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี และไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง คือ 42-45% และแป้งสาลี 15-20% สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลากะพงขาวยุโรป (European seabass; *D. labrax*) การลดระดับโปรตีนจาก 63% (ไขมัน 18%) เป็น 48% (ไขมัน 12%) โดยมีแป้งดิบหรือแป้งดิบ:แป้งสุก (1:1) ที่ระดับ 25% ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และการสะสมโปรตีนและพลังงาน (Peres and Oliva-Teles, 2002) ในปลากิลท์เฮดซีบรีม (gilthead seabream; *Sparus aurata*) ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตในระดับกลาง (medium

carbohydrate diet) คือ แป้งข้าวโพดสุก 18% และโปรตีนในอาหาร เท่ากับ 54% ปลามีน้ำหนักตัวสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวโพดสุก 5% และโปรตีน 63% (low carbohydrate diet) และคาร์โบไฮเดรตในระดับสูง (high carbohydrate diet) คือ แป้งข้าวโพดสุก 26% และโปรตีน 47% (Fernández *et al*., 2007) และปลาไวท์ซีบรีม (white seabream; *Diplodus sargus*) ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพด (ทั้งชนิด native และ waxy maize starch) ที่ระดับ 42% โปรตีน 36% มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับ แป้งข้าวโพดที่ระดับ 26% และโปรตีน 48% แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดแบบ waxy (waxy maize starch) ในระดับสูง มีประสิทธิภาพการใช้อาหารและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำลง (Sá *et al*., 2008) แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และในการศึกษาครั้งนี้ พบกรณีของการใช้สารอาหารที่น่าสนใจ 2 กรณี คือ กรณีที่ 1 ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูง คือ แป้งสาลี 35% และโปรตีน 33% ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำสุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% และโปรตีน 42% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นการลดลงของโปรตีนจาก 42% เป็น 33% น่าจะมีระดับของพลังงานและสารอาหารที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว และเมื่อพิจารณาถึงสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานในอาหาร (P/E ratio) พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20-25% และโปรตีน 39-42% มีค่า P/E ratio ในช่วง 21.29-21.90 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลจูล ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย โปรตีน 33% และแป้งสาลี 35% มีค่า P/E ratio ประมาณ 18.985 มิลลิกรัมโปรตีน/ กิโลจูล ซึ่งอาจเป็นระดับที่ต่ำเกินไปสำหรับปลากินเนื้อชนิดนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Figueiredo-Silva และคณะ (2009) ที่ได้ศึกษาในปลาแบล็คสปอต ซีบรีม (Blackspot seabream; *Pagellus bogaraveo*) พบว่า การลดโปรตีนในอาหารจาก 45% เป็น 35% มีผลให้น้ำหนักตัวสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันลดลง ชี้ให้เห็นว่าอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งข้าวโพดที่ย่อยได้ 25% ในอาหารที่มีโปรตีนในระดับ 35% มีระดับพลังงานและสารอาหารที่ไม่เพียงพอสำหรับปลาแบล็คสปอต ซีบรีม โดยอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดสุก 25% โปรตีน 35% มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (digestible protein: DP) ที่ต่ำ และมี DP/DE ratio เพียง 16 มิลลิกรัมโปรตีน/ กิโลจูล ต่ำกว่าอาหารทดลองชุดอื่นๆ ที่มี DP/DE ratio ระหว่าง 22-23 มิลลิกรัมโปรตีน/ กิโลจูล จึงเพิ่มอัตราการกินอาหาร ในอาหารที่มีโปรตีน 35% ทำให้มีแนวโน้มเพิ่มการได้รับวัตถุแห้ง ไขมัน และพลังงาน แต่ปลายังคงได้รับโปรตีนต่อวันน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูง ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำสุด แต่จากการศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ แม้จะมีการลดระดับโปรตีนในอาหารจาก 45 เป็น 33% และเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารจาก 15 เป็น 35% ปลามีอัตราการกินอาหารที่ใกล้เคียงกัน ($P>0.05$) ดังนั้น ประสิทธิภาพการใช้อาหาร จึงขึ้นอยู่กับระดับสารอาหารที่ไม่เพียงพอ สำหรับการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว ส่วนกรณีที่ 2 ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงสุด คือ โปรตีน 45% และแป้งสาลี 15% ปลามีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่า

ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีน 42% และแป้งสาลี 20% อาจเนื่องมาจาก แป้งสาลีในระดับ 15% ไม่เพียงพอในการนำมาเป็นแหล่งพลังงานสำหรับปลากะพงขาว และการที่อาหารมีระดับโปรตีนที่สูง คือ 45% ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหาร ประกอบด้วย ปลาป่นคุณภาพสูง (โปรตีน 68%) เครื่องในปลาทูน่าบด (โปรตีน 67.88%) และกากถั่วเหลืองชนิดสกัดน้ำมัน ในอัตราส่วน 67.5:22.5:10 ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่มีความเหมาะสม และมีความสมดุลของกรดแอมิโน ซึ่ง Stone และคณะ (2003b) ได้รายงานไว้ว่า ส่วนของกรดแอมิโนในอาหารไม่สามารถเก็บได้ กรดอะมิโนส่วนเกินจะถูกนำมาสลายเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทันที ซึ่งถือว่าเป็นการสลายทางเลือกแรก (preferential catabolism) (Tapia-Salazar *et al.,* 2006) และถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานก่อนการใช้กลูโคส (Médale and Guillaumo, 2001 อ้างโดย Figueiredo-Silva *et.*, 2009) หรือเปลี่ยนรูปไปเป็นไขมัน คาร์โบไฮเดรต และสารประกอบอื่นๆ ทำให้เป็นการใช้โปรตีนซึ่งเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีราคาแพงในทางที่ไม่เกิดประโยชน์

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein Retention Efficiency: PRE, %) เป็นค่าที่แสดงถึงผลการใช้ประโยชน์จากโปรตีนในอาหาร และสัมพันธ์กับผลในการสำรองโปรตีน (protein sparing effect) คือ การใช้พลังงานจากแหล่งพลังงานที่ไม่ใช้โปรตีน (non-protein energy) ได้แก่ การใช้แหล่งพลังงานจากไขมัน หรือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ควบคุมให้อาหารมีระดับไขมันรวมในอาหารเท่ากัน ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อการสำรองโปรตีน คือ แป้งสาลีที่มีระดับแตกต่างกันในอาหาร พบว่า รูปแบบของแป้ง คือ แป้งสาลีดิบ และแป้งสาลีสุก ไม่มีอิทธิพลต่อค่า PER และ PRE แต่ระดับของแป้งสาลีและโปรตีนในอาหาร มีผลต่อ PER และ PRE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำสุด คือ 33% และระดับแป้งสาลีสูงสุด คือ 35% มีค่า PER และค่า PRE สูงที่สุด และมีแนวโน้มลดลง เมื่อระดับโปรตีนในอาหารสูงขึ้น และแป้งสาลีในอาหารต่ำลง ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูงสุด คือ 45% และแป้งสาลีในระดับต่ำสุด คือ 15% มีค่า PER และ PRE ต่ำที่สุด ($P<0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Fernández และคณะ (2007) ซึ่งศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม (gilthead seabream; *S. aurata*) พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน มีค่าสูงในอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำ ซึ่งแสดงถึงการใช้ประโยชน์จากโปรตีนอย่างสูงสุด และการศึกษาในปลาเยลโลฟินซีบรีม (Yellowfin seabream; *Sparus latus*) ที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนสูง (โปรตีน 59% และไขมัน 12%) มีค่า PER ต่ำกว่า ปลาที่ได้รับอาหารในสูตรอื่นที่ประกอบด้วย โปรตีน 48% ไขมัน 12% และแป้งข้าวโพดดิบ 5, 10,20 และ 26% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Wu *et al.*, 2007) ในส่วนของประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (PRE, %) ซึ่งค่าที่สูงขึ้น แสดงถึงการเกิดการสำรองโปรตีนในระดับสูง คือ ใช้พลังงานจากแป้งสาลีและใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต (Fernández *et al.*, 2007) การศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีน 39% และแป้งสาลี 25% มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง 42-45% และแป้งสาลี

15-20% และมีประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน 38.5% ซึ่งสูงกว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีน 42-45% และแป้งสาลี 15-20% ที่มีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนเพียง 35-37.5% ซึ่งประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนที่สูงขึ้น ร่วมกับอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับโปรตีนในระดับสูง แสดงให้เห็นถึงผลการสำรองโปรตีนที่ชัดเจนของแป้งสาลีที่ระดับ 25% ในอาหาร ที่มีระดับโปรตีน 39% สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้าท์ เมื่อเพิ่มระดับแป้งในอาหารสูตรควบคุม 10% มีผลทำให้ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนปรับเพิ่มขึ้นจาก 38% เป็น 43% แสดงถึงประสิทธิภาพการสำรองโปรตีนที่ปรับเพิ่มขึ้น ทำให้ทราบว่า ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตในอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Tapia-Salazar *et al.,* 2006) ซึ่งการสำรองโปรตีน (protein sparing effect) ประเมินได้จากการเพิ่มขึ้นของการคงอยู่ของโปรตีนในตัว (protein retention) (Hemre *et al*., 2002) เช่น การศึกษาในปลา European ell (Degani *et al.,*1986) ปลานิล (Al-Asgah and Ali, 1993) ปลาเรนโบว์เทราท์ (Kim and Kaushik, 1992) ปลาแอตแลนติกแซลมอน (Hemre *et al.,* 1995a) ปลาแชนแนลแคทฟิช (Channel catfish) (Erfanullah, 1999) อ้างโดย Hemre และคณะ (2002) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu และคณะ (2007) ที่ศึกษาในปลาเยลโลฟินซี บรีม พบว่า การสำรองโปรตีน เห็นได้ชัด จากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งข้าวโพดดิบ 20% และโปรตีน 48% มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นดีเท่ากับปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง คือ โปรตีน 59% แต่อาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูง มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย โปรตีนในระดับต่ำ สอดคล้องในหลายการศึกษา (Shiau and Peng, 1993; Wilson, 1994; Hemre *et al.,* 2002; Peres and Oliva-Teles, 2002; Stone *et al*., 2003b; Krogdahl *et al.,* 2005) ในปลากะพงยุโรป (European seabass; *D. labrax*) พบว่า การลดระดับโปรตีนในอาหาร จาก 63% เป็น 48% โดยการเพิ่มระดับแป้งในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และการสะสมโปรตีนและพลังงาน ชี้ให้เห็นถึง ผลการสำรองโปรตีนจากคาร์โบไฮเดรต (Peres and Oliva-Teles, 2002) และการศึกษาของ Dias และคณะ (1998) พบว่าอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนในระดับเดียวกัน เมื่อเพิ่มแหล่งพลังงานที่สามารถย่อยได้ (digestible energy: DE) จะมีผลเพิ่มการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การสะสมโปรตีน (daily N deposition) และลดการสูญเสียไนโตรเจน (N loss) ปลาเรนโบว์เทราท์ มีการสะสมโปรตีน ไขมัน และพลังงาน เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระดับแป้งในอาหาร (Tapia-Salazar *et al.,* 2006) จากผลการศึกษาที่ได้มีการรวบรวมเกี่ยวกับผลการสำรองโปรตีน พบว่า มีความสัมพันธ์กับการศึกษาอื่นๆ ที่เคยมีการรายงานก่อนหน้านี้ ซึ่งเป็นผลมาจากการควบคุมกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic control) ในการสำรองโปรตีน เมื่อสามารถใช้พลังงานจากแหล่งพลังงานพร้อมใช้ที่ไม่ใช่โปรตีน (Brauge *et al.,* 1994; Erfanullah, 1998; Stone *et al.,* 2003; Hemre et al., 2001 อ้างโดย Fernández *et al.,* 2007)

ส่วนอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำ คือ โปรตีน 33% แป้งสาลี 35% แม้จะมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนสูงที่สุด คือ สามารถใช้ประโยชน์จาก

โปรตีนในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด แต่ปริมาณโปรตีนในอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัด ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารในสูตรนี้จึงมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้ต่ำสุด

ในส่วนการประเมินประสิทธิภาพการย่อยสารอาหารในหลอดทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง ทั้งในส่วนการย่อยโดยเอนไซม์สกัดจากใส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ที่อาหารทุกสูตรมีผลผลิตที่ได้จากการย่อย (AG Liberated) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เนื่องมาจาก องค์ประกอบของโปรตีนในอาหารมีส่วนประกอบที่เหมือนกัน คือ ปลาป่น เครื่องในปลาทูน่า กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และโปรตีนที่มาจากส่วนของแป้งสาลี แม้แป้งสาลีจะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นในอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำลง แต่การย่อยได้ไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า โปรตีนที่มาจากส่วนของแป้งสาลีเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารสามารถย่อยได้ไม่แตกต่างจากโปรตีนที่มาจากแหล่งโปรตีนหลัก สอดคล้องกับการศึกษาของ Peres และ Oliva-Teles (2002) ที่ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยด้วยวิธี *In vivo* พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (ADC protein) ไม่มีผลมาจากอาหารทดลองในปลากะพงยุโรป ในส่วนรูปแบบแป้ง พบว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้ มีผลผลิตของกรดแอมิโน (L-Leucine) ที่ได้จากการย่อยสูงกว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งดิบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Gouveia และคณะ (1995) อ้างโดย Peres และ Oliva-Teles (2002) ที่รายงานว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาซีแบส ไม่ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพของแป้ง ส่วนประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ทั้งระดับของแป้งสาลีและโปรตีน รวมถึงรูปแบบของแป้งมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อย โดยอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูง และรูปแบบแป้งสาลีสุก มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่สูงกว่าแป้งสาลีในระดับต่ำในรูปแบบแป้งสาลีดิบ ซึ่งการนำเทคโนโลยีมาใช้ในการทดลอง (technological treatment) เช่น ความร้อน เป็นกระบวนการทำให้แป้งสุก (Peres and Oliva-Teles, 2002) เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งดิบแล้วมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตและการใช้อาหารในปลากระดูกแข็ง (Furuichi *et al.,* 1987; Jeong *et al.,* 1992 อ้างโดย Peres and Oliva-Teles, 2002) มีผลในการเพิ่มระดับการย่อยได้ของแป้ง และส่งผลถึงการเพิ่มการย่อยได้ของพลังงาน (Bergot and Bréque, 1983; Bergot, 1993; Hemre *et al.,* 1989; Médale *et al.,* 1991; Kim and Kaushik, 1992; Storebakken, 1998 อ้างโดย Peres and Oliva-Teles, 2002) การศึกษาในปลากะพงยุโรป พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งดิบแล้ว (native or normal starch) การมีส่วนประกอบของแป้งสุก จะมีผลเพิ่มการย่อยได้ของแป้ง (starch digestibility) และเพิ่มระดับของแป้งพร้อมใช้ (starch availability) (Dias *et al.,* 1998) และ Peres และ Oliva-Teles (2002) ที่ได้ศึกษาในปลากะพงยุโรป รายงานว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของพลังงาน (ADCe) และประสิทธิภาพการย่อยได้ของแป้ง (ADC starch) มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับแป้งข้าวโพดสุกในอาหารสูงขึ้น ปลาแบล็คสปอตซีบรีม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยแป้ง (ADC starch) สูงในทุกชุดการทดลอง แต่

อาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดสุก (corn starch gelatinization) แสดงค่าปรับปรุงการย่อยได้ของแป้งจาก 97% เป็น 98-99% (Figueiredo-Silva *et al.,* 2009) และการเพิ่มแป้งสาลีสุก (cooked wheat starch) ประมาณ 40% มีค่าการย่อยที่สูงกว่าแป้งสาลีดิบ (native wheat starch: NG) ในปลาเรนโบว์เทราท์ (Inaba *et al.,* 1963 อ้างโดย Kumar *et al.,* 2007) แต่ในกรณีที่อาหารมีระดับแป้งสุกสูงมากเกินไป เช่น การศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม (*S. aurata*) พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตในระดับสูง (high carbohydrate diet) มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ (ADC) ของคาร์บอน โปรตีน และวัตถุแห้ง (dry matter) ที่ต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ชี้ให้เห็นว่า แป้งข้าวโพดสุก ในระดับ 26% มีการย่อยได้อย่างจำกัด จึงเกิดการย่อยได้ที่ต่ำ แต่แป้งข้าวโพดสุกในระดับ 18% (medium carbohydrate diet) เป็นระดับที่ใกล้เคียงกับระดับที่เหมาะสม ทำให้ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อย (Fernández *et al.,* 2007) และจากการศึกษาครั้งนี้ ดูเหมือนว่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตมีความสัมพันธ์กับการนำสารอาหารที่ได้รับไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโต มีการเปลี่ยนรูปและนำไปสะสมในตัวปลา ในรูปแบบต่างๆ เช่น ค่าองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ระดับน้ำตาลในเลือด ค่าดัชนีไขมันในช่องท้อง รวมถึงการสะสมเป็นไกลโคเจนในตับ เป็นต้น

องค์ประกอบในตัวสิ้นสุดการทดลอง พบว่า รูปแบบแป้งไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา ($P>0.05$) แต่ระดับของแป้งสาลีรวมถึงโปรตีนในอาหาร มีผลต่องค์ประกอบของโปรตีน พลังงาน และไขมันในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง ($P<0.05$) โดยองค์ประกอบของโปรตีนในตัวสิ้นสุดการทดลอง มีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 20% และโปรตีน 42% ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารในกลุ่มนี้มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีที่สุด และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับโปรตีนในอาหารลดลงและแป้งสาลีในอาหารสูงขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองในปลาไวท์ซีบรีม (white sea bream; *Diplodus sargus*) ที่องค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง ในปลาที่ได้รับอาหรที่ประกอบด้วยโปรตีน 48% มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีน 36% (Sá *et al*., 2008) และในปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่า การเพิ่มระดับแป้งในอาหาร มีผลลดองค์ประกอบของโปรตีนและความชื้นในตัวปลาสิ้นสุดการทดลอง (Tapia-Salazar *et al.,* 2006) ในขณะที่การศึกษาอื่นๆ พบว่า การเพิ่มระดับแป้งในอาหร ไม่มีผลต่อองค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองในปลากะพงยุโรป (Peres and Oliva-Teles, 2002) ปลาเรนโบว์เทราท์ (Brauge *et al.,* 1994) ปลากะพงขาว (Gouveia *et al.,* 1995 อ้างโดย Dias *et al*., 1998*)* ปลาเยลโลฟินซีบรีม (Wu *et al.,* 2007) และปลาชนิดอื่นๆ (Hemre *et al.,* 1989; Wang *et al.,* 2005) ส่วนพลังงานในตัวปลาสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% มีพลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองต่ำที่สุด ซึ่งผู้ศึกษาคาดว่า ปลากะพงขาวนำแป้งสาลีที่ประกอบในอาหารไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในร่างกายปลาเกือบหมด และใช้โปรตีนที่มีอย่างจำกัดเพื่อการเจริญเติบโต จึงทำให้เหลือเก็บเป็นพลังงานในตัวน้อยที่สุด ดังที่เห็นจากผลการวิเคราะห์พลังงานในตัวสิ้นสุดการทดลองที่มีค่าต่ำที่สุด

ส่วนองค์ประกอบไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง ในการศึกษาต่างๆ พบว่า การเพิ่มระดับของคาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้ หรือการเพิ่มระดับของแป้งในอาหาร มีผลทำให้องค์ประกอบในตัวสิ้นสุดการทดลองเพิ่มสูงขึ้น (Kaushik and Oliva-Teles, 1985; Grisdale-Helland and Helland, 1997; Dias *et al.,* 1998; Lanari *et al.,* 1999; Venou *et al.,* 2003) แต่ในการศึกษาอื่นๆ พบผลที่ตรงกันข้าม (Refstie and Austreng, 1981; Hilton and Atkinson, 1982) ซึ่งองค์ประกอบของไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลองครั้งนี้ แม้ไม่พบความแตกต่างของการได้รับแป้งสาลีและโปรตีนในระดับต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่องค์ประกอบไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม (*S. aurata*) ที่องค์ประกอบไขมันในตัวสิ้นสุดการทดลอง ของปลาที่ได้รับ HC diet (โปรตีน 43% แป้งข้าวโพดสุก 26%) > MC diet (โปรตีน 54% แป้งข้าวโพดสุก 18%) > LC diet (โปรตีน 63% แป้งข้าวโพดสุก 5%) (Fernández *et al.,* 2007) และ Tapia- Salazar และคณะ (2006) พบว่า การเพิ่มระดับแป้งในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ มีผลเพิ่มองค์ประกอบของไขมัน พลังงาน และไกลโคเจนในตับ

ดัชนีตับ (HSI) และการสะสมไกลโคเจนในตับ ซึ่งมีผลมาจากการได้รับสารอาหารและสะสมสารอาหาร (deposit) ประเภทคาร์โบไฮเดรต จากการศึกษาต่างๆ พบว่า เมื่อระดับแป้งในอาหารเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ค่า HSI สูงขึ้น ในปลากะพงยุโรป (Dias *et al.,* 1998; Peres and Oliva-Teles, 2002) ปลาเรนโบว์เทราท์ (Tapia-Salazar *et al*., 2006) ปลาไวท์ซีบรีม (Sá *et al.,* 2008) ปลาแบล็คสปอตซีบรีม (Figueiredo-Silva *et al.,* 2009) ซึ่งการศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ แม้ว่า ค่า HSI ไม่มีผลมาจากรูปแบบแป้งและการเพิ่มแป้งสาลีในอาหาร แต่มีผลต่อการสะสมไกลโคเจนในตับ โดยปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีสุกมีการสะสมไกลโคเจนในตับที่สูงกว่าแป้งสาลีดิบที่แป้งระดับเดียวกัน (P>0.05) และการสะสมไกลโคเจนในตับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มระดับแป้งในอาหาร สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเยลโลฟินซีบรีม โดย Wu และคณะ (2007) ได้รายงานไว้ว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งข้าวโพดดิบ 26% มีค่า HSI สูงที่สุด ซึ่งเป็นผลมาจากการการสะสมไกลโคเจนในตับที่สูง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับแป้งข้าวโพดดิบในระดับ 5, 10 และ 20% และการศึกษาในปลากิล์เฮดซีบรีม พบว่า การเพิ่มขึ้นของค่า HSI มีความสัมพันธ์สอดคล้องกับการเพิ่มระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร โดยปลาที่ได้รับ HC diet (High carbohydrate: แป้งข้าวโพดสุก 26% โปรตีน 47%) มีค่า HSI สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ คือ LC (Low carbohydrate) และ MC (Medium carbohydrate) ซึ่งค่า HSI ที่สูง อาจมาจาก การเพิ่มการสะสมไกลโคเจนภายในตับ (Fernández *et al*., 2007) ชี้ให้เห็นว่า การสะสมไกลโคเจนในตับ มีผลทำให้ตับขยายขนาดขึ้น ชี้ให้เห็นถึงผลการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต ถ้าไม่ได้ใช้เป็นแหล่งพลังงาน หลังจากเปลี่ยนรูปแล้ว จะถูกนำไปสะสม (accumulate) เป็นไกลโคเจนในตับ (Kim and Kaushik, 1992; Brauge *et al*., 1994; Hatlen *et al.,* 2005) นอกจากนี้ค่า HSI ที่สูง อาจมาจากสาเหตุการเพิ่มการสะสมไขมันในตับ (hepatic lipid content) ที่เคยมีการศึกษาในปลากะพงยุโรป (Dias *et al*., 1998 ;

Peres *et al.,* 1999 อ้างโดย Peres and Oliva-Teles, 2002) ได้รายงานไว้ว่า ค่า HSI, ไกลโคเจนในตับ และไขมันในตับ มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มคาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้ในอาหาร (digestible carbohydrate) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบคาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้ในระดับสูง ส่งเสริมให้มีการสังเคราะห์ไขมันสะสมภายในตับ ในปลาเรนโบว์เทราท์ โดย Brauge และคณะ (1995) ได้ศึกษาโดยวิธี *In Vitro* พบส่วนประกอบ ^{14}C-glucose ในไขมันในตับเพิ่ม เมื่อปลาได้รับอาหารที่อุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้ และชี้ให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของกระบวนการ lipogenesis จากคาร์โบไฮเดรตในอาหาร แม้การศึกษาครั้งนี้ไม่มีการศึกษาองค์ประกอบไขมันในตับปลา แต่ก็ทำให้ทราบว่า ค่า HSI ที่เพิ่มขึ้นนอกจากมาผลมาจากการสะสมไกลโคเจนในตับแล้วยังมาจากการสะสมไขมันในตับ

ระดับน้ำตาลในเลือดของปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง 3.57-7.10 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างจากผลการทดลองที่ 1 ซึ่งพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดของปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี (โปรตีน 45% และแป้งสาลี 17%) มีปริมาณน้ำตาลในเลือด เท่ากับ 6.36±1.58 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร และจากข้อสังเกต พบว่า ระดับน้ำตาลในเลือด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับแป้งสาลีในระดับต่ำ คือ 15-25% มีปริมาณน้ำตาลในเลือดอยู่ในช่วง 5.39-7.10 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ซึ่งมีระดับน้ำตาลที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูง คือ 30-35% ที่มีปริมาณน้ำตาลในเลือด 3.57-5.07 มิลลิโมลกลูโคส/ ลิตร ที่เป็นเช่นนี้ อาจเนื่องจาก แป้งสาลีเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดที่มีโครงสร้างซับซ้อน เอนไซม์ในทางเดินอาหารจะค่อยๆ ย่อยคาร์โบไฮเดรตและดูดซึมในรูปของกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดอย่างช้าๆ ทำให้มีค่าระดับน้ำตาลในเลือดที่ไม่สูงมาก โดยปลากลุ่มที่ได้รับแป้งสาลีในระดับ 15-25% เป็นระดับที่ไม่สูงมากในอาหาร จึงมีระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับแป้งสาลีในระดับสูง คือ 30-35% ซึ่งระดับแป้งสาลีที่สูงน่าจะมีผลที่ทำให้ย่อยได้ยากขึ้น จึงมีระดับน้ำตาลในเลือดที่ต่ำกว่า หลังการได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง

ส่วนค่าดัชนีไขมันในช่องท้อง (IPF) เป็นรูปแบบหนึ่งของการนำสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่เหลือจากการใช้เป็นแหล่งพลังงาน นำไปสะสมในรูปต่างๆ ซึ่งนอกจากสะสมเป็นไกลโคเจนในตับแล้ว อาจมีการสะสมในรูปของไขมัน ซึ่งเคยมีรายงานในการศึกษาในปลากะพงยุโรป (*D. labrax*) รูปแบบการสะสมไขมัน จะเกิดการสำรองไขมันภายนอกส่วนของกล้ามเนื้อที่มีการเคลื่อนไหว เช่น ในตับ (liver) หรือเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) (Dias *et al.,* 1998; Peres *et al.,* 1999)

จากผลการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมในการใช้คาร์โบไฮเดรต พบว่า การเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารมีผลเพิ่มกิจกรรมเอนซ์ Pyruvate kinase โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับสูง คือ แป้งสาลี 35% มีกิจกรรมเอนไซม์ Pyruvate kinase สูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับต่ำ คือ 15% มีกิจกรรมเอนไซม์ Pyruvate kinase ต่ำที่สุดและแตกต่างจากปลาที่ได้รับแป้งในระดับ 35% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P<0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาในปลากะพงยุโรป ซึ่งพบผลทางบวกอย่างมีนัยสำคัญ ในอาหารที่ประกอบด้วยแป้งในระดับสูง จะส่งผลเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ Glucokinase (GK) และ Pyruvate kinase (PK) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมที่ไม่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ (Enes *et al.,* 2006) สอดคล้องกับการศึกษาในปลากิลท์เฮดซีบรีม (Panserat *et al.,* 2000; Caseras *et al.,* 2002; Enes *et al*., 2008) และการศึกษาในปลาชนิดอื่นๆ (Tapia-Salazar *et al.,* 2006; Sá *et al.,* 2008) ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ Pyruvate kinase และ Glucokinase เป็นกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) คือการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งแป้งสาลีหรือแป้งข้าวโพดจากการศึกษาอื่นๆ ทำให้ทราบว่าปลากินเนื้อสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนจำพวกแป้งได้ดี โดยจะค่อยๆ ย่อย และดูดซึมสารอาหาร เมื่อเพิ่มระดับแป้งในอาหารจึงมีผลเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิสที่สูงขึ้น นอกจากนี้ การเพิ่มระดับแป้งในอาหารยังมีผลเหนี่ยวนำเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิส และทำให้กลูโคสที่เหลือจากกระบวนการย่อย ที่มีปริมาณมากเกิน มีผลเพิ่มการสะสมเป็นไกลโคเจนในตับ โดยจากการศึกษาของ Enes และคณะ (2006) พบว่า เมื่อเพิ่มระดับแป้งข้าวโพดในอาหารจาก 10% เป็น 20% มีผลเพิ่มการสะสมไกลโคเจนในตับสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาในปลากะพงขาวครั้งนี้ ที่พบว่า การเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารมีผลในการเพิ่มการสะสมไกลโคเจนในตับ ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซิส (Gluconeogenesis) หรือกระบวนการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ พบว่า การเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารมีผลลดกิจกรรมเอนไซม์ Glucose-6-phosphatase (G6Pase) โดยปลากะพงขาวที่ได้รับแป้งสาลีในระดับต่ำสุด คือ แป้งสาลี 15% มีกิจกรรมเอนไซม์ G6Pase สูงที่สุดและมีแนวโน้มลดลงตามการเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหาร ซึ่งจากผลการศึกษาในปลากะพงขาวทำให้ทราบว่า แป้งสาลีในระดับต่ำมีผลทำให้ตัวปลาต้องสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มระดับแป้งสาลีในอาหารแล้วส่งผลทำให้กิจกรรมเอนไซม์ G6Pase ลดลง สอดคล้องกับการศึกษาในปลากะพงยุโรป ที่พบว่า การเพิ่มระดับแป้งในอาหารมีผลลดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนกลูโคนีโอเจเนซิส คือกิจกรรมเอนไซม์ Fructose-1,6-bisphosphate (FBPase) (Enes *et al.,* 2006) แต่ Enes และคณะ (2006) ได้อธิบายการศึกษาไว้ว่า ระดับโปรตีนในอาหารที่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่มากกว่าระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร โดยกิจกรรมเอนไซม์ FBPase มีนัยสำคัญแต่ G6Pase ไม่มีผล และกิจกรรมเอนไซม์ FBPase ในปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนสูง (HP diet: โปรตีน 68%) มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับโปรตีนในระดับต่ำ (โปรตีน 48%) ดังนั้น จึงคาดว่า ระดับโปรตีนในอาหารเป็นปัจจัยหลักที่ควบคุมกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซิส และเคยมีการรายงานในปลาเรนโบว์เทราท์ (Kirchner *et al.,* 2003 อ้างโดย Enes *et al.,* 2008) ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปจีนีซิส (Lipogenesis) คือกระบวนการนำสารอาหารที่เหลือไปสังเคราะห์เป็นไขมัน ซึ่งอาจเป็นไขมันสะสมในตัวหรือไขมันสะสมในตับ (Dias *et al*., 1998: Peres *et al.,* 1999) และกระบวนการลิโปจีนีซิส ในปลาโดยทั่วไป จะถูก

กระตุ้นได้โดยการมีคาร์โบไฮเดรตในระดับสูง หรือ การเพิ่มระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหาร (Likimini and Wilson, 1982; Fynn-Aikins *et al.,* 1992; Shimeno *et al.,* 1995; Sá et al., 2007,2008) ในการศึกษาครั้งนี้เลือกศึกษากิจกรรมเอนไซม์ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) พบว่า ระดับแป้งสาลีและระดับโปรตีนในอาหารไม่มีผลต่อกิจกรรม G6PDH เนื่องจาก อาหารสำหรับปลากะพงขาวในการทดลองนี้ นอกจากจะเพิ่มระดับคาร์โบไฮเดตในอาหารแล้ว ก็ยังลดระดับโปรตีนในอาหารควบคู่กันไปด้วย ในขณะที่การศึกษาอื่นๆ มีการเพิ่มระดับแป้งในอาหารและกำหนดให้โปรตีนในอาหารเท่ากัน จึงเห็นผลที่ชัดเจนของกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปจีนีซิส นอกจากนี้การศึกษาในปลากะพงครั้งนี้ไม่พบผลการสะสมไขมันในตัว หรือการสะสมไขมันในช่องท้องที่ชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลของกิจกรรมเอนไซม์ G6PDH ที่ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลาไวท์ซีบรีม (*D. sargus*) ที่พบว่า กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลิโปจีนีซิส คือ Fatty acid synthetase (FAS), Malic enzyme (ME) และ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) ไม่มีผลมาจากระดับแป้งข้าวโพดในอาหาร ซึ่งในการทดลอง มีการเพิ่มระดับแป้งข้าวโพดและลดระดับโปรตีนในอาหาร ชี้ให้เห็นว่า แป้งในอาหารถูกนำมาใช้ผลิตพลังงาน หรือใช้ในการสังเคราะห์ไกลโคเจน แต่ไม่ได้ถูกใช้ในการสังเคราะห์ไขมัน (Sá *et al.,* 2008)

การเลือกใช้แป้งสาลีในการสร้างสูตรอาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาว มีผลในการลดต้นทุน จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% และโปรตีนรวม 39% มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารนระดับดีไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลีในระดับ 15-20% และโปรตีน 45-42% แต่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และเกิดการสำรองโปรตีน ซึ่งแสดงถึงการใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่สูงกว่าการใช้อาหารที่มีโปรตีนในระดับสูง เมื่อคำนวณโปรตีนจากแป้งสาลีในการใช้ในระดับ 25% จะได้ค่าโปรตีนเท่ากับ 3.50% เมื่อในอาหารกำหนดให้ใช้โปรตีนรวม 39% เพราะฉะนั้นจะใช้โปรตีนจากแหล่งโปรตีนหลักเพียง 35.50% และเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารสำหรับปลากะพงขาว ที่มีการใช้โปรตีนในระดับสูง คือ 45% และแป้งสาลี 15% พบว่า สามารถลดการใช้โปรตีนหลักได้สูงถึง 7.40 % เมื่อคำนวณต้นทุนราคาอาหาร พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลี 25% โปรตีน 39% มีราคา 60.02 บาท/ กิโลกรัม ในขณะที่ อาหารที่ประกอบด้วย แป้งสาลี 15% โปรตีน 45% และแป้งสาลี 20% โปรตีน 42% มีราคา 61.64 และ 60.83 บาท/ กิโลกรัม ตามลำดับ โดยมีต้นทุนการผลิตปลาที่ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เนื่องจาก ในการสร้างสูตรอาหารในการศึกษาครั้งนี้ กำหนดให้ไขมันรวมในอาหาร เท่ากับ 12% เมื่อกำหนดให้เพิ่มแป้งสาลี และลดระดับโปรตีนรวมในอาหาร มีผลทำให้ไขมันในอาหารลดลง จึงต้องเพิ่มน้ำมันปลาในสูตรอาหาร และในการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำมันปลาเป็นแหล่งไขมันเพียงแหล่งเดียว จึงมีผลทำให้ราคาอาหารไม่ลดลงมากนัก แต่อย่างไรก็ตาม การใช้แป้งสาลีในระดับ 25% และโปรตีน 39% ถือเป็นหนทางการลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับปลากะพงขาว ในเรื่องการลดการใช้วัตถุดิบ

โปรตีนที่มีราคาสูงกว่าแป้ง ลดของเสียไนโตรเจน และมีผลเกี่ยวเนื่องไปถึงการลดต้นทุนการกำจัดของเสียที่เกิดจากโปรตีนในกระบวนการการผลิตปลากะพงขาวลงได้

4.7 **สรุปผลการศึกษา**

อาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีในระดับ 25% โปรตีนรวม 39% และไขมัน 12% เป็นองค์ประกอบที่มีความเหมาะสมในการผลิตอาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาว เนื่องจากปลามีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี การใช้แป้งสาลีและโปรตีนในระดับนี้ยังเห็นผลที่ชัดเจนของการสำรองโปรตีน ซึ่งเป็นการใช้สารอาหารให้เกิดประโยชน์สูงสุด ช่วยยกระดับกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิส และลดการสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ นอกจากนี้ การใช้แป้งสาลีระดับนี้ ช่วยลดการใช้โปรตีนรวมในอาหารลงได้ 3.50% ซึ่งเป็นการลดต้นทุน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่มีความเหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ในอาหารสำหรับปลากะพงขาว คือ แป้งมันสำปะหลังและแป้งสาลี เนื่องจาก ปลามีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และการสะสมสารอาหารต่างๆ ที่แสดงถึงผลการสำรองโปรตีนดีที่สุด และเมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง พบว่า อาหารที่ประกอบด้วยแป้งทั้ง ชนิด จะมี 2 การค่อยๆ ย่อย และดูดซึมสารอาหารอย่างช้าๆ ทำให้มีระดับน้ำตาลในเลือดที่ไม่สูงมาก ปลาจึงจากสารอาหารที่ประกอบในอาหารได้อย่างสูงสุดสามารถใช้ประโยชน์ แต่แป้งสาลีมีความเหมาะสมต่อการใช้ในอาหารปลากะพงขาวมากกว่า เนื่องจาก มีองค์ประกอบของโปรตีนที่สูง (14%) ถ้ามีการใช้ในอาหารที่ระดับ 17% สามารถแทนที่แหล่งโปรตีนหลักได้ 2.38% ในขณะที่ แป้งมันสำปะหลัง มีองค์ประกอบโปรตีนเพียง 0.1%

2. แป้งสาลีในระดับ 25% โปรตีนรวม 39% และไขมันรวม 12% เป็นระดับขององค์ประกอบที่มีความเหมาะสมในอาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาว เนื่องจาก ปลามีอัตราการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร เกิดประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน และเกิดผลการสำรองโปรตีนที่ดีกว่าการใช้โปรตีนในระดับสูง (42-45%) นอกจากนี้ ยังส่วยส่งเสริมกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไกลโคไลซิส (PK) และลดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการกลูโคนีโอจีนีซีส (G6Pase) และการใช้แป้งสาลีในระดับนี้ช่วยลดการใช้โปรตีนรวมในอาหารลงได้ 3.50% ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับปลากะพงขาว

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin) และกลูคากอน (Glucagon) เพื่อดูผลการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรต ซึ่งอาจจะทำให้เห็นผลของการใช้สารอาหารที่ชัดเจนขึ้น

2. ควรมีการศึกษาคุณภาพเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตในระดับต่างๆ เนื่องจาก การได้รับคาร์โบไฮเดรตในระดับสูงอาจมีผลทำให้มีการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อสูงขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณภาพเนื้อและเนื้อสัมผัสของปลากะพงขาว

3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของระดับไขมันในอาหาร ซึ่งอาจสามารถลดระดับไขมันในสูตรอาหารได้ต่ำกว่า 12% นอกจากนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของชนิดของน้ำมันในสูตรอาหาร เพราะจะช่วยลดการใช้น้ำมันปลาซึ่งเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีราคาแพง

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2552ก. ผลผลิตการเลี้ยงปลาน้ำกร่อย จำแนกตามชนิดและประเภทการเลี้ยง เป็นรายจังหวัด ปี 2552. หนังสือสถิติการประมงแห่งประเทศไทย. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. เข้าถึงจาก: www.fisheries.go.th/it-stat/ [10 มีนาคม 2555]

กรมประมง. 2552ข. มูลค่าผลผลิตการเลี้ยงปลาน้ำกร่อย จำแนกตามชนิดและประเภทการเลี้ยง เป็นรายจังหวัด ปี 2552. หนังสือสถิติฟาร์มเลี้ยงปลาน้ำกร่อย. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. เข้าถึงจาก: www.fisheries.go.th/it-stat/ [10 มีนาคม 2555]

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, พิชญา ชัยนาค, ทวี จินดามัยกุล และชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2545. ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงแดง. วารสารการประมง 55: 413-421.

ชุติมา ตันติกิตติ. 2549. หลักโภชนศาสตร์และและการวิจัยด้านอาหารสัตว์น้ำ. สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชุติมา ตันติกิตติ, สร้อยแก้ว เอียงอุบล และมณี ศรีชะนันท์. 2555. ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงขาวที่มีเครื่องในปลาทูน่าป่นร่วมกับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น. วารสารการประมง 64: -.

ธวัช ศรีวีระชัย. 2538. การอนุรักษ์ลูกปลากะพงขาวในกระชังด้วยอาหารต่างชนิด. สตูล: เอกสารวิชาการฉบับที่ 45/2538 ศูนย์พัฒนาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสตูล.

ธวัช ศรีวีระชัย, ฐานันดร์ ทัตตานนท์ และวิชัย ชัยชนะกสิกรรม. 2543. การใช้อาหารเม็ดทดแทนปลาสดในการอนุบาลปลากะพงขาว จากขนาด 1 นิ้ว ให้มีขนาด 3 นิ้ว ในกระชัง. นราธิวาส: เอกสารวิชาการฉบับที่ 50/2543 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งนราธิวาส.

นันทิยา อุ่นประเสริฐ, มะลิ บุณยรัตผลิน และวิเชียร สาคเรศ. 2531. ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงขาว. ระยอง: เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2531 กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541. ชีวเคมีทางสัตว์ศาสตร์. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มะลิ บุณยรัตผลิน, ประวิทย์ สุรนีนารถ และธำมรงค์ ตันภิบาล. 2539. การแทนที่ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆ ในอาหารปลากะพงขาว. สงขลา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 19/2539 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.

วัลลภ ทิมดี และวิรงรอง ทิมดี. 2548. การใช้เทคโนโลยีภูมิสารสนเทศในการจัดทำฐานข้อมูล การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา. ฉะเชิงเทรา: เอกสารวิชาการฉบับที่ 49/2548 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งฉะเชิงเทรา.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ชลบุรี: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาพร มหันต์กิจ. 2549. การใช้วัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Anderson, J. S., Jackson, A. J., Matty, A. J., and Capper, B. S. 1984. Effects of dietary carbohydrate and fiber on the tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.). Aquaculture 37: 303-314.

AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). 1999. Official Methods of Analysis. 16th Ed. Washington, DC.: Association of Official Analytical Chemists.

Baeverfjord, G. 1992. Digestible and indigestible carbohydrates in rainbow trout diets. PhD. Thesis. Norwegian College of Veterinary Medicine, Norway.

Benjakul, S. and Morrissey, M. T. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61: 131-138.

Bergmeyer, H.U., Brent, E., Schmidt, E. and Stork, H. 1974. D-Glucose. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *In* Methods of Enzymatic Analysis, vol. III (eds. H.U. Bergmeyer, J. Bergmeyer and M. Graßl). New York: Academic Press.

Bergot, F. 1979. Carbohydrate in rainbow trout diets: Effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition. Aquaculture 18: 157-167.

Bergot, F. and Breque, J. 1983. Digestibility of starch by rainbow trout. Effects of the physical state of starch and of the intake level. Aquaculture 34: 543-547.

Borba, M. R., Fracalossi, D. M. and Pezzato, L. E. 2006. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. Aquaculture Nutrition 12: 183–191.

Brauge, C., Corraze, G. and Médale, F. 1995. Effects of dietary levels of carbohydrates and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 111: 117– 124.

Brauge, C., Medale, F. and Corraze, G. 1994. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss,* reared in seawater. Aquaculture 123: 109-120.

Caseras, A., Metón, I., Vives, C., Egea, M., Fernández, F. and Baanante, I. V. 2002. Nutritional regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in liver of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). British Journal of Nutrition 88: 607–614.

Catacutan, M.R. and Coloso, R.M. 1998. Growth of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*, fed varying carbohydrate and lipid levels. Aquaculture 149: 137–144.

Couto, A., Enes, P., Peres, H. and Oliva-Teles, A. 2008. Effect of water temperature and dietary starch on growth and metabolic utilization of diets in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 151: 45–50.

Cui, X. J., Zhou, Q. C., Liang, H. O., Yang, J. and Zhao, L. M. Effects of dietary carbohydrate sources on the growth performance and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus.) Aquaculture Research 42: 99-107.

Deng, D. F., Hemre, G. I., Storebakken, T., Shiau, S. Y. and Hung, S. S. O. 2005. Utilization of diets with hydrolyzed potato starch, or glucose by juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), as affected by Maillard reaction during feed processing. Aquaculture 248: 103-109.

Dias, J., Alvarez, M. J., Diez, A., Arzel, J., Corraze, G., Bautista, J.M. and Kaushik, S. J. 1998. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary protein/energy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 161: 169-186.

Ellis, S. C. and Reigh, R. C. 1991. Effect of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus.* Aquaculture 97: 387-394.

Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S. and Oliva-Teles, A. 2006. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 143: 89–96.

Enes, P., Panserat, S. Kaushik, S. and Oliva-Teles, A. 2008. Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquaculture 274: 101-108.

Fernández, F., Miquel, A. G., Córdoba, M., Varas, M., Metón, I., Caseras, A. and Baanante, I. V. 2007. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 343: 1–10.

Figueiredo-Silva, A. C., Corraze, G., Rema, P., Sanchez-Gurmaches, J., Gutiérrez, J. and Valente, L. M. P. 2009. Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) lipogenic and glycolytic pathways appear to be more related to dietary protein level than dietary starch type. Aquaculture 291: 101-110.

Fredrikssan, H., Silverio, J., Anderson, R., Eliasson, A. C. and Åman, P. 1998. The influence of amylase and amylopectin characteristics on gelatinization and retragodation propoties of different starch. Carbohydrate Polymers 35: 119-143.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries 32: 502– 506.

Fynn-Aikins, K., Hung, S. S. O., Liu, W. and Li, H. 1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different level of D-glucose. Aquaculture 105: 61-72.

Fu, S. J. 2005. The growth performance of southern catfish fed diets with raw, precooked cornstarch and glucose at two levels. Aquaculture Nutrition 11: 257–261.

Fu, S. J. 2007. The specific dynamic action of southern catfish, *Silurus meridonalis* Chen, fed diets containing either raw or precooked corn starch or glucose. Fish Physiology and Biochemistry 33: 135-141.

Grisdale-Helland, B. and Helland, S. J. 1997. Replacement of protein by fat and carbohydrate in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of the freshwater stage. Aquaculture 152: 167–180.

Hassid, W.Z. and Abraham, S. 1957. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. Methods in Enzymology 3: 34-50.

Hemre G. I., Lie, Ø., Lied, E. and Lambertsen G. 1989. Starch as an energy source in feed for cod (Gadus morhua): digestibility and retention. Aquaculture 80: 261-270.

Hemre, G. I., Mommsen, T. P. and Krogdahl, Å. 2002. Carbohydrates in fish nutrition: Effect on growth, glucose metabolism and hepatic enzyme. Aquaculture Nutrition 8: 175-194.

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

Hilton, J. W.and Atkinson, J. L. 1982. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increase levels of available carbohydrates in practical trout diets. British Journal of Nutrition 47: 597– 607.

Hilton, J. W., Atkinson, J. I. and Slinger, S. J. 1983. Effect of increased dietary fiber on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 40: 81-85.

Hung, S. S. O., Groff, J. M. Lutes, P.B., Fynn-Aikins, K. F. 1990. Hepatic and Intestinal HSItology of juvenile white sturgeon fed different carbohydrates. Aquaculture 87: 149-160.

Hutchins, C. G., Rawles, S. D. and Gatlin III, D. M. 1998. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilish*). Aquaculture 161: 187–199.

Ihekoronye, I. A. 1986. Rapid in vitro enzymatic predictive model for the in vivo digestibility of food protein. Journal of Food Technology 21: 81-87.

Jauncey, K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, feed conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia, *Sarotherodon mossambicus*. Aquaculture 27: 43-54.

Kaushik, S. J. and Oliva-Teles, A. D. 1985. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. Aquaculture 50: 89–101.

Kaushik, S. J. and Médale, F. 1994. Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. Aquaculture 124: 81-79.

Kim, J. D. and Kaushik, S. J. 1992. Contribution of digestible energy from carbohydrates and estimation of protein/ energy requirements for growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 106: 161– 169.

Krogdahl, Å., Hemre, G. I. and Mommsen, T. P. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. Aquaculture Nutrition 11: 103-122.

Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Choudhury, D. and Mukherjee, S. C. 2006a. Non-gelatinized corn supplemented with α-amylase at sub-optimum protein level enhances the growth of *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research 37: 284-292.

Kumar, V., Sahu, N.P., Pal, A.K. and Kumar, S. 2007. Immunomodulation of *Labeo rohita* juveniles due to dietary gelatinized and non-gelatinized starch. Fish and Shellfish Immunology 23: 341-353.

Kumar, V., Sahu, N. P., Pal, A.K., Kumar, S. and Gupta, S.K. 2008. Gelatinized to non-gelatinized starch ratio in the diet of *Labeo rohita*: Effect on digestive and metabolic response and on growth. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 92 (4): 492–501.

Lanari, D., Poli, B. M., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'Agaro, E. and Mecatti, M. 1999. The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrachus labrax* L.) growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. Aquaculture 179; 1-4.

Lee, S.M., Kim, K.D. and Lall, S.P. 2003. Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 221: 427–438.

Lee, S. M. and Lee, J. H. 2004. Effect of dietary glucose, dextrin and starch on growth and body composition of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*. Fisheries Science 70: 53-58.

Lin, J.H. and Shiau, S.H. 1994. Hepatic enzyme adaptation to different dietary carbohydrates in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x O.*aureus*. Fish Physiology and Biochemistry 14: 165-170.

Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Follin Phenol Reagent. The Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.

Martino, R. C., Cyrino, J. E. P., Portz, L. and Trugo, L. C. 2005. Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz) fed diets with varying carbohydrate and lipid levels. Aquaculture Nutrition 11: 131–137.

Maule, A. G., Tripp, R. A., Kaattari, S. L. and Schreck, C. B. 1989. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhychus tshawytscha*). Journal of Endocrinology 120; 135-142.

Misra, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Xavier, B., Kumar, S. and Mukherjee, S.C. 2006. Pre- and post-challenge immuno-haematological changes in *Labeo rohita* juveniles fed gelatinised or non-gelatinised carbohydrate with n-3 PUFA. Fish and Shellfish Immunology 21: 346–356.

Mohapatra, M., Sahu, N. P. and Chaudhari, A. 2003. Utilization of gelatinized carbohydrate in diets of *Labeo rohita* fry. Aquaculture Nutrition 9: 189-196.

Mokoginta, I., Takeuchi, T., Hadadi, A. and Dedi, J. 2004. Different capabilities in utilizing dietary carbohydrate by fingerling and subadult giant gouramy *Osphronemus gouramy*. Fisheries Science 70: 996–1002.

Moon, T.W. 2001. Glucose tolerance in fish: Fact or fiction?. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 129: 243-244.

Moreira, I.S., Peres, H., Couto, A., Enes, P. And Oliva-Teles, A. 2008. Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilisation of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture 274: 153–160.

Nankervis L., Matthews S. J. and Appleford P. 2000 Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient retention and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture191: 323-335.

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. Washington, D.C.: National Academic Press.

Panserat, S., Capilla, E., Gutierrez, J., Frappart, P. O., Vachot, C., Plagnes-Juan, E., Aguirre, P., Brèque, J. and Kaushik, S.J. 2001. Glucokinase is highly induced and glucose-6-phosphatase poorly regressed in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by a single meal wih glucose. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 128: 275-283.

Peres, H., Gonçalves, P. and Oliva-Teles, A. 1999. Glucose tolerance in seabream (*Sparus aurata*) and in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 179: 415–423.

Peres, H. and Oliva-Teles, A. 2002. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture 205: 287– 299.

Pieper, A. and Pfeffer, E. 1980. Studies on the effect of increasing proportions of sucrose or gelatinized maize starch in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri,* R.) on the utilization of dietary energy and protein. Aquaculture 20: 333-342.

Podoskina, T. A., Podoskin, A. G. and Bekina, E. N. 1997. Efficiency of utilization of some potato starch modifications by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 152: 235-248.

Rawles, S. D. and Gatlin III, D. M. 1998.Carbohydrate utilization in striped bass (*Morone saxatilis*) and sunshine bass (*M. chrysops* female x *M. saxatilis* male). Aquaculture 161: 201-212.

Rawles, S. D. and Lochmann, R. 2003. Effects of amylopectin/ amylase starch ratio on growth, body composition and glycemic response of sunshine bass (*Morone chrypsops* female x *M. saxtilis* male). Journal of the world Aquaculture Society 34: 278-288.

Refstie, T. and Austreng, E. 1981. Carbohydrate in rainbow trout diets. III. Growth and chemical composition of fish from different families fed four levels of carbohydrate in the diet. Aquaculture 25: 35–49.

Sá, R., Pousáo-Ferreira, P. and Oliva-Teles, A. 2008. Effect of dietary starch source (normal versus waxy) and protein levels on the performance of white sea bream *Diplodus sargus* (Linnaeus) juveniles. Aquaculture Research 39: 1069-1076.

Shiau, S. Y. 1997. Utilization of carbohydrates in warmwater fish with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. Aquaculture 151: 79-96.

Shiau, S. Y., Peng, C. Y.1993. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus x O. aureus*. Aquaculture 117: 327–334.

Shiau, S. Y. and Lin, Y. H. 2002. Utilization of glucose and starch by the grouper *Epinephelus malabaricus* at 23°C. Fisheries Science 68: 991–995.

Shiau, S. Y. and Peng, J. C. 1997. Protein sparing effect by carbohydrate in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus x O. aureus.* Aquaculture 133; 249-256.

Shimeno, S., Kheyyali, D. and Shikata, T. 1995. Metabolic response to dietary carbohydrate to protein ratios in carp. Fisheries Science 61: 277-281.

Silverstein, J. T., Shearer, K. S., Dickhoff, W. W. and Plisetskaya, E. M. 1999. Regulation and nutrient intake and energy balance in salmon. Aquaculture 177: 161-169.

Spannhof, L. and Plantikow, H. 1983. Studieson carbohydrate digestion in rainbow trout. Aquaculture 30: 95-108.

Stone, D. A. J. 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. Reviews in Fisheries Science 11: 337-369.

Stone, D. A. J., Allan, G. L. and Anderson, A. J. 2003a. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). II. Digestibility and utilization of starch and its breakdown products. Aquaculture Research 34: 109-121.

Stone, D.A.J., Allan, G.L. and Anderson, A.J. 2003b. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). III. The protein-sparing effect of wheat starch-based carbohydrates. Aquaculture Research 34: 123-134.

Supannapong, P., Pimsalee, T., A-komol, T., Engkagul, A., Kovitvadhi, U., Kovitvadhi, S. and Rungruangsak-Torrissen, K. 2008. Digestive enzymes and in-vitro digestibility of different species of phytoplankton for culture of the freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus*. Aquaculture International 16: 437-453.

Svihus, B. Uhlen, A. K. and Harstad, O. M. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: review. Animal feed Science and Technology 122: 303-320.

Tan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W. and Yang, Y. 2006. Effect of dietary carbohydrate sources on growth performance and utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). Aquaculture Nutrition 12: 61–70.

Tan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W. and Yang, Y. 2007. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth and feed utilization in Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). Journal of Applied Ichthyology 23: 605–610.

Tan, Q., Wang, F., Xie, S., Zhu, X., Lei, W. and Shen, J. 2009. Effect of high dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body composition of gibel carp (*Carassius auratus* var. gibelio). Aquaculture Research 40: 1-8.

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

Tapia-Salazar, M., Bureau, W., Panserat, S., Corraze, G. and Bureau, D.P. 2006. Effect of DHA supplementation on digestible starch utilization by rainbow trout. British Journal of Nutrition 95: 76-87.

Terrazas-Fierro, M., Civera-Cerecedo, R., Ibarra-Martínez, L., Goytortúa-Bores, E., Herrera-Andrade, M. And Reyes-Becerra, A. 2010. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture: 166-173.

Tung, P. H. and Shiau, S. Y. 1991. Effects of meal frequency on growth performance of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed different carbohydrate diets. Aquaculture 92: 343-350.

Valente, L. M. P., Olmedo, M., Borges, P., Soares, S., Gomes, E. F. S., Álvarez-Blázquez, B., Pazos, G. and Linares, F. 2010. Effects of carbohydrate sources on growth, body composition and tissue lipid deposition of blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich). Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 94 (2): 212-219.

Venou, B., Alexis, M. N., Fountoulaki, E., Nengas, I., Apostolopoulou, M. and Castritsi-Cathariou, I. 2003. Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities. Aquaculture 225: 207–223.

Walton, M. J. and Cowey, C. B. 1982. Aspects of intermediary metabolism in fish. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 73: 59– 79.

Wang, Y., Liu, Y. J., Tian, L. X., Du, Z. Y., Wang, J. T., Wang, S. and Xiao, W. P. 2005. Effects of dietary carbohydrate level on growth and body composition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Aquaculture Research 36: 1408-1413.

Watanabe, W. O., Ellis, S. C. and Chaves, J. 2001. Effects of dietary lipid and energy to protein ratio on growth and feed utilization of juvenile mutton snapper *Lutjanus analis* fed isonitrogenous diets at two temperature. Journal of the World Aquaculture Society 32: 30-40.

Wiik, R., Andersen, K., Ulgenes, I. and Egidius, E. 1989. Cortisol induced increase in susceptibility of Atlantic salmon. *Salmo salar,* together with effects on the blood cell pattern. Aquaculture 83; 201-215.

Wilson, R.P. 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. Aquaculture 124: 67– 80.

Wu, X. Y., Liu, Y. J., Tian, L. X., Mai, K. S. and Yang, H. J. 2007a. Utilization of different raw and pre-gelatinized starch sources by juvenile yellowfin seabream *Sparus latus*. Aquaculture Nutrition 13: 389–396.

Wu, X.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Guo, R. and Jin, S.J. 2007b. Effect of different dietary raw to pre-gelatinized starch ratios on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus*). Aquaculture International 15: 467-477.

Wu, X.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Yang, H.J. and Liang, G.Y. 2007c. Effects of raw corn starch levels on growth, feed utilization, plasma chemical indices and enzyme activities in juvenile yellowfin seabream *Sparus latus* Houttuyn. Aquaculture Research 38: 1330-1338.

Wu, X. Y., Liu, Y. T., Tian, L. X., Mai, K. S. and Yang, H. J. 2007d. Utilization of several different carbohydrate sources by juvenile yellowfin seabraem (*Sparus latus*). Journal of Fisheries of China 31: 463-471.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate analysis) ของอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของปลา

1. การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีการของ AOAC, 1999)

วิธีการ

1. นำถ้วยครูซิเบิล (crucible) เข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator)
2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยครูซิเบิลโดยละเอียด
3. ชั่งตัวอย่างใส่ถ้วยครูซิเบิลประมาณ 1 กรัม และบันทึกน้ำหนัก
4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วบันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง
6. ทำซ้ำตามข้อ 4 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไป คือน้ำหนักของความชื้น

<u>การคำนวณ</u>

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 คือ น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

W_2 คือ น้ำหนักของตัวอย่างและถ้วยครูซิเบิล (crucible) ก่อนอบแห้ง

W_3 คือ น้ำหนักของตัวอย่างและถ้วยครูซิเบิล (crucible) หลังอบแห้ง

2. การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนรวม (ตามวิธีการของ AOAC, 1999)

หลักการ

สมการย่อย: ใช้กรดกำมะถันเข้มข้นย่อย มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังสมการ

โปรตีนแท้ + H_2SO_4 Conc. $\longrightarrow$ $(NH_4)_2SO_4$

และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน + H_2SO_4 Conc. $\longrightarrow$ $(NH_4)_2SO_4$

สมการการกลั่น: ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ไล่แก๊สแอมโมเนียออกจากแอมโมเนียซัลเฟตแล้วใช้กรดบอริกจับก๊าซแอมโมเนียไว้

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow Na_2SO_4 + 2NH_3 + 2H_2O$$

$$(NH_4)_2B_4O_7 + 2N^+ + 5H_2O \longrightarrow 2NH_4^+ + 4H_3BO_3$$

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องย่อยโปรตีน (Gerhardt รุ่น Kjeldatherm)
2. ชุดเครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt รุ่น Vapodes1)
3. หลอดย่อยโปรตีน
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. กระดาษชั่งสาร
6. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
7. บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมขาตั้ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 93-98%
2. สารเร่งรวม (catalyst mixture) เตรียมโดย ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม กับโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
3. สารลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 45 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดย ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 450 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
4. สารละลายกรดเกลือ (HCl) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล (จากสารละลายสีเหลืองเป็นสารละลายสีส้มแดง หรือจนสีไม่เปลี่ยน) คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$\text{นอร์มอลนิตี้ของกรดเกลือ} = \frac{\text{น้ำหนัก (กรัม) ของโซเดียมคาร์บอเนต x 1000}}{\text{สารละลายกรดเกลือ (มิลลิลิตร) x 52.994}}$$

หมายเหตุ: ควรทำ 4-5 ซ้ำ เพื่อให้ได้ค่าที่แน่นอน

5. สารละลายกรดแบอริก (boric acid, H_3BO_3) 4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายกรดบอริก 40 กรัม ในน้ำกลั่น ต้มจนกระทั่งสารละลายหมด จึงปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลเรด (Methyl red) 0.2 กรัม ในแอลกฮอร์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรจนครบ 100มิลลิลิตร และละลายเมทิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ในแอลกฮอร์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน และเก็บในขวดสีชา
7. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260-270°C เป็นเวลา 30 นาที หรืออบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้น และชั่งสารดังกล่าวมา 1.325 กรัม (จดน้ำหนักของสารอย่างละเอียด สำหรับใช้ในการคำนวณ และควรชั่งสารด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง) ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร
8. เมทิลออเรนจ์อินดิเคเตอร์ (Methyl orange indicator) เตรียมโดย ละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

ก. ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม โดยชั่งด้วยกระดาษชั่งสารที่ปราศจากสารไนโตรเจนแล้วใส่ในหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีน
2. เติมสารเร่งรวม 3 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร
4. นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเป็นสีเขียวใส (ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 45 นาที) ทิ้งไว้ให้เย็น

ข. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

1. เมื่อสารละลายเย็นลง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร
2. ต่อหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพู่วัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริค 40 มิลลิลิตร (ใส่อินดิเคเตอร์รวม 2-3 หยด) โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริค เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีนช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ
3. ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา โดยให้ในขวดรูปชมพู่มีปริมาตรสารละลายรวม 150-175 มิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาในการกลั่นประมาณ 15-20 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่องกลั่น

ค. ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

1. ไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) จนถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อน
2. บันทึกปริมาตรของกรดเกลือ เพื่อใช้คำนวณต่อไป

หมายเหตุ ทำ Blank โดยใช้กระดาษชั่งสารอย่างเดียวและทำการย่อยเหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน

<u>การคำนวณหาโปรตีนด้วยสมการ</u>

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

โดย V_1 คือ ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 คือ ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N คือ เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์ไขมัน (ใช้เครื่อง Soxtec System HT6)

สารเคมี

1. สารละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane หรือ methylene chloride : CH_2Cl_2)

วิธีการ

1. อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมลูกแก้ว ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (w_1)
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ใส่กระดาษที่ปราศจากไขมัน (กระดาษทิชชู) ประมาณ 0.5 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง
4. นำถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติม เปิดเครื่อง ปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดเครื่องทำความเย็น เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที
5. จากนั้นเลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที
6. ปิดวาล์ว เปิดสวิทซ์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหย 5 นาที
7. ปิดสวิทซ์อากาศ และเครื่องทำความเย็น เลื่อนปุ่ม evaporation กลับตำแหน่งเดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง อบที่ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
8. นำถ้วยออกมาใส่โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (w_3)

<u>คำนวณหาไขมันด้วยสมการ</u>

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{W_3 - W_1}{W_2} \times 100$$

โดย W_1 คือ น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่าง

W_3 คือ น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลัง

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามวิธีการของ AOAC, 1999)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในถ้วยครูซิเบิล (crucible)
2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว
3. นำถ้วยครูซิเบิล (crucible) เข้าโถดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างเย็นดีแล้ว นำออกชั่งทันทีด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

การคำนวณ

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักถ้วยครูซิเบิล (crucible) กับน้ำหนักของเถ้าหลังการเผา

W_3 คือ น้ำหนักถ้วยครูซิเบิล (crucible)

5. การวิเคราะห์เยื่อใย (ใช้เครื่อง Fibertec system) (ตามวิธีการของ AOAC, 1999)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก 0.128 M: เตรียมโดยเจือจางกรดซัลฟูริกเข้มข้น 7 มิลลิลิตร ในน้ำปราศจากอิออนปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
2. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.223 M: เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 12.5125 กรัม ละลายในน้ำปราศจากอิออน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
3. ออกทานอล (1-Octanol reinst)
4. อะซิโตน (acetone)

วิธีการ

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปอบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (ถ้าถ้วยกระเบื้องเคลือบสกปรกมากให้นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (W_1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม (W_2) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำไปใส่เข้าเครื่อง Fibertec system

3. เติมกรดซัลฟูริก ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หยดออกทานอล 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองขณะเดือด
4. เปิดเครื่อง และน้ำเข้าเครื่อง เปิดความร้อนจนสุดสเกล และเลื่อนวาล์วทุกตัวให้อยู่ในตำแหน่งปิด ต้มให้สารละลายเดือดเต็มที่ แล้วลดความร้อนลงเหลือประมาณ 4.5 ต้มนานประมาณ 30 นาที จากนั้นปิดเครื่องแล้วกรองสารละลายออกโดยเลื่อนปุ่มไปที่ Vacuum
5. ล้างตัวอย่างด้วยน้ำอุ่น 3 ครั้ง โดยเติมน้ำอุ่นลงไปแล้วเลื่อนปุ่มไปที่ Vaccunm เพื่อกรองน้ำออก
6. เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 150 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับข้อ 6.2.4-6.2.5
7. ย้ายถ้วยกระเบื้องเคลือบไปที่ cold extraction unit ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตนให้ท่วมตัวอย่าง ทิ้งไว้สักครู่ แล้วจึงกรองอะซิโตนออก
8. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปอบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นานครึ่งชั่วโมง
9. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปวางไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง จึงชั่งน้ำหนัก (W_3) แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่งโมง
10. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปวางไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง จึงชั่งน้ำหนัก (W_4)

<u>การคำนวณหาเยื่อใยด้วยสมการ</u>

$$\text{เยื่อใย (\%)} = \frac{(W_3 - W_4) \times 100}{W_2}$$

โดย W_2 คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

W_3 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ พร้อมตัวอย่างหลังการอบ

W_4 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ พร้อมตัวอย่างหลังการเผา

6. การวิเคราะห์พลังงาน โดยใช้เครื่อง Bomb Calorimeter

วัตถุประสงค์

เพื่อใช้หาปริมาณความร้อน (Calorific value) ของเชื้อเพลิง โดยอาศัยเครื่องมือ Gallenkemp Autobomb Automatic Adiabatic Bomb calorimeter

วิธีการทดลอง

ต้องทดลอง 2 เรื่อง คือ

ก. หาความจุความร้อนของคาลิริมิเตอร์ (Effective Value Capacity)

ข. หาปริมาณความร้อน (Calorific Value)

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่อัดเม็ดเตรียมไว้แล้ว น้ำหนักประมาณ 0.5-1 กรัม โดยใส่ตัวอย่างในถ้วย และหักน้ำหนักของถ้วยออกก่อน
2. วางถ้วยใส่ตัวอย่างเข้าที่วางถ้วยต่อลวด Firing – wire (ลวดยาว 60 มม.) ต่อด้ายกับลวด (ด้ายยาว 120 มม.)
3. เติมน้ำใส่ในถ้วย bomb 1 ml. แล้วปิดฝาโดยวิธีขันเกลียว (ห้ามใช้ประแจเพราะปะเกนกันรั่วจะฉีกขาด)
4. เติมออกซิเจนเข้า bomb ช้าๆ จนกระทั่งความดันถึง 30 บาร์
5. เติมน้ำในถัง ประมาณ 2 ลิตร ยกตั้งในเครื่อง
6. ยกลูก bomb ใส่ในถังน้ำ ให้สังเกตดูว่ามีฟองอากาศผุดออกมาหรื่อไม่ (ถ้ามีแสดงว่าออกซิเจนรั่วต้องแก้ไข) ถ้าปกติก็ปิดฝาชุดทดลอง
7. ตรวจสอบวงจรไฟฟ้าโดยกดปุ่ม test switch ถ้าปกติ หลอดไฟจะสว่าง
8. ปรับตั้ง Thermister bridge เพื่อปรับอุณหภูมิของน้ำรอบ bomb กับน้ำหล่อเย็นให้มีค่าเท่ากัน โดยหมุนปุ่ม balance ไปตามเข็มจะอุ่นเร็ว หมุนทวนจะอุ่นช้า
9. บันทึกอุณหภูมิที่อ่านจาก Thermometer – reader/vibrator ให้ละเอียด 0.001 ° C
10. เมื่ออุณหภูมิของน้ำหล่อเย็นกับถังน้ำแช่ bomb เท่ากันแล้ว เครื่องพร้อมจะทำงานให้กด fire switch อยู่นาน 2 วินาที เพื่อสันดาป พร้อมทั้งอ่านอุณหภูมิขณะนั้นด้วย
11. กดปุ่ม test switch เพื่อสอบความปกติของการหลอมละลายของลวดจุสันดาป โดยถ้าปกติหลอดไฟจะดับ และระบบควบคุมอัตโนมัติจะทำการปรับอุณหภูมิของน้ำหล่อเย็นให้สมดุลกับน้ำรอบ bomb เพื่อให้เป็น adiabatic process
12. อ่านอุณหภูมิให้ละเอียด 0.001 ° C พร้อมทั้งบันทึกค่า หลังจากจุดระเบิดแล้ว 3, 5, 8 นาที

การคำนวณ

$$\text{ค่าพลังงานความร้อน} = \frac{(\text{Heat capacity} \times \text{อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่าง}) - \text{พลังงานด้าย} - \text{พลังงานลวด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

หน่วย Joules/Gram

÷ 4.18 หน่วย Cal/Gram

$$\text{Heat Capacity} = \frac{(26441.6 \times \text{นน. Benzoic}) + 58.58 + 12.55}{\text{อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น}}$$ หน่วย Joules/ $^{\circ}$C

ค่าพลังงานด้ายต่อความยาว 12 cm = 58.58 Joules/ $^{\circ}$C

ค่าพลังงานลวดต่อความยาว 6 cm = 12.55 Joules/ $^{\circ}$C

7. การวิเคราะห์โครมิกออกไซด์ (ปรับปรุงจากวิธีการของ Furukawa and Tsukahara, 1966)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น
2. กรดเปอร์คลอริคเข้มข้น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 50 ถึง 100 มิลลิกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5-8 มิลลิลิตร นำไปย่อยที่อุณหภูมิ ประมาณ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 190 องศาเซลเซียส จนหมดควันสีน้ำตาล หรือสารละลายใสและมีตะกอนสีเขียว หากสารละลายยังไม่ใสหรือมีสีเขียวให้เติมกรดไนตริกเพิ่มแล้วย่อยต่อ
3. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดเปอร์คลอริคเข้มข้น 3 มิลลิลิตร นำไปย่ออีกครั้ง จนสารละลายในขวดเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง ย่อยต่ออีกจนหมดควันสีขาว เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จะเห็นวงแหวนสีส้มแดงภายในขวด
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสารละลายด้วย ขวดวัดปริมาตร ให้ครบ 25 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ ไปวัดหาปริมาณโครเมียม ด้วยเครื่องไอ ซี พี เสป็กโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer: ICP-OES) ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ ค่าที่วิเคราะห์ได้อยู่ในหน่วย มิลลิกรัม/ ลิตร
5. นำค่าที่ได้จากข้อ 4. มาคำนวณหาปริมาณโครมิกออกไซด์ในตัวอย่าง (%)

$$\text{ปริมาณโครมิกออกไซด์ในตัวอย่าง (\%)} = \frac{(\text{ปริมาณโครเมียมจากข้อ 4.x 25}) \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

8. การวิเคราะห์ปริมาณไกลโคเจนในตับ ((Determination of Glycogen with Anthrone Reagent ตามวิธีการของ Hassid and Abraham, 1957)

หลักการ

หาปริมาณไกลโคเจนในเนื้อเยื่อ โดยการย่อยเนื้อเยื่อตับด้วย KOH 30% จากนั้น ไกลโคเจน ทำปฏิกิริยากับสารก่อสี คือ Anthrone Reagent และวัดการก่อสีที่เกิดขึ้น

<u>สารละลาย</u>

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 30%
2. แอลกอฮอร์ 95%
3. ซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
4. สารละลายแอนโทน (Anthrone Solution) 0.2%

วิธีการเตรียม

ละลาย Anthrone 0.2 กรัม ใน Conc. H_2SO_4 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: ต้องเก็บในตู้เย็น และสารควรเตรียมใหม่ทุก 2 วัน

5. โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)
6. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 100 mg%

วิธีการเตรียม

ชั่ง 0.2 g Benzoic Acid ละลายในน้ำกลั่น Deionize ปรับปริมาตรเป็น 100 ml จากนั้นชั่ง Glucose 100 mg ละลายในสารละลาย Benzoic และเก็บไว้ในตู้เย็น

7. Spectrophotometer ความยาวคลื่น 590 nm

วิธีการวิเคราะห์

1. เนื้อเยื่อตับประมาณ 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโพแทสซียมไฮดรอกไซด์ 30% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ย่อยเนื้อเยื่อโดยการใช้ความร้อน โดยนำไปต้มใน Water bath อุณหภูมิน้ำเดือด 100°C ใช้เวลา 25 นาที
3. เมื่อเนื้อเยื่อละลาย ทำให้เย็น (โดยการนำTube แช่ในน้ำเย็น)
4. เติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) อิ่มตัว 0.5 มิลลิลิตร
5. เติมแอลกอฮอล์ 95% 1.1 เท่าของสารละลายในหลอด หรือประมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อตกตะกอนไกลโคเจน (ผสมด้วย Vortex)
6. นำสารภายในหลอดไปให้ความร้อนอีกครั้ง จนกระทั่งสารละลายผสมเริ่มเดือด
7. ทำสารผสมภายในหลอดให้เย็นอีกครั้ง
8. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

9. เทส่วนใสทางด้านบน เหลือส่วนของตะกอนสีขาวขุ่นด้านล่าง (ส่วนนี้ยังมีส่วนของแอลกอฮอร์เหลืออยู่ นำไปไล่ด้วยความร้อนใน water bath อีกครั้ง)
10. เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนไกลโคเจน
11. ตกตะกอนอีกครั้งด้วยแอลกอฮอร์ 95% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร
12. นำไปให้ความร้อนอีกครั้งจนสารละลายเริ่มเดือด จากนั้นทำสารผสมภายในหลอดให้เย็น
13. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
14. เทส่วนใสด้านบน ส่วนที่เหลือในหลอด คือ ไกลโคเจนบริสุทธิ์
15. ละลายตะกอนลงในขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร (Unknown Test)
16. การวัดไกลโคเจน
    16.1 Blank: น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร + สารละลาย Anthrone 10 มิลลิลิตร (ในขณะทำการทดลองต้องจุ่มหลอดในน้ำแข็ง)
    16.2 Unknown Test: Pure Glycogen 5 มิลลิลิตร + สารละลาย Anthrone 10 มิลลิลิตร
    16.3 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน: Glucose Standard 5 มิลลิลิตร + สารละลาย Anthrone 10 มิลลิลิตร
17. ปิดด้วย Parafilm
18. .ให้ความร้อน 10 นาที จากนั้น ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว
19. วัดที่ความยาวคลื่น 590 nm

วิธีการคำนวณ

$$\text{ไกลโคเจนในตับ (Liver glycogen: mg/g wet tissue)} = \frac{100 \times \text{Unknown Test (U)}}{1.11 \times \text{Standard Glucose (S)} \times \text{นน.ตัวอย่าง (g)}}$$

ภาคผนวก ข.

วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในเมแทบอลิซึมขั้นกลาง (Intermediary enzyme)

1. วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไพรูเวทไคเนส (Pyruvate Kinase EC 2.7.1.40; assay in serum and erythrocytes) (Bergmeyer *et al.,* 1974)

อุกรณ์

1. เสป็คโตรโฟโตรมิเตอร์
2. Cuvette quartz
3. Micropipette
4. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. Triethanolamine hydrochloride (FW= 149.19; Density= 1.12; 98%)
2. Sodium chloride, A.R., NaCl (MW= 58.44 g/mol)
3. Potassium chloride, A.R., KCl (MW= 74.55 g/mol)
4. Magnesium sulphate, A.R., $MgSO_4$. $7H_2O$ (MW= 246.37 g/mol)
5. Sodium bicarbonate, A.R., $NaHCO_3$ (MW= 84.01 g/mol)
6. Ethylenediaminetetra-acetic acid, EDTA disodium salt, EDTA-$Na_2H_2.2H_2O$
7. Adenosine-5'-diphosphate, ADP disodium salt, ADP-Na_2; commercial preparation
8. Reduced nicotinamide-adenine dinucleotide, NADH disodium salt, NADH-Na_2; commercial preparation: ชื่อทางการค้า β-Nicotinamide-adenine dinucleotide, reduce
9. Phosphoenolpyruvate, PEP tricyclohexylammonium salt: ชื่อทางการค้า Phospho (Enol) Pyruvate
10. Lactate dehydrogenase, LDH from rabbit muscle, crystalline suspension in 3.2 M ammonium sulphate solution

การเตรียมสารเคมี

เตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้งด้วย น้ำกลั่นสองครั้ง (doubly distilled water: DDW) เพื่อป้องกันแบคทีเรียที่อาจเกิดในสารละลาย

1. Trietanolamine buffer (0.16 M trietanolamine; 0.12 M KCl; 21mM $MgSO_4$; 1.3 mM EDTA; pH 7.5)

เตรียมโดย	Triethanolamine	1.60	มิลลิลิตร
	KCl	0.7	กรัม
	$MgSO_4.7H_2O$	0.4	กรัม
	EDTA-Na_2H_2	40	มิลลิกรัม

ละลายในน้ำ DDW 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH 7.5 ด้วย 0.1N NaOH แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 75 มิลลิลิตร

เก็บรักษาได้ 1 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง 26±1 องศาเซลเซียส

2. NADH/ PEP (6mM NADH-Na_2; 32 mMPEP)

เตรียมโดย	NADH-Na_2	10	มิลลิกรัม
	PEP-$(CHA)_3$	45	มิลลิกรัม
	$NaHCO_3$	10	มิลลิกรัม
	ละลายในน้ำ DDW	3	มิลลิลิตร

เก็บรักษาได้ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส

3. LDH (0.5 mg/ml)

ละลายสาร LDH stock ให้ได้ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 3.2 M ammonium sulphate

เก็บรักษาได้ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส

4. ADP (0.1 M)

เตรียมโดย	ADP-Na_2	162	มิลลิกรัม
	$NaHCO_3$	30	มิลลิกรัม
	ละลายในน้ำ DDW	3	มิลลิลิตร

เก็บรักษาได้ 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส

5. Physiological saline (0.9% NaCl)

เตรียมโดย	NaCl	0.9	กรัม

ละลายในน้ำ DDW และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

เก็บรักษาได้ 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง 26±1 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างปลา 3 ตัวต่อตู้ หลังจากปลาได้รับอาหารมื้อเย็น 6 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักปลา จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดปลา บริเวณ caudal vein ใส่ในหลอดไมโครทิว (microtube) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
3. เพื่อให้เลือดแยกชั้น จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็ว 4,000 รอบ/ นาที เพื่อเก็บตัวอย่างซีรัม เก็บซีรัมใส่ไนโตรเจนเหลวทันที
4. วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ Pyruvate Kinase

   เจือจางซีรัม 5 เท่า ด้วย Physiological saline 0.9% และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 nm

ปิเปตสารละลายใส่ Cuvette	ปริมาตร (µl)
Triethanolamine buffer (I)	500
NADH/ PEP solution (II)	20
serum	100
LDH suspension (III)	10
ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ครบ 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 nm ครั้งที่ 1 (E_1) ↓ บ่มอีก 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2 (E_2)	
ADP solution (IV)	10
ผสม วัดค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 3 (E_3) ↓ บ่มอีก 10 นาที ที่อุณหภูมิ 26 องสาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 4 (E_4) $\Delta E = (E_3-E_4)-(E_1-E_2)$	

5. วัดปริมาณโปรตีนในซีรัม ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al.*, 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (Unit/ mg protein)

วิธีการคำนวณ

Serum: volume activity = 104.5 x ΔE (Unit/l)

Specific pyruvate kinase activity = (Unit/l)/ mg protein

2. **การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสฟาเตส** (D-Glucose-6-phosphate phosphohydrolase, EC 3.1.3.9) (Bergmeyer *et al.,* 1974)

หลักการ

G-6-P + H2O ⟶ Glucose+ Pi

การปลดปล่อยอนินทรีย์ฟอสเฟต โดยการวัดด้วย ammonium molybdate: โดยใช้ ascorbic acid เป็นตัวรีดิวส์ molybdate ที่มากเกินไปจะไปจับกับ arsenite-citrate solution ดังนั้น จะไม่มีฟอสเฟตเอสเตอร์ชนิดอื่นๆ หรือ Pi ที่มาจากการย่อย substrate ด้วยกรด โดยที่ arsenite-citrate จะเสถียร ภายในระบบนี้

จำนวนผลผลิตของฟอสเฟต (phosphate liberated) ต่อเวลา (unit time) วัดจาก blue phosphomolybdous complex โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 700 หรือ 840 nm เพื่อวัดกิจกรรมเอนไซม์ G6Pase

อุปกรณ์

1. เสป็คโตรโฟโตมิเตอร์ วัดที่ความยาวคลื่น 840nm
2. เครื่อง Ultrasonicate

สารเคมี

1. Ammonium molybdate, $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$. A.R. (MW = 1235.81 g/mole)
2. Ethylenediaminetetra-acetate tetrasodium salt, EDTA-Na_4
3. Ascorbic acid, A. R.
4. Acetic acid, A. R.
5. Glucose-6-phosphate disodium salt, commercial preparation, ชื่อทางการค้า: α-D-(+)-Glucopyranose-6-phosphate (G-6-P-Na_2 MW=304.2 g/mol)
6. Hydrochloric acid, 0.1 N
7. Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4, A. R. (MW= 136.09 g/mol)
8. Sodium arsenite, anhydrous, $NaAsO_2$, A. R. (MW= 129.91 g/mol)
9. Sodium citrate, $C_6H_5O_7Na_3$. $2H_2O$, A.R. (MW= 294.07 g/mol)
10. Sodium hydroxide, 0.1 N
11. Cacodylic acid, $(CH_3)_2AsO.OH$ (MW= 138.00 g/mol)
12. Sucrose. A.R.
13. Trichloroacetic acid

การเตรียมสาร

ใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง (Doubly distilled water: DDW) ในการเตรียมสารเท่านั้น

1. Sucrose (0.25 M)

เตรียมโดย	Sucrose	42.8	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตร	500	มิลลิลิตร

2. Sucrose/ EDTA (0.25M/ 1 mM)

เตรียมโดย	EDTA-Na_4	0.038	กรัม
	Sucrose solution (I)	80	มิลลิลิตร

Sucrose solution (I) ปรับ pH 7.0 ด้วย 0.1 N

ปรับปริมาตรด้วย Sucrose solution (I) ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

3. Glucose-6-phosphate (0.1 M)

เตรียมโดย	G-6-P-Na_2	0.152	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมตรให้ครบ	5	มิลลิลิตร

4. Cacodylate buffer (0.1M; pH 6.5)

เตรียมโดย	Cacodylic acid	0.069	กรัม
	น้ำ DDW 1 ประมาณ	3	มิลลิลิตร

ปรับ pH 6.5 ด้วย NaOH 0.1 N

	น้ำ DDW 2: ปรับปริมาตรให้ครบ	5	มิลลิลิตร

5. Phosphate standard solution (1.5 mM)

เตรียมโดย	KH_2PO_4	0.2041	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิลิตร (V.1)

จากนั้น นำสารที่เตรียมได้ (V.1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Sucrose solution (I) ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

6. Ascorbic acid/ trichloroacetic acid (2%/10% W/V)

เตรียมโดย	Trichloroacetic acid	10	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร
	เติม Ascorbic acid	2	กรัม

7. Ammonium molybdate (1.0% W/V)

เตรียมโดย	Ammonium molybdate	0.2	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตร ให้ครบ	20	มิลลิลิตร

8. Arsenite/ citrate (each 2% w/v)

เตรียมโดย	Sodium citrate	1	กรัม
	Sodium arsenite	1	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	40	มิลลิลิตร
	เติม Acetic acid	1	มิลลิลิตร
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	50	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. หลังปลาได้รับอาหาร 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างตับ น้ำหนักประมาณ 0.10-0.15 กรัม โดยเลือกผ่าตัดบริเวณขั้วตับด้านบน โดยเลือกในบริเวณเดียวกันทุกตัว ชั่งน้ำหนัก ใส่ในไนโตรเจนเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 80ºC
2. สกัดเอนไซม์จากตับด้วย Sucrose/ EDTA (II) โดยใช้น้ำหนักตับ: Sucrose/EDTA solution (II) (1:5 W/V)
3. บดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยแท่งบด (ไมโครทิวใส่ตัวอย่าง ควรแช่อยู่ในน้ำเย็น อุณหภูมิ 4ºC ตลอดเวลา) จากนั้น หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ4ºC เป็นเวลา 10 นาที และดูดส่วนใสใส่ไมโครทิว
4. Freeze-Thawn ในไนโตรเจนเหลว โดยแช่ในไนโตรเจนเหลว จากนั้น ละลายในน้ำอุ่น อุณหภูมิประมาณ 40ºC (ทำซ้ำกัน 2 รอบ)
5. Sonicate ด้วย Ultrasonicate 30 วินาที 2รอบ โดยระหว่างที่ sonicate ไมโครทิวใส่ตัวอย่างควรแช่อยู่ในน้ำเย็น อุณหภูมิ 4ºC ตลอดเวลา
6. หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 20,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC เป็นเวลา 20 นาที และดูดส่วนใสด้านบน เพื่อเก็บไปวัดกิจกรรมเอนไซม์

ปิเปตสารละลายใส่ไมครทิว	ปริมาตร (µl)			
	sample	control	blank	standard
sucrose/ EDTA solution (II)	20	20	40	20
G-6-P solution (III)	20	20	20	20
buffer solution (IV)	20	20	20	20
ผสมให้เข้ากัน				
sample	20	-	-	standard (V) 20
ผสมและบ่ม ที่ 37°C 10 นาที				
Ascorbic acid/trichloroacetic acid solution (VI)	400	400	400	400
ผสม ↓ หมุนเหวี่ยงที่ 3,000 g, 4°C นาน 3 นาที ↓		เติม sample 20 µl ผสมให้เข้ากัน		
ปิเปตใส่ เพลทก้นแบน 96 หลุม โดยใช้ supernatant	120	120	120	120
Molybdate solution (VII)	60	60	60	60
ผสมให้เข้ากัน				
Arsenite-citrate solution (VIII)	120	120	120	120
ผสมและตั้งทิ้งไว้ 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 840 nm				

7. วัดปริมาณโปรตีนในซีรัม ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al.*, 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (Unit/ mg protein)

การคำนวณ

ปริมาณ ฟอสเฟตอิสระ จาก G-6-P โดยเอนไซม์ สามารถคำนวณได้โดยการปรียบเทียบกับฟอสเฟตมาตรฐาน

$$C = \frac{E\ sample - E\ Control}{E\ standard} \times 0.15\ [\mu mole/\ assay\ mixture]$$

ปริมาตรตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร และบ่มตามเวลาที่ใช้ (t)

$$Volume\ activity = \frac{E\ sample - E\ Control}{E\ standard} \times \frac{1500}{t}\ [U/l.]\ \ 37^{o}C$$

3. Glucose-6-phosphate Dehydrdogenase (Bergmeyer *et al.,* 1974)

หลักการ

(1) Glucose-6-phosphate + $NADP^+$ $\rightleftharpoons$ 6-phosgluconate+ NADPH + H^+

สารเคมี

1. Triethanolamine hydrochloride (FW= 149.19; Density= 1.12; 98%)
2. Ethylenediaminetrtra-acetate disodium salt, EDTA-$Na_2H_2.2H_2O$
3. Sodium citrate, A.R.
4. Sodium chloride, A.R.
5. Sodium hydroxide, A. R., 0.1 N
6. Sodium hydrogen carbonate, A.R., ($NaHCO_3$)

การเตรียมสาร

I. Citrate (3.8% W/V)

เตรียมโดย	Sodium citrate	3.8	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

II. Physiological saline (0.9% W/V)

เตรียมโดย	NaCl	9	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

III. Triethanolamine buffer (50mM; pH 7.5)

เตรียมโดย	Triethanolamine hydrochloride	0.6867	มิลลิลิตร
	EDTA-Na_2H_2	0.2	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	50	มิลลิลิตร
	ปรับ pH 7.5 ด้วย 0.1N NaOH		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

สารที่ใช้สำหรับการวัด

IV. Glucose-6-phosphate (ca. 40mM G-6-P-Na_2 MW= 304.9 g/mol)

เตรียมโดย	G-6-P-Na_2	0.124	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิกรัม

V. Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (ca. 30 mM β-NADP)

เตรียมโดย	$NaHCO_3$	10	มิลลิกรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	1	มิลลิลิตร
	ชั่ง NADP-Na_2H	21.3	มิลลิกรัม
	(ละลายและผสมให้เข้ากัน)		

วิธีการ

1. หลังปลาได้รับอาหารเย็น 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างตับ น้ำหนักประมาณ 0.02-0.03 กรัม โดยเลือกผ่าตัดบริเวณขั้วตับด้านบน โดยเลือกในบริเวณเดียวกันทุกตัว และซับเลือดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ชั่งน้ำหนัก (เพื่อป้องกันเลือดปนเปื้อนในเอนไซม์สกัด)ใส่ในไนโตรเจนเหลวทันทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 80ºC
2. สกัดเอนไซม์จากตับด้วย Triethanolamine buffer (III) โดยใช้น้ำหนักตับ: Triethanolamine buffer (III) (1:40 W/V)
3. บดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยแท่งบด (ไมโครทิวใส่ตัวอย่าง ควรแช่อยู่ในน้ำเย็น อุณหภูมิ 4ºC ตลอดเวลา) จากนั้น หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ4ºC เป็นเวลา 20 นาที และดูดส่วนใสใส่ไมโครทิว
4. การวิเคราะห์

ปิเปตสารละลายใส่ถาดก้นแบน 96 หลุม	ปริมาตร (µl)
Triethanolamine buffer (III)	240
sample	50
NADP solution (V)	5
ผสมและบ่มที่อุณหภูมิ 26˚C นาน 5 นาที	
G-6-P solution (IV)	5
วัดกิจกรรมเอนไซม์ในรูป Kinetic ที่ค่าการดูดกลืนแสง 340 nm โดย วัดทุกๆ 20 วินาที่ เป็นเวลา 5 นาที คำนวณในรูป ΔE/min	

5. วัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดได้จากตับ ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al*., 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (Unit/ mg protein)

การคำนวณ

Wavelength *340 nm*

Volume activity = 1926 x ΔE/ min [U/l.]

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และอะไมเลส

1.การวัดกิจกรรมเอนไซม์เปปซิน (Bergmeyer *et al.,* 1974)

สารเคมี

1. Glycine; A.R. CH_2NH_2COOH; MW = 75.068 g/mol
2. Sodium chloride; A.R. NaCl; MW = 58.4527 g/mol
3. L-Tyrosine; A.R. $C_9H_{11}NO_3$; MW = 181.19 g/ mol
4. HCl 2 N และ 1 N
5. Trichloroacetic acid, A.R. CCl_3COOHMW = 168.38 g/mol
6. Haemoglobin ผง

การเตรียมสาร

I. 0.2 M Glycine – NaCl. HCl

เตรียมโดย	Glycine (CH_2NH_2COOH)	1.5014	กรัม
	NaCl	1.1691	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	80	มิลลิลิตร
	ปรับ pH =2.8 ด้วย HCl 1 N		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมและเก็บที่อุณหภูมิห้อง 4 ºC

II. กราฟมาตรฐาน Tyrosine 5 mg/ml

เตรียมโดย	L-Tyrosine	50	มิลลิกรัม
	น้ำ DDW เย็น1: เติม	4	มิลลิลิตร
	(จะได้สารละลายสีขาวขุ่น)		
	เติม HCl 2 N	0.5-1	มิลลิลิตร
	(สารละลายจะใส)		
	น้ำ DDW เย็น2: ปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิลิตร

จากนั้น เจือจาง Tyrosine standard ให้อยู่ในช่วง 50-500 µg/ ml

หมายเหตุ: เตรียมใหม่ทุกครั้งที่จะใช้ เนื่องจากสารจะตกตะกอน แล้วทำให้ค่ามาตรฐานที่วัดได้คลาดเคลื่อน

III. Trichloroacetic acid 5%

เตรียมโดย	Trichloroacetic acid	5	กรัม
	น้ำกลั่น: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมใส่ขวดสีชา สามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง 26±1 ºC

IV. Haemoglobin 1%

เตรียมโดย	Haemoglobin ผง	1	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

วิธีการ

1. หลังปลาได้รับอาหาร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทางเดินอาหารปราศจากอาหาร เก็บตัวอย่างกระเพาะอาหาร (stomach)ของปลากะพงขาว ชั่งน้ำหนัก ใส่ไนโตรเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC
2. สกัดเอนไซม์จากกระเพาะอาหารด้วยน้ำกลั้นแช่เย็น (อุณหภูมิ 4ºC) โดยใช้น้ำหนักกระเพาะอาหาร: น้ำกลั่นเย็น (1:2.5 W/V)
3. บดตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งขณะบดตัวอย่าง ไมโครทิวควรแช่อยู่ในน้ำแข็ง (ice bath) (4ºC) ตลอดเวลา เพื่อป้องกันเอนไซม์เสียสภาพ (denature)
4. เมื่อตัวอย่างละเอียดดีแล้ว นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที รอบแรก พยายามดูดส่วนของไขมันทิ้งและดูดส่วนใสใส่ไมโครทิวใหม่ จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยนอีกครั้งที่ 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที เก็บสารละลายส่วนใสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เปปซิน

5. การวิเคราะห์ ต้องเจือจางเอนไซม์ให้อยู่ในความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 5 เท่า (Dilution factor = 5)

สาร	ปริมาตร (µl)
0.2 M Glycine- NaCl . HCl buffer (I)	200
Substrate: Haemoglobin 1% (IV)	250
Enzyme: Optimum dilution (5x)	50
ผสมและบ่มที่อุณหภูมิ 26±1°C นาน 3 นาที	
เติม TCA 5% (III) (เพื่อตกตะกอนโปรตีนก้อนใหญ่)	750
หมุนเหวี่ยงที่ 5,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25°c นาน 10 นาที (หมายเหตุ ใช้อุณหภูมิต่ำ สารจะไม่ตกตะกอน และเป็นสีขาวขุ่น) ↓ ดูดส่วนใส	
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน L-Tyrosine ความเข้มข้น 50-500 µg/ml	

6. วัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดได้จากกระเพาะอาหาร ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al*., 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (Unit/ mg protein)

การคำนวณ

1. กราฟมาตรฐาน L-Tyrosine

   โดยเจือจาง L-Tyrosine 1 mg/ml ให้ได้ความเข้มข้น 50-500 µg/ml ด้วยน้ำ DDW ดังนี้

ลำดับ	L-Tyrosine (µg/ml)	ใช้ L-Tyrosine 1 mg/ml	DDW
1	50	15	285
2	100	30	270
3	150	45	255
4	200	60	240
5	250	75	225
6	300	90	210
7	350	105	195
8	400	120	180
9	450	135	165
10	500	150	150

2. นำหลอดทดลองแต่ละความเข้มข้น เติม 0.2 M Glycine-NaCl. HCl ปริมาตร 200 µl และ Trichloroacetic acid 5% ปริมาตร 750 µl ผสมให้เข้ากัน
3. หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25°C นาน 10 นาที และดูดส่วนใส
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่บนแกน *y* เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ L-Tyrosine อยู่บนแกน *x* และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

การคำนวณ

$$\text{Pepsin activity (Unit/ ml/min)} = \frac{\text{Tyrosine (µg/ml)} \times \text{V total (ml)} \times \text{จำนวนเท่าของเอนไซม์}}{\text{MW of Tyrosine} \times \text{time (min)} \times \text{V of enzyme (ml)}}$$

2. การวัดกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน (Bergmeyer *et al.,* 1974)

สารเคมี

1. Tris (hydroxylmethyl) aminothane, A.R. $H_2NC(CH_2OH)_3$; MW = 121.14 g/mol
2. Calcium chloride, A.R. $CaCl_2$. $2H_2O$; MW = 147.02 g/mol
3. N_α- Benzoyl-DL-arginine-4-nitroanilide hydrochloride, BAPNA; MW= 434.89 g/mol
4. Trichloroacetic acid, A.R. CCl_3COOH; MW = 168.38 g/mol

การเตรียมสาร

I. Buffer- 50mM Tris + 20mM $CaCl_2$ pH 8.0

เตรียมโดย	Tris Ammonium	0.6057	กรัม
	$CaCl_2.2H_2O$	0.7351	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	80	มิลลิลิตร
	ปรับ pH=8.0		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมและเก็บที่อุณหภูมิห้อง 4 ºC

II. N_α- Benzoyl-DL-arginine-4-nitroanilide hydrochloride (BAPNA) 1 mM

เตรียมโดย	BAPNA	0.0044	กรัม
	ละลายด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO)	100	µl
	(จนได้สารละลายใส)		
	50mM Tris + 20mM $CaCl_2$ pH 8.0 buffer ให้ครบ	10	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมใหม่ทุกครั้ง

III. Trichloroacetic acid 30%

เตรียมโดย	Trichloroacetic acid	30	กรัม
	น้ำกลั่น: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมใส่ขวดสีชา สามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง 26±1 ºC

วิธีการ

1. หลังปลาได้รับอาหาร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ทางเดินอาหารปราศจากอาหาร เก็บตัวอย่างไส้ติ่ง (pyloric ceaca) และลำไส้ (intestine) ของปลากะพงขาว ชั่งน้ำหนัก ใส่ไนโตรเหลวทันที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80ºC
2. สกัดเอนไซม์จากไส้ติ่งด้วยน้ำกลั่นแช่เย็น (อุณหภูมิ 4ºC) โดยใช้น้ำหนักไส้ติ่ง:น้ำกลั่นเย็น (1:2.5 W/V)
3. บดตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งขณะบดตัวอย่าง ไมโครทิวควรแช่อยู่ในน้ำแข็ง (ice bath) (4ºC) ตลอดเวลา เพื่อป้องกันเอนไซม์เสียสภาพ (denature)
4. เมื่อตัวอย่างละเอียดดีแล้ว นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที รอบแรก พยายามดูดส่วนของไขมันทิ้งและดูดส่วนใสใส่ไมโครทิวใหม่ จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยนอีกครั้งที่ 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4ºC นาน 30 นาที เก็บสารละลายส่วนใส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน
5. ส่วนสารสกัดเอนไซม์จากลำไส้ ทำเช่นเดียวกับการสกัดเอนไซม์จากไส้ติ่ง (ข้อ 2-4) และสารสกัดเอนไซม์จากลำไส้ใช้วิเคราะห์ 2 กิจกรรม คือ กิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและ อะไมเลส
6. การวิเคราะห์ ต้องเจือจางเอนไซม์ให้อยู่ในความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยเจือจางเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่ง ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 5 เท่า (Dilution factor = 5) ส่วนเอนไซม์สกัดจากลำไส้ไม่ต้องเจือจาง

ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา	ปริมาตร (µl)
substrate: BAPNA 1 m M (II)	480
Enzyme	20
บ่มที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 30 นาที	
Trichloroacetic acid 30% (III) (เพื่อหยุดปฏิกิริยา)	50
หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที ดูดสารละลายส่วนใส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 nm	

7. วัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดได้จากไส้ติ่งและลำไส้ ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al*., 1951) เทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (Unit/ mg protein)

การคำนวณ

$$\text{Unit of Enzyme activity (µmol/ml)} = \frac{\text{(Abs at 410 nm/ min) x 1000 ml x ml of reaction volume}}{\text{8800 mol/L*cm x ml of enzyme solution assay x 1 cm}}$$

ε ของ ρ-nitroanilide = 8800 mol/L*cm

Specific trypsin activity = Unit of enzyme activity/ mg protein

= µmol/ มิลลิลิตร/ mg protein

3. การวัดกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส (Bergmeyer *et al.,* 1974)

สารเคมี

1. Tris (hydroxylmethyl) aminothane, A.R. $H_2NC(CH_2OH)_3$; MW = 121.14 g/mol
2. Sodium chloride; A.R. NaCl; MW = 58.4527 g/mol
3. Sodium hydroxide; A.R. NaOH; MW = 40 g/mol
4. Starch soluble; A.R. $(C_6H_{10}O_5)_n$
5. Potassium sodium tartrate; A.R. $KNaC_4H_4O_6.\ 4H_2O$; MW= 282.22 g/mol
6. 3,5 Dinitrosalicylic acid; A.R. DNS; MW= 228.12 g/mol
7. Maltose; A.R. D-(+)-Maltose monohydrate, Grade I, Minimum 98%, MW= 360.32 g/mol

การเตรียมสาร

I. Buffer- 0.05M Tris-HCl + 10 mM Nacl pH 8.5

เตรียมโดย	Tris Ammonium	1.2114	กรัม
	NaCl	0.1170	กรัม
	น้ำ DDW 1: เติม	180	มิลลิลิตร
	ปรับ pH= 8.5		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	200	มิลลิลิตร

II. Substrate – Starch 1%

เตรียมโดย	Starch	1	กรัม
	Buffer (I)	100	มิลลิลิตร
	ต้มและปิดด้วยฟอล์ย จนกว่าจะได้สารละลายสีใส		
	ปรับปริมาตรด้วย Buffer ให้ครบ	100	มิลลิลิตร

III. NaOH 1 N

เตรียมโดย	NaOH	4	กรัม
	น้ำ DDW ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

IV. 3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS) 1%

เตรียมโดย	DNS	1	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	40	มิลลิลิตร
	NaOH 1 N	40	มิลลิลิตร
	คนให้ผง DNS ละลายหมด		
	Potassium sodium tartrate	30	กรัม
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

V. Maltose 1 mg/ml

เตรียมโดย	Maltose	10	มิลลิกรัม
	ละลายในน้ำ DDW และปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ใช้เอนไซม์สกัดจากลำไส้ จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน
2. เจือจางเอนไซม์สกัด ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ประมาณ 5 เท่า ด้วยน้ำกลั่นเย็น
3. การวิเคราะห์

ขั้นตอนการวิเคราะห์	ปริมาตร (µl)		
	sample	blank (no enzyme)	control (มีเอนไซม์ แต่ไม่บ่ม)
Buffer- 0.05 M Tris-HCl+ 10 mM NaCl pH 8.5 (I)	250	250	250
Enzyme (dilution 5x)	50	น้ำ DDW 50	50
Substrate-Starch 1% (II)	250	250	250
บ่มที่อุณหภูมิ 26±1˚c นาน 10 นาที			ไม่บ่ม
DNS 1% (IV)	500	500	500

↓

ต้มในน้ำเดือด 100°C นาน 5 นาที

↓

สีที่ได้ต้องเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1,000 µl

↓

ทำให้เย็น และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

การคำนวณ

1. กราฟมาตรฐาน maltose

   โดยเจือจาง maltose 1 mg/ml ด้วยน้ำ DDW ดังนี้

ลำดับ	maltose (1 mg/ml)	DDW
1	0	300
2	25	275
3	50	250
4	100	200
5	150	150
6	200	100
7	250	50
8	300	0

2. นำหลอดทดลองแต่ละความเข้มข้น เติม Starch 1% ปริมาตร 250 µl และเติม DNS 1% ปริมาตร 500 µl ผสมให้เข้ากัน
3. ต้มในน้ำเดือด 100ºC นาน 5 นาที
4. สีที่ได้ต้องเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1,000 µl
5. ทำให้เย็น และวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงโดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่บนแกน *y* เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ maltose อยู่บนแกน *x* และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

คำนวณ

$$\alpha\text{-amylase activity} = \frac{[(\text{OD sample- mean blank})- \text{ค่าคงที่สมการ}] \times \text{V total (ml)} \times \text{จำนวนเท่าของเอนไซม์}}{\text{m ของสมการ} \times \text{V of enzyme} \times \text{time (min)}}$$

4. การหาปริมาณโปรตีนจาก Crude protein ด้วยวิธี Modified Lowry Method (Lowry *et al*., 1951) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA)

สารเคมี

1. $CuSO_4.5H_2O$
2. Sodium tartrate
3. Na_2CO_3
4. NaOH
5. Follin phenol reagent
6. Bovine Serum Albumin (BSA)

การเตรียมสาร

I. Alkaline copper solution

เตรียมโดย $CuSO_4.5H_2O$ 0.5% 1 ส่วน

(ชั่ง $CuSO_4.5H_2O$ 0.5 กรัม ละลายน้ำ 10 มิลลิลิตร)

Sodium tartrate 1% 1 ส่วน

(ชั่ง Sodium tartrate 0.1 กรัม ละลายน้ำ 10 มิลลิลิตร)

Na_2CO_3 1% ใน 0.5 M NaOH 50 ส่วน

ชั่ง NaOH 10 กรัม ละลายน้ำประมาณ 400 มิลลิลิตร แล้วเติม Na_2CO_3 5 กรัม เติม $CuSO_4.5H_2O$ 0.5% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ Sodium tartrate 1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: ใช้น้ำกลั่นต้ม และตั้งให้เย็นก่อนผสม หลังผสมสารละลายเรียบร้อยแล้วเก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4°C

II. Follin phenol reagent (1:10 v/v)

เตรียมโดย	ดูด Follin phenol reagent	1	มิลลิลิตร
	น้ำ DDW: เติม	10	มิลลิลิตร

III. Bovine Serum Albumin (BSA) 1 mg/ml

เตรียมโดย	ชั่ง BSA	10	มิลลิกรัม
	น้ำ DDW: ละลายและปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. เจือจางเอนไซม์สกัดด้วยน้ำ DDW ให้อยู่ในช่วงที่สารมารถเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานได้
2. เติมสารตามตาราง

ปิเปตสารละลายใส่ถาดหลุมก้นแบน 96 ช่อง	ปริมาตร (µl)
เอนไซม์สกัด (ที่เจือจางแล้ว)	50
Alkaline copper solution (I)	100
ผสมและตั้งทิ้งไว้ 10 นาที	
Follin phenol reagen (II)	150
ผสมและตั้งทิ้งไว้ 10 นาที	
นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 nm และ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA	

3. เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ลำดับ	BSA 1 mg/ml	น้ำ DDW	ความเข้มข้น BSA (mg/ml)
1	0	50	0.00
2	5	45	0.10
3	10	40	0.20
4	15	35	0.30
5	20	30	0.40
6	25	25	0.50
7	30	20	0.60
8	35	15	0.70
9	40	10	0.80
10	45	5	0.90
11	50	0	1.00

4. ปิเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นใส่ถาดหลุมก้นแบน 96 ช่อง และเติม Alkaline copper solution ปริมาตร 100 µl และตั้งทิ้งไว้นาน 10 นาที
5. เติม Follin phenol reagen ปริมาตร 150 µl และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 nm
7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่บนแกน *y* เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ BSA ที่อยู่บนแกน *x* และหาสมการเส้นตรงของกราฟเส้นตรงนั้น

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลองด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว

1. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารทดลองในหลอดทดลองของเอนไซม์สกัดจากปลากะพงขาว (Modified from Ihekoronye, 1986)

สารเคมี

1. Tris (Hydroxylmethyl) aminomethane, A.R. $H_2NC(CH_2OH)_3$; MW= 121.14 g/mol
2. Calcium chloride, A.R. $CaCl_2$. $2H_2O$; MW = 147.02 g/mol
3. Trichloroacetic acid, A.R. CCl_3COOH; MW = 168.38 g/mol
4. Disodium hydrogen phosphate, A.R. Na_2HPO_4. $12H_2O$; MW = 358.07 g/mol
5. Sodium phosphate, A.R. NaH_2PO_4. $2H_2O$; MW = 156.01 g/mol
6. Picrylsulfonic acid solution 5% (W/V) FW= 293.2 g/mol
7. L-Leucine; MW= 131.18 g/mol
8. Sodium sulphite, A.R. Na_2CO_3; MW= 126.043 g/mol
9. Chloramphenical

การเตรียมสาร

I. 50 mM Tris-buffer + 5 mM $CaCl_2$ pH 8.0

เตรียมโดย	Tris ammonium	3.0285	กรัม
	$CaCl_2$. $2H_2O$	0.3676	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	450	มิลลิลิตร
	ปรับ pH = 8.0		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	500	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมและเก็บสารไว้ได้ที่อุณหภูมิ 4°C

II. 40 % Trichloroacetic acid

เตรียมโดย	Trichloroacetic acid	40	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมใส่ขวดสีชา สามารถเก็บสารไว้ได้ที่อุณหภูมิห้อง

III. 50 mM Phosphate buffer pH 8.0

เตรียมโดย	Na_2HPO_4. $12H_2O$	17.9035	กรัม
	NaH_2PO_4. $2H_2O$	7.8005	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	950	มิลลิลิตร
	ปรับ pH = 8.0		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมและเก็บสารไว้ได้ที่อุณหภูมิ 4°C

IV. 0.2125 M Phosphate buffer pH 8.2

เตรียมโดย	Na_2HPO_4. $12H_2O$	38.045	กรัม
	NaH_2PO_4. $2H_2O$	16.576	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	450	มิลลิลิตร
	ปรับ pH = 8.2		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	500	มิลลิลิตร

V. 0.01 % TNBS (0.2125 M Phosphate buffer pH 8.2)

เตรียมโดย	0.2125 M Phosphate buffer	99.8	มิลลิลิตร
	Picrylsulfonic acid solution 5%	200	ไมโครลิตร

หมายเหตุ: สารละลายควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง และสารละลายควรเตรียมใส่บีกเกอร์และปิดฟอล์ยให้มิดชิด เนื่องจากสารไวต่อแสง

VI. Deionized Distilled Water (DDW)

VII. 1 g/l leucine

เตรียมโดย	L-Leucine	0.1000	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

จากนั้น เจืองจาง L-Leucine 1 mg/ml ด้วยน้ำ DDW ให้มีความเข้มข้นของ L-Leucine 500 mg/ml

หมายเหตุ: ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง

VIII. 0.1 M Sodium sulphite

เตรียมโดย	Na_2CO_3	3.1511	กรัม
	น้ำ DDW: ปรับปริมาตรให้ครบ	250	มิลลิลิตร

IX. 1 % Chloramphenical

เตรียมโดย	Chloramphenical	0.01	กรัม
	Ehanol ปรับปริมาตรให้ครบ	1	มิลลิลิตร

อุปกรณ์

1. Hand homogenizer
2. Eppendorf 1.5 ml
3. Water bath ควบคุมอุณหภูมิ
4. หลอดทดลองขนาด 10 ml
5. เครื่อง Centrifuge ควบคุมอุณหภูมิ
6. Spectrophotometer
7. Glass cuvette, Quartz cuvette
8. pH meter
9. Vortex mixer
10. Auto pipette
11. Rotator
12. Magnetic Stirrer & Magnetic Bar

วิธีการหลัก ๆ ในการวิเคราะห์

1. การสกัดเอนไซม์ (crude enzyme extract) จากลำไส้และไส้ติ่งของปลากะพงขาววัยรุ่น และวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์ที่สกัดได้ โดยการวัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Midified Lowry Method และการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin activity) และกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส (α-amylase activity)
2. การหาปริมาณของเอนไซม์และซับเสตรทที่เหมาะสมเพื่อการศึกษาการย่อยในหลอดทดลอง
3. การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อเป็นซับสเตรทและการทำปฏิกิริยาการย่อยในหลอดทดลอง
4. การวัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระ(Amino Group) ที่ได้หลังจากการย่อยในหลอดทดลอง

<u>วิธีการโดยละเอียดในแต่ละขั้นตอน</u>

1. การสกัดเอนไซม์จากจากลำไส้และไส้ติ่งของปลากะพงขาววัยรุ่น และวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์สกัดที่ได้ โดยการวัดปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและ อะไมเลส

1.1 การสกัดเอนไซม์จากลำไส้และไส้ติ่งปลากะพงขาว

ผ่าตัดลำไส้และไส้ติ่งจากปลาที่อดอาหารประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ในทางเดินอาหารไม่มีอาหาร (digesta) เหลืออยู่

↓

สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ชั่งน้ำหนักปลา ผ่าตัดลำไส้และไส้ติ่ง

↓

ชั่งน้ำหนักและแช่ตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวทันที

↓

เติม 50 mM Tris-buffer saline + 5 mM $CaCl_2$ pH 8.0 ในสัดส่วน 1/5 w/v และบดให้ละเอียด

↓

หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

↓

เก็บสารละลายส่วนใส (crude enzyme extract) ไว้ใน deep freeze (-66°C) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและวัดกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและอะไมเลส

1.2 การวัดปริมาณโปรตีนจาก crude enzyme ด้วยวิธี Modified Lowry Method เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) ตามวิธีการในภาคผนวก ค.และเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ต้องการ

เจือจางเอนไซม์สกัดด้วย 50 mM Tris-Buffer saline + 5mM $CaCl_2$ pH8.0 ให้ความเข้มข้นของเอนไซม์สกัด เท่ากับ 5 mg protein/ ml

1.3 วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin) และกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส (α-amylase) จากเอนไซม์สกัดที่เจือจางแล้ว ตามวิธีการในภาคผนวก ค.

2. การหาปริมาณของเอนไซม์และซับเสตรทที่เหมาะสมเพื่อการศึกษาการย่อยในหลอดทดลอง
   2.1 Vary ปริมาณเอนไซม์ 3 ระดับ คือ 1, 2.5, 5, 7.5 และ 10 mg protein/ ml
   2.2 ปริมาณสับเสตรท 3 ระดับ คือ 5, 10, 20 mg protein/ ml
   2.3 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการย่อยของปลาแต่ละชนิด แต่ละขนาด แต่ละอายุ.
   2.4 แล้วนำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟเพื่อดูความสัมพันธ์ของปริมาณเอนไซม์และปริมาณโปรตีน
   2.5 คัดเลือกปริมาณเอนไซม์และซับเสตรทที่เหมาะสม

3. การเตรียมอาหาร เพื่อเป็นซับสเตรทและการทำปฏิกิริยาการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (In vitro protein digestion)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอาหารทดลอง

↓

ชั่งตัวอย่างอาหารทดลองให้ได้ปริมาณโปรตีน 2.5 มิลลิกรัมโปรตีน/ มิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างใส่บีกเกอร์ขนาดเล็ก และคำนวณให้ได้ปริมาณตามที่ต้องการวิเคราะห์
(วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

↓

เติม 50 mM Phosphate buffer pH 8.0 ลงในบีกเกอร์ ตามปริมาณที่คำนวณได้

↓

ผสมอาหารทดลองและ buffer ให้เป็นเนื้อเดียวกันบนเครื่อง Magnetic Stirrer

↓

ดูดซับเสตรทที่เตรียมได้ โดยใช้ Autopipette ปริมาตร 500 µl ใส่ในไมโครทิว

↓

เติม chloramphenical 1% ปริมาตร 10 µl

↓

เติมเอนไซม์สกัด ความเข้มข้น 5 mg protein/ ml ปริมาตร 50 µl ผสมให้เข้ากันดี และ
รีบเก็บตัวอย่างที่นาทีที่ 0 โดยหยุดปฏิกิริยาด้วย TCA 40% ปริมาตร 125 µl

↓

นำหลอดทดลองหมุนเหวี่ยงบนเครื่อง Rotator เพื่อให้ทำการย่อย โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 26±1°C และเก็บตัวอย่างที่เวลา 6 ชั่วโมง

↓

การเก็บตัวอย่าง หลังจากตัวอย่างย่อยได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว หยุดปฏิกิริยาด้วย TCA 40% (Trichloroacetic acid) ปริมาตร 125 µl และผสมให้เข้ากัน โดยใช้ Vortex

↓

หมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็ว 5,000 รอบ/ นาที นาน 10 นาที

↓

เก็บส่วนใส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Free amino acid group โดยใช้ TNBS's method โดยเก็บใน microtube และแช่แข็งที่ -66 °C

4. การวัดปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีน ด้วยการวัดปริมาณหมู่กรดอะมิโน (amino group) ด้วย TNBS's method (Benjakul and Morrissey, 1997)

นำตัวอย่างที่เก็บไว้ใน -66 °C ออกมาทำละลาย

↓

เจือจางตัวอย่างด้วย 50 mM Phosphate buffer pH 8.0 (ประมาณ 10 เท่า)

↓

ดูดสารละลายที่เจือจางแล้วใส่ในหลอดทดลองที่สะอาดและแห้ง ปริมาตร 62.5 µl

เติม 0.2125 M PBS pH 8.2, 1 ml

↓

เติม 0.01% TNBS, 0.5 ml

↓

ปิดฝาหลอดและผสมให้เข้ากันดี บ่มใน Water bath ที่ 50°C นาน 30 นาที

(ปิดตัวอย่างด้วย Foil)

↓

เติม 0.1 M Sodium Sulphite ปริมาตร 1 ml

↓

ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm

↓

นำค่า OD ที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Leucine และคำนวณค่ากรดอะมิโนที่ได้หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์สกัด

4.1 กราฟมาตรฐาน L-Leucine

ลำดับ	L-Leucine 500 mg/L	50 mM Phosphate Buffer pH 8.0	ความเข้มข้น L-Leucine (mg/L)	mmol L-Leucine
1	0	500	0	0.000
2	10	490	10	0.076
3	20	480	20	0.152
4	50	450	50	0.381
5	100	400	100	0.762
6	150	350	150	1.143
7	200	300	200	1.525
8	250	250	250	1.906
9	300	200	300	2.287
10	350	150	350	2.668
11	400	100	400	3.049
12	450	50	450	3.430
13	500	0	500	3.812

4.1.1 ดูดสารละลายแต่ละความเข้มข้น หลอดละ 62.5 มิลลิลิตร

4.1.2 เติม 0.2125 M PBS pH 8.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม 0.01% TNBS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

4.1.3 ปิดฝาหลอดและผสมให้เข้ากันดี บ่มใน Water bath ที่ 50°C นาน 30 นาที(ปิดตัวอย่างด้วย Foil)

4.1.4 เติม 0.1 M Sodium Sulphite ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

4.1.5 ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420nm

4.1.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟเส้นตรง โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่บนแกน *y* เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ L-Leucine อยู่บนแกน *x* และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

2. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในอาหารทดลองในหลอดทดลองของเอนไซม์สกัดจากปลากะพงขาว (Supannapong *et al*., 2008)

สารเคมี

1. Disodium hydrogen phosphate, A.R. Na_2HPO_4. $12H_2O$; MW = 358.07 g/mol
2. Sodium phosphate, A.R. NaH_2PO_4. $2H_2O$; MW = 156.01 g/mol
3. Sodium hydroxide; A.R. NaOH; MW = 40 g/mol
4. Potassium sodium tartrate; A.R. $KNaC_4H_4O_6$. $4H_2O$; MW= 282.22 g/mol
5. 3,5 Dinitrosalicylic acid; A.R. DNS; MW= 228.12 g/mol
6. Maltose; A.R. D-(+)-Maltose monohydrate, Grade I, Minimum 98%, MW= 360.32 g/mol
7. Chloramphenical

การเตรียมสาร

I. 50 mM Phosphate buffer pH 8.0

เตรียมโดย	Na_2HPO_4. $12H_2O$	17.9035	กรัม
	NaH_2PO_4. $2H_2O$	7.8005	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	950	มิลลิลิตร
	ปรับ pH = 8.0		
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: เตรียมและเก็บสารไว้ได้ที่อุณหภูมิ 4°C

V. 3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS) 1%

เตรียมโดย	DNS	1	กรัม
	น้ำ DDW1: เติม	40	มิลลิลิตร
	NaOH 1 N	40	มิลลิลิตร
	คนให้ผง DNS ละลายหมด		
	Potassium sodium tartrate	30	กรัม
	น้ำ DDW2: ปรับปริมาตรให้ครบ	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ: ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่วิเคราะห์

VI. Maltose 1.5 mg/ml

เตรียมโดย	Maltose	15	มิลลิกรัม
	ละลายในน้ำ DDW และปรับปริมาตรให้ครบ	10	มิลลิลิตร

II. 1 % Chloramphenical

เตรียมโดย	Chloramphenical	0.01	กรัม
	Ehanol ปรับปริมาตรให้ครบ	1	มิลลิลิตร

อุปกรณ์

1. Eppendorf 1.5 ml
2. หลอดทดลองขนาด 10 ml
3. เครื่อง Centrifuge ควบคุมอุณหภูมิ
4. Spectrophotometer
5. Glass cuvette, Quartz cuvette
6. pH meter
7. Vortex mixer
8. Auto pipette
9. Rotator
10. Magnetic Stirrer & Magnetic Bar

วิธีการหลัก ๆในการวิเคราะห์

1. ใช้เอนไซม์สกัดจากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง โดยใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 5 mg protein/ ml
2. การหาปริมาณของเอนไซม์และซับเสตทที่เหมาะสมเพื่อการสึกาการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง
3. การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อเป็นซับเสตรทและการทำปฏิกิริยาการย่อยในหลอดทดลอง
4. การวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (reducing-sugar) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโตส (maltose) (Modified from Benfeld, 1951 อ้างโดย Supannapong *et al*., 2008)

<u>วิธีการโดยละอียดในแต่ละขั้นตอน</u>

2. การหาปริมาณซับเสตรทที่เหมาะสมเพื่อการศึกษาการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง โดยใช้เอนไซม์สกัดความเข้มข้น 5 mg protein/ ml

2.1 Vary ปริมาณสับเสตรท 3 ระดับ คือ 5, 10, 20 mg protein/ ml

2.2 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการย่อยของปลาแต่ละชนิด แต่ละขนาด แต่ละอายุ

2.3 นำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟเพื่อดูความสัมพันธ์ของปริมาณเอนไซม์และปริมาณโปรตีน

2.4 คัดเลือกปริมาณเอนไซม์และซับเสตรทที่เหมาะสม

3. การเตรียมอาหารทดลองเพื่อเป็นซับเสตทและการทำปฏิกิริยาการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง

ชั่งตัวอย่างอาหารทดลองให้ได้ปริมาณ 10 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างใส่บีกเกอร์ขนาดเล็ก และคำนวณให้ได้ปริมาณตามที่ต้องการวิเคราะห์

(วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

↓

เติม 50 mM Phosphate buffer pH 8.0 ลงในบีกเกอร์ ตามปริมาณที่คำนวณได้

↓

ผสมอาหารทดลองและ buffer ให้เป็นเนื้อเดียวกันบนเครื่อง Magnetic Stirrer

↓

ดูดซับเสตรทที่เตรียมได้ โดยใช้ Autopipette ปริมาตร 500 µl ใส่ในไมโครทิว

↓

เติม chloramphenical 1% ปริมาตร 10 µl

↓

เติมเอนไซม์สกัด ความเข้มข้น 5 mg protein/ ml ปริมาตร 50 µl ผสมให้เข้ากันดี และ **รีบเก็บตัวอย่างที่นาทีที่ 0** โดยนำหลอดไมโครทิวแช่ในน้ำแข็ง อุณหภูมิ 4ºC

↓

นำหลอดทดลองหมุนเหวี่ยงบนเครื่อง Rotator เพื่อให้ทำการย่อย โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 26±1ºC และเก็บตัวอย่างที่เวลา 6 ชั่วโมง

↓

การเก็บตัวอย่าง หลังจากตัวอย่างย่อยได้ตามเวลาที่กำหนดแล้ว หยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดไมโครทิวแช่ในน้ำแข็ง อุณหภูมิ 4ºC

↓

หมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ความเร็ว 5,000 รอบ/ นาที นาน 10 นาที

↓

เก็บส่วนใส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ reducing sugar โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน มอลโตส (maltose) (Modified from Benfeld, 1951 อ้างโดย Supannapong *et al.,* 2008) โดยควรวัดทันทีหลังการย่อยเสร็จ

4. การวัดปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยคาร์โบไฮเดรต ด้วยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (reducing sugar) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโตส (maltose) (Modified from Benfeld, 1951 อ้างโดย Supannapong *et al.,* 2008)

ไปเปตผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อย ปริมาตร 250 µl ใส่หลอดทดลองแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร

↓

เติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1% ปริมาตร 250 µl

↓

ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex จากนั้น นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที

↓

ทำให้เย็น และเติมน้ำ DDW 1.25 มิลลิลิตร

↓

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโตส

4.1 กราฟมาตรฐานมอลโตส (maltose)

ลำดับ	maltose (1.5 mg/ml)	DDW	ความเข้มข้น maltose (mg/ml)	maltose (mmole)
1	0	250	0.00	0.0000
2	20	230	0.12	0.3330
3	50	200	0.30	0.8326
4	70	180	0.42	1.1656
5	100	150	0.60	1.6652
6	150	100	0.90	2.4978
7	200	50	1.20	3.3304
8	250	0	1.50	4.1630

4.1.1 ไปเปตสารละลายแต่ละความเข้มข้นใส่หลอดแก้ว

4.1.2 เติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1% ปริมาตร 250 µl

4.1.3 ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex จากนั้น นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที

4.1.4 ทำให้เย็น และเติมน้ำ DDW 1.25 มิลลิลิตร

4.1.5 นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ นำไปสร้างกราฟเส้นตรง โดยให้ค่าการดูดกลืนแสง อยู่บนแกน *y* เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ maltose อยู่บนแกน *x* และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก จ

ชนิดและรายละเอียดของคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ จ.1 ชนิด รายละเอียด และราคาของวัตถุดิบคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในในการทดลองบทที่3 และบทที่4

ชนิดคาร์โบไฮเดรต	รายละเอียด
1. กลูโคส	ยี่ห้อ: กลูโคลิน-กลูโคสดี
	รายละเอียด: บริษัท เรกคิทท์ เบนคีเซอร์ เฮลธ์แคร์ แมนูแฟคเจอร์ริ่ง (ประเทศไทย) จำกัด
	ราคา: 62.00 บาท/ 400 กรัม
2. เด็กซ์ตริน	ยี่ห้อ: Sigma
	รายละเอียด: -
	ราคา: -
3. แป้งมันสำปะหลัง	ยี่ห้อ: แมวแดงดาวเทียมลูกโลก
	แป้งมันชนิดพิเศษ (Premium quaility tapioca starch)
	รายละเอียด: หจก. เกรียงไกรค้าแป้ง (ผู้แทนจำหน่าย)
	ราคา: 23 บาท/ 1,000 กรัม
4. แป้งข้าวโพด	ยี่ห้อ: ครัววังทิพย์
	รายละเอียด: บริษัท อาร์ เอส ฟลาวร์ แอนด์ เคมิคอล จำกัด
	แป้งข้าวโพด (corn starch)
	ราคา: 18 บาท/ 500 กรัม
5. แป้งข้าวเจ้า	ยี่ห้อ: ตราช้างสามศียร
	รายละเอียด: บริษัท โรงเส้นหมี่ชอเฮง จำกัด
	แป้งข้าวจ้าว (rice flour)
	ราคา: 23 บาท/ 1,000 กรัม
6. แป้งสาลี	ยี่ห้อ: PI
	รายละเอียด: บริษัท ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)
	Wheat Flour from American Wheat
	ราคา: 33 บาท/ 1,000 กรัม
7. รำข้าว	ยี่ห้อ: -
	รายละเอียด: รำละเอียดไม่สกัดน้ำมัน จากโรงสีไกล้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
	ราคา: 8 บาท/ 1,000 กรัม

ภาคผนวก ฉ
ราคาวัตถุดิบอาหารปลากะพงขาว

ตารางภาคผนวกที่ ฉ.1 ราคาวัตถุดิบอาหารที่ใช้ในการทดลอง สำหรับคำนวณราคาอาหารทดลองบทที่ 4

ลำดับ	วัตถุดิบ	ราคา	รายละเอียด	ที่มา
1	ปลาป่น (68%)	40.87 บาท/ 1 กิโลกรัม	ปลาป่นโปรตีน 65% ราคาอ้างอิงเดือนมกราคม พ.ศ. 2555	http://www.indexmundi.com/commodities/
2	เครื่องในปลาทูน่าป่น (67.88%)	40.87 บาท/ 1 กิโลกรัม		
3	กากถั่วเหลือง	13.94 บาท/ 1 กิโลกรัม	กากถั่วเหลือง 49% ราคาอ้างอิงเดือนมกราคม พ.ศ. 2555	
4	CMC	240 บาท/ 1 กิโลกรัม	-	ห้างหุ้นส่วนจำกัด แอล บี ซายน์
5	วิตามินรวม	0	ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไทยยูเนี่ยน ฟีดมิลล์ จำกัด	-
6	แร่ธาตุรวม 40 กรัม/ อาหาร 1 กก.	25.75	ราคารวมสารเคมี	-
	- $NaH_2PO_4 . 2H_2O$ 15 กรัม	10.80	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์
	- $CaHPO_4$ 8 กรัม	6.59	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์
	- KCl 5 กรัม	1.93	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์
	- KH_2PO_4 10 กรัม	6.40	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์
	- แป้งข้าวจ้าว 2 กรัม	0.04	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์
7	น้ำมันปลา	50.60 บาท/ กิโลกรัม	ราคาอ้างอิงเดือนมกราคม พ.ศ. 2555	สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย (http://www.thaifeedmill.com)
8	แกลบ	0	เตรียมเองจากวัสดุที่มีในท้องถิ่น	-
9	แป้งสาลี	18.73 บาท/ 1 กิโลกรัม	ราคาอ้างอิงเดือนมกราคม พ.ศ. 2555	สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย (http://www.thaifeedmill.com)
10	NaCl 2 กรัม/ อาหาร1 กิโลกรัม	0.32	-	ภาควิชาวาริชศาสตร์

ภาคผนวก ช.

น้ำหนักเฉลี่ยปลากะพงขาว การทดลองที่1 และการทดลองที่ 2 และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไอเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* protein and carbohydrate) การทดลองที่ 1

ตารางภาคผนวกที่ ช.1 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ที่ชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)				
	สัปดาห์ที่				
	0	2	4	6	8
1 (กลูโคส)	5.84±0.07	8.07±0.13^{d}	10.78±0.38^{e}	14.91±0.75^{e}	20.12±1.25^{e}
2 (เด็กซ์ตริน)	5.83±0.01	9.37±0.08^{c}	15.87±0.39^{d}	24.66±0.92^{d}	30.47±1.63^{d}
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	5.84±0.08	9.57±0.30^{a}	16.29±0.69^{a}	24.96±1.11^{a}	41.24±1.16^{a}
4 (แป้งข้าวโพด)	5.84±0.04	10.00±0.27^{bc}	16.91±0.39^{bc}	26.62±0.98^{bc}	36.05±1.27^{c}
5 (แป้งข้าวจ้าว)	5.85±0.03	9.00±0.28^{ab}	13.81±0.64^{abc}	20.90±1.09^{bc}	37.19±2.16^{bc}
6 (แป้งสาลี)	5.84±0.07	9.98±0.19^{a}	17.40±0.42^{ab}	28.28±1.15^{ab}	40.20±1.41^{ab}
7 (รำข้าว)	5.83±0.05	9.59±0.32^{ab}	15.58±0.45^{c}	23.64±0.91^{c}	34.24±1.58^{c}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ ช.2 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยระดับแป้งสาลีและโปรตีนที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ในรูปแบบแป้งดิบและแป้งสุก ที่ชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ระดับแป้งสาลี (โปรตีน)%	รูปแบบแป้ง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)				
		สัปดาห์ที่				
		0	2	4	6	8
15 (45)%	ดิบ	6.79±0.01	13.87±0.42	24.53±1.16	39.25±2.35	56.02±3.40
	สุก	6.79±0.00	13.58±0.54	23.52±1.66	37.54±3.35	54.16±4.59
20 (42)%	ดิบ	6.79±0.01	13.74±0.38	24.27±1.00	38.53±1.60	55.14±2.22
	สุก	6.79±0.01	13.84±0.18	25.22±1.13	40.75±3.04	59.25±4.71
25 (39)%	ดิบ	6.79±0.01	13.59±0.37	23.56±1.15	37.51±1.79	54.62±2.46
	สุก	6.79±0.01	13.51±0.47	23.79±1.07	38.50±2.14	56.23±3.55
30 (36)%	ดิบ	6.79±0.01	13.79±0.33	24.45±1.24	38.74±2.79	55.92±4.49
	สุก	6.79±0.02	13.81±0.21	23.71±1.04	36.66±2.49	51.86±3.14
35 (33)%	ดิบ	6.79±0.01	13.33±0.38	23.27±1.36	36.80±3.52	51.70±4.93
	สุก	6.79±0.01	13.32±0.49	22.82±0.99	36.37±1.17	50.70±1.19

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

ตารางภาคผนวกที่ ช.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* protein digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	เอนไซม์จากไส้ติ่ง			เอนไซม์จากลำไส้		
	mmole L-Leucine					
	AG Pre-digest 0 นาที	AG Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที - 0 นาที	AG Pre-digest 0 นาที	AG Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที - 0 นาที
1 (กลูโคส)	2.71±0.76[b]	5.24±1.76	2.54±0.99	2.68±0.21[b]	5.33±0.66	2.65±0.53
2 (เด็กซ์ตริน)	4.52±0.51[ab]	7.27±1.92	2.75±1.44	4.44±0.45[a]	7.19±0.98	2.75±0.54
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	4.89±0.77[a]	8.17±1.76	3.28±1.00	4.86±0.23[a]	7.94±0.87	3.07±0.66
4 (แป้งข้าวโพด)	4.89±0.74[a]	7.65±1.59	2.76±1.01	4.81±0.20[a]	7.91±0.88	3.10±0.68
5 (แป้งข้าวจ้าว)	4.32±0.47[ab]	8.20±1.32	3.87±1.72	4.44±0.56[a]	7.65±1.43	3.21±1.32
6 (แป้งสาลี)	4.64±0.71[a]	7.82±2.01	3.19±1.29	4.44±0.45[a]	7.36±0.68	2.92±0.54
7 (รำข้าว)	4.47±0.69[ab]	6.98±1.68	2.52±1.06	4.38±0.38[a]	7.30±1.05	2.92±0.69

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ ช.4 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในหลอดทดลอง (*In vitro* carbohydrate digestibility) ของอาหารทดลองที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน 7 ชนิด ด้วยเอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งและลำไส้ของปลากะพงขาว โดยใช้เวลาในการย่อย 6 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	เอนไซม์จากไส้ติ่ง			เอนไซม์จากลำไส้		
	μmole maltose					
	Pre-digest 0 นาที	Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที - 0 นาที	Pre-digest 0 นาที	Post-digest 360 นาที	ผลผลิตที่ได้จากการย่อย 360 นาที - 0 นาที
1 (กลูโคส)	4.60±0.07^{a}	4.88±0.16^{a}	0.28±0.13^{b}	4.52±0.10^{a}	4.56±0.09^{a}	0.04±0.07^{b}
2 (เด็กซ์ตริน)	0.69±0.03^{b}	1.74±0.13^{b}	1.05±0.14^{a}	0.68±0.16^{b}	1.58±0.15^{b}	0.90±0.28^{a}
3 (แป้งมันสำปะหลัง)	0.38±0.07^{c}	0.61±0.01^{c}	0.23±0.06^{b}	0.30±0.07^{c}	0.60±0.02^{c}	0.30±0.09^{b}
4 (แป้งข้าวโพด)	0.37±0.09^{c}	0.49±0.01^{c}	0.12±0.09^{b}	0.37±0.04^{c}	0.61±0.09^{c}	0.24±0.10^{b}
5 (แป้งข้าวจ้าว)	0.49±0.18^{bc}	0.71±0.13^{c}	0.22±0.06^{b}	0.41±0.13^{bc}	0.72±0.15^{c}	0.31±0.17^{b}
6 (แป้งสาลี)	0.42±0.08^{bc}	0.62±0.05^{c}	0.19±0.07^{b}	0.47±0.05^{bc}	0.61±0.03^{c}	0.14±0.03^{b}
7 (รำข้าว)	0.45±0.10^{bc}	0.62±0.06^{c}	0.18±0.05^{b}	0.32±0.03^{c}	0.68±0.01^{c}	0.36±0.02^{b}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 9

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวสร้อยแก้ว เอียงอุบล

รหัสนักศึกษา 5010620028

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์น้ำ)	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	2548

ทุนการศึกษา

1. ทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2. ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ชุติมา ตันติกิตติ, สร้อยแก้ว เอียงอุบล และมณี ศรีชะนันท์. 2555. ระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงขาวที่มีเครื่องในปลาทูน่าป่นร่วมกับกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น. วารสารการประมง 64: -.

Iang-ubon, S. and Tantikitti, C. 2009. The optimum dietary protein level for Asian sea *Lates calcarifer* (Bloch) using tuna viscera meal and defatted soybean meal substituted for fishmeal. Word Aquaculture Society. Asian Pacific Aquaculture 2009, Kuala Lumper, Malaysia, 3-6 November 2009, pp 240.

Iang-ubon, S., Tantikitti, C. and Srichanun, M. 2012. Suitable level of wheat flour either uncooked or cooked on growth, nutrient utilization, protein sparing effect and intermediary enzyme activity in Asian seabass (*Lates calcarifer*). The Fifteenth International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Rica Seilet Hotel, Molde in Norway, 4-7 June 2012.

Tantikitti, C., Iang-ubon, S. and Srichanun, M. 2010. Dietary carbohydrate sources on growth, feed utilization and intermediary enzymes in Asian seabass (*Lates calcarifer*). The Fourteenth International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Qingdao, China, 31 May - 4 June 2010, pp 423.