การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นหลักสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

The Supplementation of Protein Hydrolysate from Grey Oyster Mushroom By-product in Plant-based Diet for Hybrid Pangasius Catfish (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*)

วิศรุต ช่อเส้ง

Witsarut Choseng

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Aquatic Science
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นหลักสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

The Supplementation of Protein Hydrolysate from Grey Oyster Mushroom By-product in Plant-based Diet for Hybrid Pangasius Catfish (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*)

วิศรุต ช่อเส้ง

Witsarut Choseng

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Aquatic Science
Prince of Songkla University
2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นหลักสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ผู้เขียน นายวิศรุต ช่อเส้ง

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง)

คณะกรรมการสอบ

……..ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

…….....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ซ่วนยุก)

……กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

……

(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นาย วิศรุต ช่อเส้ง)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นาย วิศรุต ช่อเส้ง)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นหลักสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ผู้เขียน นายวิศรุต ช่อเส้ง

สาขาวิชา วาริชศาสตร์

ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาระดับที่เหมาะสมของการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*) อาหารทดลองแทนที่ด้วยโปรตีนจากพืช (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน, ถั่วลิสงป่น และโปรตีนกลูเตนจากข้าวสาลี) ต่างระดับ ได้แก่ 0 (สูตรควบคุม), 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รวมทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (สูตรที่ 1-5) ให้อาหารทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน วันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น ศึกษาผลต่อการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร น้ำหนักปลาเริ่มต้นการทดลอง 3 กรัม จากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารแทนที่ด้วยโปรตีนพืชในระดับ 25, 50, และ 75 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ของ การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอด ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ องค์ประกอบเลือด และเอนไซม์ย่อยอาหาร แต่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 แทนที่ด้วยโปรตีนพืช 100 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แม้ว่าจะสามารถแทนที่วัตถุดิบพืชในอาหารได้สูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลกระทบทางลบต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสุขภาพของปลา แต่ในอาหารวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสูงที่สุดกว่าทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) ดังนั้นการใช้วัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์จึงเป็นระดับที่ดีที่สุด

การทดลองที่ 2 ทำการศึกษาสภาวะการผลิตไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju* (Fr. Singers)) (mushroom protein hydrolysate, MPH) พบว่าการผลิตที่ pH 7 อุณหภูมิ

50 องศาสเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง และปริมาณเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการย่อยที่ดีที่สุดมีค่าเท่ากับ 139.62±38.80 เปอร์เซ็นต์ นำไปเสริมในอาหารจากผลการทดลองที่ 1 เนื่องมาจากอาหารวัตถุดิบพืชมีสารต้านโภชนาการและลดการดึงดูดการกินอาหาร ดังนั้นทำการศึกษาการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตถึงประสิทธิภาพกระตุ้นการกินอาหารและเพิ่มการใช้ประโยชน์จากอาหาร ประกอบด้วยอาหารทดลอง ดังนี้ สูตรอาหารควบคุม, อาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH 2.5 เปอร์เซ็นต์, อาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH 5 เปอร์เซ็นต์, อาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH 2.5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH 5 เปอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 1-5 ตามลำดับ) น้ำหนักปลาเริ่มต้นการทดลอง 5.25 กรัม ให้อาหารปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน วันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอด ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสูงสุด ($P<0.05$) ในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์+ MPH 2.5 เปอร์เซ็นต์) สำหรับองค์ประกอบเลือดและเม็ดเลือดขาวพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์กลับพบว่ามีค่าสูงสุด ($P<0.05$) ในชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตุดิบพืช 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์) สำหรับกิจกรรมย่อยอาหารพบว่าในเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่เอนไซม์ไลเปสและอะไมเลสในลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วย MPH มีค่าสูงกว่าสูตรควบคุม ($P<0.05$) TBARs ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วย MPH มีค่าต่ำกว่าสูตรควบคุม ($P<0.05$) นอกจากนั้นการเสริม MPH 2.5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชทั้ง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่าสีของเนื้อปลา นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากพืช อาหารวัตถุดิบพืชเทียบเท่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร และเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อปลาได้

Thesis title The Supplementation of Protein Hydrolysate from Grey Oyster Mushroom By-product in Plant-based Diet for Hybrid Pangasius Catfish (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*)

Author Mr. Witsarut Choseng

Major Program Aquatic Science

Academic Year 2018

ABSTRACT

The research was divided into 2 experiments. Experiment 1 studied on a suitable level of fishmeal replacement with plant mixtures in hybrid Pangasius (Pangasianodon gigas × P. hypophthalmus) diet. Plant protein mixtures (soybean meal, peanut meal and wheat gluten) partly replaced decreasing levels of fishmeal: 0 (control), 25, 50, 75 and 100%, respectively. The experiment was conducted in 5 treatments with 3 replications (T1-T5). Feeding trial was 60 days, twice daily at 9.00 am and 4.00 pm. to evaluate the effects of diet on growth performance, immune system, and digestive enzyme activity. Initially, fish weighed 3 grams. The results showed no significant differences ($P>0.05$) among fish fed the (0 (control), 25, 50 and 75%) replacement diets in growth performance and feed utilization: weight gain, specific growth rate, survival rate, feed consumption and feed conversion ratio, blood parameters and digestive enzyme activitieas. However, the fish fed 100 % plant mixtures had significantly lower ($P<0.05$) growth performance and feed utilization. Nonetheless, plant protein mixtures can be included at the level of up to 75% without any adverse effects on growth performance, feed efficiency, and health status. But the apparent net protein utilization in fish fed the 50% plant mixture replacement diet was higher ($P<0.05$) than the other groups. In conclusion, the most efficient formula was the 50% plant mixture replacement diet for the hybrid Pangasius catfish.

Experiment 2 studied on the optimal condition to produce protein hydrolysate from grey oyster mushrooms (*Pleurotus sajor-caju* (Fr. Singers)) and concluded that it is pH 7, at 50°c, for 3 hours with 2% enzyme concentration. The optimal level for the highest degree of hydrolysates was 139.62±38.80%. Supplementation of mushroom protein

hydrolysate (MPH) in given results from experiment 1 diets. As the results show, plant mixture ingredients contain anti-nutrition factors and decreased feed attraction. Thus, the protein hydrolysate stimulated consumption and increased feed utilization. The experimental diets were as follows: control group, 50% plant protein mixtures +2.5% MPH, 50% plant protein mixtures + 5% MPH, 75% plant protein mixtures + 2.5% MPH and 75% plant protein mixtures + 5% MPH (T1-T5, respectively). Fish with an initial weighed 5.25 grams were fed two times daily, at 9.00am and 4.00pm. The results on growth performance and feed utilization: weight gain, specific growth rate, survival rate, feed consumption feed conversion ratio and protein efficiency ratio, were not significantly different ($P>0.05$), but apparent net protein utilization was significantly higher ($P<0.05$) in the T4 diet group (75% plant protein mixtures + 2.5% MPH). Blood parameters such as red blood cell count and white blood cell count were not significantly different ($P>0.05$). However, lysozyme activity was significantly higher ($P<0.05$) in the T5 diet group (75 % plant protein mixtures + 5% MPH). Digestive enzyme activities in terms of trypsin and chymotrypsin were not significantly different ($P>0.05$). Nevertheless, lipase and amylase activity from intestines of fish fed MPH supplemented diets was higher than the control group ($P<0.05$). TBARs were significantly lower ($P<0.05$) in the fillet of fish fed with MPH diet groups than the control group. Furthermore, the added of 2.5% MPH in plant mixture replacement at 50 and 75% feed were no significant differences ($P>0.05$) of color tests in fillets. Futhermore, supplementation at 2.5% MPH in hybrid Pangasius catfish, established protein utilization from plant protein mixtures as well as control diet group, enhance enzyme activity and fillet product quality

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จากบุลคลที่เกี่ยวข้อง ผู้ เขียนจึงขอกล่าวถึงด้วยความรู้สึกขอบคุณและยกย่อง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง ประธานที่ปรึกษาในวิทยานิพนธ์ที่ได้มอบโอกาสให้ทำการศึกษาวิจัย ให้คำแนะนำ ตรวจทาน และช่วยให้คำแนะนำในการแก้ไขต้นฉบับ รวมถึงหลักในการทำงานเพื่อนำไปต่อยอดสู่การใช้ประโยชน์ต่อการใช้ชีวิตและการทำงานในอนาคต

ขอขอบพระคุณ คุณนัทท์ นันทพงศ์ ที่ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการทำงานวิจัยอย่างเป็นระบบ องค์ความรู้ต่างๆที่ได้ถ่ายทอดให้ผู้เขียนอย่างตั้งใจ รวมถึงเป็นตัวอย่างในการตั้งใจทำงาน

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับความสนันสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการสนับสนุนทุนอดุหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2559 รวมถึงทุนวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง ในการใช้สารเคมีเพื่อการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดและเอนไซม์ย่อยอาหาร จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รวมทั้งระลึกถึงอาจารย์ทุกท่านที่เคยให้ความกรุณาถ่ายทอดความรู้ทางวิชาการและแนะนำหลักในการทำงาน รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาวาริชศาสตร์ ที่ให้ความสะดวก สนับสนุน และเอื้อเฟื้อเครื่องมือ รวมถึงสถานที่ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณบุลคลที่อยู่รอบข้างตลอดระยะเวลาในการศึกษาทั้ง เพื่อน พี่ และน้องที่คอยให้กำลังใจ คำปรึกษา รวมทั้งแนะแนวทางแก้ไขปัญหา คอยตักเตือน และผลักดันให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานวิจัยได้จนเสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ บิดา มารดา น้องสาว และครอบครัว ที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนการศึกษาตั้งแต่แรกเริ่มจนถึงปัจจุบัน

วิศรุต ช่อเส้ง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ 5

ABSTRACT 7

กิตติกรรมประกาศ 9

บทที่ 1 บทนำ 1

บทนำต้นเรื่อง 1

บทที่ 2 4

ตรวจเอกสาร 4

2.1 ปลาสวายและปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ 4

2.2 การใช้วัตถุดิบแทนทีปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ 7

2.3 เห็ดนางฟ้า 8

2.4 โปรตีนไฮโดรไลเซต 12

2.5 การตรวจสอบคุณภาพเนื้อ 15

2.6 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลา 16

บทที่ 3 17

การทดลองที่ 1 17

3.1 วัตถุประสงค์ 17

3.2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง 17

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล 26

3.4 ผลการทดลอง 27

3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง 42
3.6 สรุปผลการศึกษา 42
บทที่ 4 47
การทดลองที่ 2 47
4.1 วัตถุประสงค์ 47
4.2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง 47
4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล 54
4.4 ผลการทดลอง 54
4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง 79
4.6 สรุปผลการทดลอง 82
บทที่ 5 83
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 83
5.1 สรุปผลการศึกษา 83
5.2 ข้อเสนอแนะ 84
เอกสารอ้างอ้าง 85
ภาคผนวก 97
ภาคผนวก ก 97
ภาคผนวก ข 104
ประวัติผู้เขียน 106

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เอนไซม์ไฮโดรไลเซตทางการค้า 14
ตารางที่ 2 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 1 19
ตารางที่ 2 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 1 (ต่อ) 20
ตารางที่ 3การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร 26
ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การรอดตายของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 29
ตารางที่ 5 ปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 30
ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (เปอร์เซ็นต์) ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 32
ตารางที่ 7 องค์ประกอบเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 34
ตารางที่ 8 สภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร 36
ตารางที่ 9 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 39
ตารางที่ 10 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 40
ตารางที่ 11 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 41
ตารางที่ 12 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 2 51
ตารางที่ 12 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 2 (ต่อ) 52
ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย 55

ตารางที่ 14 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 66
ตารางที่ 15 ปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 67
ตารางที่ 16 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (เปอร์เซ็นต์) ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 69
ตารางที่ 17 องค์ประกอบเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 71
ตารางที่ 18 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 74
ตารางที่ 19 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 75
ตารางที่ 20 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 76
ตารางที่ 21 คุณภาพเนื้อของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 78

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์..... 5

บทที่ 1
บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากอาหารสัตว์น้ำจัดเป็นต้นทุนหลักคิดเป็น 40-60 เปอร์เซ็นต์ ของการลงทุน พบว่าการทดแทนวัตถุดิบปลาป่นในสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแทนด้วยวัตถุดิบพืช มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดี ลดต้นทุนในการผลิต (Cao et al., 2007) แม้ว่าจะมีการศึกษาการใช้โปรตีนจากพืชทดแทนแทนในอาหารสัตว์น้ำได้ แต่ก็ยังพบข้อจำกัด เนื่องจากในพืชมีสารต้านโภชนาการที่สัตว์น้ำไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และยังยับยั้งการใช้ประโยชน์ของสารอาหารอื่น (Kumar et al., 2012) จำเป็นต้องทำการศึกษาถึงระดับที่เหมาะสม เนื่องจากวัตุดิบพืชนั้นส่งผลต่อคุณสมบัติการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร รวมถึงลดความดึงดูดการกินอาหารของปลา (O'Keefe, 2003) การประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตเสริมในอาหารสัตว์น้ำเป็นอีกทางเลือกที่มีการศึกษาพัฒนาอย่างแพร่หลาย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร ดึงดูดการกิน รงมถึงส่งผลดีต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกัน (Chotikachinda et al., 2013; Hevrøy et al., 2005; Tang et al., 2008; Nakajima et al., 2008)

เห็ดเป็นวัตถุดิบที่มีความน่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งของสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ยกตัวอย่าง เช่น พอลีแซคคาร์ไรด์ (polysaccharides) เปปไทด์ (peptide) ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สารต้านเชื้อจุลชีพ (antimicrobial) สารป้องกันการอักเสบ (anti-inflammatoy) และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immune stimulant) (Corrêa et al., 2016; Meng et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ต่อผู้สูงอายุในด้านการปรับสมดุลการเคลื่อนไหว ความทรงจำและฟื้นฟูระบบต่างๆในร่างกายที่ถูกทำลายจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากความความเครียด (oxidative stress) (Thangthaeng et al., 2015) ในรายงานวิจัยทางโภชนศาสตร์พบว่าสามารถรับประทานเห็ดทดแทนเนื้อสัตว์ได้ และเมื่อบริโภคอย่างต่อเนื่องสามารถช่วยเสริมสร้างกล้ามเนื้อ ป้องกันความดันโลหิตสูง และลดระดับไขมัน รวมไปจนถึงระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในเลือดได้ (Poddar et al., 2013) สอดคล้องกับกระแสนิยมการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพในปัจจุบัน โดยเห็ดนั้นถูกจัดให้เป็นหนึ่งในอาหารเพื่อสุขภาพและถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลายรูปแบบ ทั้งการนำมาปรุงเป็นอาหาร แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น นำสารสกัดมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง

อาหารเสริมความงามเนื่องจากมีสรรพคุณในการช่วยชะลอวัย (anti-aging) ยับยั้งการเกิดเม็ดสี (anti-tyrosinase) ป้องกันผิวขาดน้ำ (anti-hyaluronidase) และป้องกันการสลายตัวของคอลลาเจน (anti-collagenase) (Guinard et al., 2016; Taofiq et al., 2016) จากความต้องการของตลาดที่เพิ่มมากขึ้นทำให้มีเศษเหลือของเห็ดหลังแปรรูปผลิตภัณฑ์เป็นปริมาณมาก ส่วนใหญ่เป็นส่วนโคนเห็ด โดยเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าทางการตลาดต่ำ นิยมนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ปีกหรือปุ๋ยหมัก (ขนิษฐา, 2555 อ้างโดย วุฒิพร และคณะ, 2557) แต่ทั้งนี้เศษเหลือของเห็ดนั้นมีศักยภาพที่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในรูปแบบอื่นได้ เมื่อพิจารณาจากคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหาร เช่น เบต้า-กลูแคน (β-glucan) ที่มีผลต่อการพัฒนาสุขภาพ ออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเออโกไธโอนีน (ergothioneiene) ที่ช่วยให้ชะลอการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) และการเปลี่ยนสีเนื้อที่ช่วยในการรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Nyuyen et al., 2012) จึงพบรายงานการนำเห็ดมาเป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์บกเพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต ส่งเสริมสุขภาพ และระบบทางเดินอาหารในไก่เนื้อ (Giannenas et al., 2010; Daneshmand et al., 2011) รวมทั้งในสัตว์น้ำเพื่อให้เกิดประโยชน์ในด้านการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกัน (Katya et al., 2014; Baba et al., 2015) นอกจากนั้นยังศึกษาถึงการใช้สำหรับเพิ่มคุณภาพเนื้อปลาที่ผ่านการแช่แข็งทั้งจากการตรวจสอบเชิงคุณภาพและการทดสอบโดยประสาทสัมผัส (ชลกานต์, 2555; Bao et al., 2009)

ปัจจุบันมีรายงานวิจัยถึงการเพิ่มประสิทธิภาพของเห็ดเพื่อมาใช้ประโยชน์เสริมอาหารในหลายรูปแบบ เช่น การสกัด (Ahmed et al., 2015; Baba et al., 2015; Bilen et al., 2016) การหมัก (Katya et al., 2014) แต่รายงานการศึกษาใช้เห็ดส่วนโคนมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซตยังมีค่อนข้างจำกัด รายงานการวิจัยกับสัตว์น้ำหลายชนิดพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษวัตถุดิบทั้งพืชและสัตว์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากโปรตีนซึ่งมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเจริญเติบโต ทั้งยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Aksnes et al., 2006; Zhu et al., 2006; Khosravi et al., 2015; Xu et al., 2016) และเพิ่มประสิทธิภาพในการดึงดูดการกิน (feed attractants) เพิ่มการกินอาหารในปลาได้ดีขึ้น (Chotikachinda et al., 2013)

ปลาสวายเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยผลผลิตปลาสวายของประเทศเวียดนามในปี พ.ศ. 2550 มีปริมาณถึง 683,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 645 ล้านเหรียญสหรัฐ ส่งออกไปกว่า 100 ประเทศในรูปแบบเนื้อแล่ (Phan et al., 2009) ผลผลิตปลาสวายในปี พ.ศ. 2551 ของประเทศไทยคิดเป็น 15 ของปลาน้ำจืดทั้งหมด มีปริมาณผลผลิต 20,000 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 480

ล้านบาทและในช่วงปี พ.ศ. 2549 จนถึงปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลผลิตปลาสวายเป็นอันดับสามไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา มีปริมาณกว่า 3,500 ตัน และยังมีแนวโน้มการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปลาสวายมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์ เนื้อปลาได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเพราะเนื้อปลามีสีขาวนิยมใช้บริโภคในรูปของเนื้อแล่ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ต้องการของกลุ่มประเทศยุโรปและสหรัฐอเมริกา (FAO, 2010) เนื้อของปลาสวายนั้นนอกจากจะมีสีขาว ไม่มีกลิ่นคาว ยังให้คุณค่าทางโภชนาการที่มีประโยชน์ครบถ้วน โดยในเนื้อแล่น้ำหนัก 170 กรัม ให้พลังงานประมาณ 125 กิโลแคลอรี โปรตีน 24 กรัม ไขมัน 3.42 กรัม ไขมันอิ่มตัว (saturated fat) 1.64 กรัม คอเลสเตอรอล 25 มิลลิกรัม (FAO, 2012) จึงมีความพยายามในการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกปลาที่มีคุณภาพดีขึ้น (Sutthi et al., 2014) ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เป็นอีกการพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีและเพิ่มศักญภาพการผลิตของเกษตรกร (ไพบูลย์ และคณะ, 2556)

การทดลองนี้จึงได้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับที่สามารถทดแทนวัตถุดิบพืชหลายชนิด ได้แก่ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน, ถั่วลิสงป่น และโปรตีนกลูเตนจากข้าวสาลี ถึงระดับที่ดีที่สุดสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ สามารถนำระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชที่มีศักยภาพที่ดีสุดไปในการเพาะเลี้ยงของเกษตรกร จากนั้นใช้สูตรอาหารจากผลการทดลองที่ 1 ได้แก่ สูตรอาหารที่ดีที่สุด และสูตรอาหารที่ดีรองลงมา อ้างอิงเพื่อศึกษาในการเสริมสารอาหารที่ช่วยในด้านการปรับปรุงคุณภาพผลผลิตและปรับปรุงสูตรอาหารให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ด้วยการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในการทดลองที่ 2 โดยทั้ง 2 การทดลองศึกษาผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และระบบภูมิคุ้มกัน โดยในการทดลองที่ 2 ทำการศึกษาคุณภาพของเนื้อปลาเพิ่มเติมเนื่องจากการได้รับอาหารเสริม (mushroom protein hydrolysate, MPH) ทั้งนี้เพราะประเทศไทยมีศักยภาพในการเพาะเลี้ยงและส่งออกปลาชนิดนี้ โดยได้รับความนิยมในการบริโภคในรูปแบบเนื้อแล่ (fillet) มากขึ้นในกลุ่มประเทศยุโรปและสหรัฐอเมริกา เนื่องจากเนื้อของปลามีสีขาว ให้รสสัมผัสที่ดีกว่าปลาน้ำจืดชนิดอื่น และมีคุณค่าทางโภชนาการที่ครบถ้วน (FAO, 2010, 2012) นอกจากนี้ยังเป็นการนำเศษวัตถุดิบจากเห็ดนางฟ้าซึ่งจัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญ มีราคาถูก เป็นที่นิยมบริโภค มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดเพื่อให้มีผลผลิตที่ดีขึ้นทั้งในด้านการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน คุณภาพเนื้อ และเป็นแนวทางการเลี้ยงปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์แบบต้นทุนต่ำ

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ปลาสวายและปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

2.1.1 ลักษณะทางชีววิทยา

ปลาสวายมีชื่อสามัญคือ Pangasius catfish ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pangasianodon hypophthalmus* อยู่ในสกุล Pangasiidae เป็นสกุลเดียวกับปลาเทโพ (*Pangasius larnaudii*) ลักษณะลำตัวค่อนข้างเรียวยาวส่วนหัวค่อนข้างกว้างแต่ไม่แบนมากลาดลงถึงปาก ตามีขนาดเล็ก ปากอยู่ต่ำ (inferior mouth) และกว้าง มีหนวด 2 คู่ อยู่บนขากรรไกรบน 1 คู่ และขากรรไกรล่าง 1 คู่ มีซี่เหงือก (gill rakers) 20 ซี่เรียงเป็นแถวบนขากรรไกรทั้ง 2 คู่ มีฟันบนเพดานเรียงเป็นแถว 2 แถว ครีบหลังสีเทาปนดำ ส่วนที่ปลายหางครีบหลัง และครีบอกมีสีค่อนข้างดำ ลำตัวมีสีหม่นเข้ม และหลังมีสีเหลืองอ่อน เมื่อปลามีอายุ 6-8 เดือน จะมีน้ำหนักประมาณ 0.8-1.3 กิโลกรัมต่อตัว ปลาสวายเป็นปลามีปากต่ำและกว้าง มีฟันที่ขากรรไกรบนและล่าง มีกระเพาะเป็นรูปตัวยู ลำไส้ยาว 3.5 เท่าของลำตัว (เวียง, 2542) เป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส (ปัญจพร, 2543)

ปลาสวายเพศผู้มีท้องเรียบและแข็งกว่าเพศเมีย อวัยวะเพศมีลักษณะเป็นวงรี สีแดงอ่อน เมื่อบีบจะมีน้ำเชื้อสีขาวไหลออกมา ส่วนเพศเมียนั้นท้องจะอูม กลมนูน อวัยวะเพศใหญ่กว่าเพศผู้ และการสังเกตอีกทางหนึ่งจะพบว่าแผ่นปิดเหงือกลื่นกว่าเพศผู้ ทำการขยายพันธุ์โดยการผสมเทียมภายนอกโดยการรีดน้ำเชื้อและไข่ออกมาผสมกัน แล้วจึงนำไปฟักตัวอ่อน (สันต์, 2548)

2.1.2 ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ (ภาพที่ 1) เป็นการพัฒนาสายพันธุ์โดยใช้พ่อปลาบึก (*Pangasinodon gigas*) ผสมกับแม่ปลาสวาย เพื่อนำลักษณะเด่นที่เป็นลักษณะเฉพาะของพ่อแม่พันธุ์ออกมาและถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกโดยวิธีการต่างๆ เช่น เทคนิคการผสมข้าม เทคนิคการผสมกลับ ทำให้ได้ลักษณะเด่นคือเป็นปลาที่โตเร็ว มีความต้านทานโรค อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำ พัฒนาคุณภาพเนื้อให้มีรสชาติดีขึ้นและมีสีขาวกว่าเนื้อปลาสวาย มีลักษณะแสดงออก

โดยรวมดีกว่าพ่อแม่ (heterosis หรือ hybrid vigor) (ไพบูลย์ และคณะ, 2556) ในปัจจุบันมีความพยายามในการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกปลาที่มีคุณภาพดีขึ้น (Sutthi et al., 2014) ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์จัดเป็นปลาเศรษฐกิจชนิดใหม่ที่เริ่มส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย โดยมีตลาดที่สำคัญทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย และสิงคโปร์

ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

2.1.3 รูปแบบการเลี้ยง

การเลี้ยงปลาสวายในเชิงพาณิชย์มีทั้งระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่น (super intensive) ไปจนการเลี้ยงแบบดั้งเดิม (extensive) ทั้งในบ่อและกระชัง (FAO, 2010) ลูกพันธุ์ปลาสวายที่นำมาเพาะเลี้ยงมีขนาดประมาณ 1.5-18 เซนติเมตร เลี้ยงที่ความหนาแน่น 5-31 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร การฆ่าเชื้อโดยใช้เกลือหรือยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ก่อนปล่อยลงในบ่อ (Phan et al., 2009) ใช้เวลาเลี้ยง 3-4 เดือนจึงจะได้ขนาดที่บริโภค และสามารถมีขนาด 3 กิโลกรัมจากการเลี้ยงในบ่อดินระยะเวลา 2 ปี (Ahmed et al., 2013)

2.1.4 อาหารและความต้องการสารอาหารของปลาสวาย

การศึกษาจากเอกสารพบว่าในประเทศบังคลาเทศที่มีการเพาะเลี้ยงปลาสวายแบบหนาแน่น เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปในปริมาณ 1-10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลา อาหารสำเร็จรูปที่ใช้มีโปรตีนประมาณ 23-32 เปอร์เซ็นต์ โดยมีแหล่งโปรตีนจากวัตถุดิบพืชและปลาป่น มีปริมาณปลาป่นในอาหารประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (Ali et al., 2013) อาหารปลาสวายสำเร็จรูปที่ใช้ในประเทศเวียดนามมีระดับโปรตีน 20-22 เปอร์เซ็นต์ และใช้อาหารที่ผลิตภายในครัวเรือนจาก

เศษปลา ร่วมกับรำข้าวและกากถั่วเหลือง วิตามิน มีระดับโปรตีน 17-26 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงแรก 1-2 เดือน ปลาน้ำหนัก 17-150 กรัม สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่ผลิตเองได้ดี หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นอาหารสำเร็จรูป (Phan et al., 2009) Yuangsoi และคณะ (2016) ศึกษาการใช้แหล่งโปรตีนทดแทน ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากข้าวโพด และปลายข้าว ในอาหารปลาสวาย โดยลดระดับปลาป่นและเสริมด้วยกรดอะมิโนเมธไทโอนีน (methionine) พบว่าปลาสวายสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในสูตรอาหารที่มีระดับเมธไทโอนีน 0.71 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่สามารถนำมาพัฒนาต่อในการใช้อาหารทดแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชและสัตว์ในอาหารปลาสวายเนื่องจากเป็นปลาที่สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivore) หากได้รับสารอาหารที่จำเป็นอย่างเพียงพอ

(1.) โปรตีน (protein)

ความต้องการโปรตีนในอาหารปลาสวายอยู่ที่ 18-40 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับแต่ละช่วงวัย อาหารที่ใช้เลี้ยงอนุบาลปลาวัยอ่อนขนาด 0.2 กรัม ต้องมีระดับโปรตีนอย่างน้อย 25 เปอร์เซ็นต์ ในปลาสวายขนาด 1.7 กรัม มีความต้องการระดับโปรตีนเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ และในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาขนาด 7 กรัม ควรมีโปรตีนเท่ากับ 27-29 เปอร์เซ็นต์จึงเพียงพอต่อความต้องการในการเจริญเติบโต (กฤษณา, 2555)

(2.) พลังงาน (energy)

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสวายวัยรุ่นควรมีพลังงาน 2,710-2,980 กิโลแคลอรี ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หากใช้อาหารที่มีโปรตีนเท่าที่จำเป็น คือ 15 เปอร์เซ็นต์ จำเป็นต้องมีปริมาณพลังงานที่เพียงพอ คือ ไม่น้อยกว่า 2,380 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นสัดส่วนร้อยละ 131 ต่อ 1 ระหว่างร้อยละพลังงานต่อโปรตีน (เวียง, 2542)

(3.) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)

ปลาสวายสามารถใช้แป้งเป็นแหล่งพลังงานและทำให้เม็ดอาหารยึดเกาะแน่นได้ดีเช่นเดียวกันกับปลาดุก (ชลกานต์, 2555) ในปลาระยะวัยอ่อนที่มีอายุประมาณ 15 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 0.031 กรัม สามารถเริ่มใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตในอาหารได้ โดยมีการกำหนดปริมาณคาร์โบไฮเดรตในอาหารไว้ที่ 20-60 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้การใช้ประโยชน์จากสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น แหล่งของคาร์โบไฮเดรต วัตถุดิบอื่นในอาหาร ชนิดและขนาดของปลา และความถี่ในการให้อาหาร (เวียง, 2542)

(4.) ไขมัน (lipid)

ปลาสวายมีการใช้ไขมันในระดับเดียวกับปลาดุก (ชลกานต์, 2555) จึงควรได้รับไขมันจากอาหาร 6-8 เปอร์เซ็นต์ (เวียง, 2542) กรดไขมันที่ต้องการได้แก่ โอเมกา-3 โอเมกา-6 และฟอสโฟลิปิด (นฤมล, 2550)

(5.) วิตามินและแร่ธาตุ (Vitamin and Mineral)

ความต้องการวิตามินนั้นจำเป็นต้องมีการเสริมเมื่อมีการเลี้ยงในระบบปิด เนื่องจากไม่มีอาหารจากธรรมชาติที่เป็นแหล่งวิตามินของปลา ในปลานั้นมีวิตามินอยู่หลายชนิดที่จำเป็น รวมถึงการทำงานรวมกับสารอาหารอื่นเช่น วิตามินเอ วิตามินดี วิตามีนอี วิตามินเค วิตามินบี 1 – 12 โคลีน อินโนซิตอล (FAO, 2016)

ความต้องการแร่ธาตุในปลาทั่วไปนั้นต้องการแร่ธาตุในรูปของสารอนินทรีย์เพื่อการดำรงชีวิตและกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย โดยปลาสวายสามารถดูดซึมแร่ธาตุจากน้ำได้เช่นเดียวกับปลาชนิดอื่น แต่ในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงนั้นไม่สามารถควบคุมและปริมาณของแร่ธาตุได้ (FAO, 2016) กลุ่มของธาตุที่ปลาต้องการสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

(1.) แร่ธาตุหลัก (macro minerals) ที่จำเป็นต้องใส่ลงในอาหารเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการ เนื่องจากปลามีความต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ แคลเซียม (Ca) คลอรีน (Cl) แมกนีเซียม (Mg) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) และซัลเฟอร์ (S)

(2.) แร่ธาตุรอง (trace elements) แร่ธาตุที่ปลามีความต้องการน้อยมาก ได้แก่ ทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ซีลิเนียม (Se) สังกะสี (Zn) ไอโอดีน (I) และโคบอลต์ (Co) (นฤมล, 2550)

2.2 การใช้วัตถุดิบแทนทีปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ

การใช้โปรตีนจากพืชในอาหารสัตว์น้ำ ไม่ว่าจะเป็นโปรตีนจากเมล็ดธัญพืช พืชตะกูลถั่ว หรือวัตถุดิบเศษเหลือจากการผลิตอาหาร โดยโปรตีนจากพืชในนั้นเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำ เนื่องมาจากศักยภาพในการแทนที่ปลาป่น ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอาหารสัตว์น้ำ (Cao et al., 2007) โดยปลาป่นนั้นจัดเป็นเป็นวัตถุดิบที่มีต้นทุนสูง แต่การใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นในสูตรอาหารนั้นจำเป็นต้องพิจาณาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังเช่น การใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบพืช โภชนาการและปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในสูตรอาหาร และสารต้านโภชนาการที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา (O'Keefe, 2003)

การใช้วัตถุดิบแทนที่ในอาหารปลาสวาย จากการศึกษาของ Nguyen (2013) รายงานว่ามีการใช้วัตถุดิบแทนที่ปลาป่นหลายชนิด โดยใช้ทั้งวัตถุดิบพืช ได้แก่ กากถั่วเหลือง รำข้าว และมันสำปะหลัง รวมถึงวัตถุดิบจากสัตว์ ได้แก่ เลือดป่น กระดูกป่น และเนื้อป่น โดยที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต มีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบพืชได้ดี และยังเป็นการลดต้นทุนในการผลิตอาหาร

การสร้างสูตรอาหารแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยวัตถุดิบอื่น นอกจากมีปัจจัยในเรื่องการลดต้นทุน ยังต้องคำนึงถึงโภชนาการที่สัตว์น้ำได้รับและนำไปใช้ประโยชน์ ในการศึกษาของ O'Keefe (2003) รายงานถึงชนิดและปริมาณที่แนะนำต่อการใช้วัตถุดิบพืชในสูตรอาหารสัตว์น้ำ ดังเช่น กากถั่วเหลืองที่มีการศึกษาในสูตรอาหารของปลาหลายชนิด ปลาไน (*Crprinus carpio*) และปลากดอเมริกัน *(Ictalurus pantatus*) ที่สามารถใช้กากถั่วเหลืองได้ปริมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร กากคาโนลาที่นิยมใช้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารปลา และถั่วสิสงป่น ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนและพลังงานให้แก่สัตว์น้ำ สามารถใช้ประโยชน์ได้ดีจากรายงานการศึกษาในปลากดอเมริกัน ปลาดุก และปลานิล แม้ว่าจะกรดอะมิโนบางชนิดในปริมาณต่ำ ได้แก่ เมธไทโอนีน และไลซีน แต่สามารถใช้ในสูตรอาหารได้ในปลาร่วมกับวัตถุดิบปลาป่นหรือวัตถุดิบอื่นที่มีกรดอะมิโนครบถ้วน เป็นต้น

2.3 เห็ดนางฟ้า

2.3.1 ลักษณะทางชีววิทยา

เห็ดนางฟ้า เป็นเห็ดชนิดเดียวกับเห็ดนางรม ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pleurotu ssajor-caju* (Fr.) Singers ชื่อสามัญว่า grey oyster mushroom หรือ Indian mushroom หรือ sajor-caju ลักษณะสัณฐานทั่วไปประกอบด้วย หมวกดอก (cap) ก้านดอก (stalk) ครีบดอก (gill) และเส้นใย (mycelium) ลักษณะหมวกดอกหนา เนื้อแน่น มีสีน้ำตาลอ่อน เว้าตรงกลาง ก้อนดอกสีขาวเป็นเนื้อเดียวกับหมวกดอก ขึ้นเป็นกลุ่ม 3 - 10 ดอก มีโคนเชื่อมกลุ่มเห็ด (Daniel, 2003)

2.3.2 ณค่าทางโภชนาการ

Hung และ Nhi (2012) รายงานองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของเห็ดสกุล *Pleurotus* spp. จากน้ำหนักแห้งของวัตถุดิบ ประกอบด้วยโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 8 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 6.1 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ Mattila และคณะ (2002) รายงานคุณค่าทางโภชนาการในวัตถุดิบสดให้พลังงาน 28 กิโลแคลอรี ไขมัน 0.35 กรัมต่อน้ำหนัก 100 กรัม โดยมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของสารอาหารได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 70, 90 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำให้มีการย่อยและดูดซึมเพื่อการใช้ประโยชน์จากคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดได้เป็นอย่างดี

(1.) โปรตีนและกรดอะมิโน

Mendez และคณะ (2005) รายงานชนิดของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่พบในเห็ดนางฟ้ามีปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ชนิดของกรดอะมิโนโนที่พบ ได้แก่ ไอโซลิวซีน (isoleucine) ลิวซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เมทไธโอนีน (methionine) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ทรีโอนีน (threonine) ทริปโตฟาน (tryptophan) วาลีน (valine) และมีกรดอะมิโนที่สำคัญได้แก่ โพรลีน (proline) แอสพาร์เทต (aspartate) กลูตาเมต (glutamate) เซรีน (Serine) ไกลซีน (glysine) อะลานีน (alanine) (Kavishree et al., 2008) เมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นพบว่าเห็ดนั้นสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนได้ดีกว่า (Mattila et al., 2002)

(2.) ไขมัน

Hung และ Nhi (2012) รายงานปริมาณไขมันในเห็ดนางฟ้าพบว่ามีประมาณ 2 – 5 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งในรูปของกรดไขมัน อิสระโมโนกลีเซอร์ไรด์(monoglycerides) ไดกลีเซอร์ไรด์ (diglycerides) และไตรกลีเซอร์ไรด์ (triglycerides) สเตอรอล (sterols) สเตอรอลเอสเทอร์ (sterol esters) ที่เป็นแหล่งของเออร์โกสเตอรอล (ergosterol) และฟอสโฟลิปิด (phospholipids) นอกจากนี้ในเห็ดนางฟ้ายังมีองค์ประกอบของกรดไขมัน ได้แก่ กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) (Mattila et al., 2002; Kavishree et al., 2008; Kakon et al., 2012)

(3.) คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตในเห็ดสะสมอยู่ที่ส่วนของลำต้น (fruiting body) ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (Bhattacharjya et al., 2015) มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตในรูปแบบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่พบในเห็ดมีทั้งกลูโคส (glucose) แมนนิทอล (mannitol) อัลฟา-ทรีฮาโลส (α-trehalose) และในรูปแบบพอลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ได้แก่ ไกลโคเจน (glycogen)

และไคติน (chitin) โดยไคตินนั้นพบในปริมาณ 80 – 90 เปอร์เซ็นต์ในน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ (Kalač, 2009) พอลีแซ็กคาร์ไรด์ในเห็ดนั้นยังเป็นแหล่งสำคัญของสารประกอบที่ป้องกันการติดเชื้อหลายชนิด (El Enshasy and Hatti-Kaul, 2013) และในเห็ด *Pleurotus* spp. นั้นยังมี เบต้า-กลูแคน มีการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมให้ผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Synytsya et al., 2009)

(4.) แร่ธาตุและวิตามิน

องค์ประกอบของแร่ธาตุในเห็ดสกุล *Pleurotus* spp. พบแร่ธาตุหลักที่สำคัญได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม (Mattila et al., 2002; Bhattacharjya et al., 2015) และมีแร่ธาตุรองที่สำคัญได้แก่ สังกะสีและทองแดง รวมถึงวิตามินบี2 วิตามินบี3 และไฟเลต (folate) (Cheung et al., 2003)

2.3.3 การใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ในเห็ด

ในเห็ดที่สามารถบริโภคได้นั้นมีสารประกอบที่สำคัญได้แก่ ฟีนอล เบต้า-กลูแคน (Carbonero et al., 2012; Silveira et al., 2014; Singdevsachan et al., 2016) ซึ่งมีคุณสมบัติในการลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Islam et al., 2016) และเออโกไธโอนีน (ergothioneine) ที่ยับยั้งการเกิดลิปิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) (Bao et al., 2009; Tong et al., 2009)

(1.) เบต้า-กลูแคน

เบต้า-กลูแคนเป็นโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) จับกันเป็นพอลีแซ็กคาร์ไรด์ เบต้า-กลูแคนที่พบในกลุ่มเชื้อราที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Silveira et al., 2014) ในเห็ดนางฟ้านั้นพบในรูปแบบโครงสร้าง (1⟶3) (1⟶6)-β-glucan ซึ่งสามารถทำงานจนถึงในระดับเซลล์และโมเลกุล (Singdevsachan et al., 2016) ออกฤทธิ์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ การตอบสนองของสารน้ำ รวมถึงส่งตัวกระตุ้นการจับกินสิ่งแปลกปลอมของกิจกรรมฟาโกไซโทซิสจากการสร้างเซลล์ฟาโกไซต์ (phagocytes) เพื่อกำจัดเซลล์ที่ตายแล้วและเชื้อโรคจากภายนอกและการผลิตไซโตไคน์ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและป้องกันการเกิดโรค (Chen and Seviour 2007; Carbonero et al., 2012; Singdevsachan et al., 2016)

(2.) เออโกไธโอนีน

เออโกไธโอนีนเป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอล (วันดี และคณะ, 2554) ที่ใช้สังเคราะห์กรดอะมิโน ได้แก่ ฮิสทีดีน มีชื่อทางเคมีว่า 2-mercaptohistidine trimethylbetaine (Weigand-Heller et al., 2012) เออโกไธโอนีนที่สกัดได้จากส่วนลำต้นมีปริมาณ 3.78 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้งในเห็ด *Pleurotus* spp. (Woldegiorgis et al., 2014) มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Weigand-Heller et al., 2012) Bao และคณะ (2009) รายงานว่าสารสกัดเห็ดที่มีเออไธโกนีนเสริมในอาหารสัตว์นั้นช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีและการเกิดลิปิดออกซิเดชันในเนื้อปลาได้

2.3.4 การใช้ประโยชน์จากเห็ดในอาหารสัตว์

คุณสมบัติของเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลทั้งต่อสุขภาพและปรับปรุงคุณภาพของเนื้อสัตว์ ทำให้มีการนำมาประยุกต์ใช้ทั้งในสัตว์บกและเสริมในสัตว์น้ำมากขึ้น เพื่อพัฒนาการเจริญเติบโต ลดการติดเชื้อก่อโรค ทั้งนี้การใส่เห็ดโดยตรงในอาหารสัตว์นั้นจะมีสารต้านโภชนาการ เช่น แทนนิน (tannin) ไฟติค (phytic) และ ไคติน (chitin) ดังนั้นในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเห็ดจึงทำการศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำเห็ดมาใช้ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การใช้สารสกัดจากเศษวัตถุดิบ (El Enshasy and Hatti-Kaul, 2013) ใช้สารสกัดจากเห็ดเป็นองค์ประกอบของอาหารสำหรับสัตว์บางชนิด เช่น พัฒนาการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (Giannenas et al., 2010; Daneshmand et al., 2011) รวมทั้งในสัตว์น้ำเช่นปลาเนื้ออ่อน (*Silurus asotus*) (Katya et al., 2014) ปลาเรนโบว์ เทร้าต์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Baba et al., 2015) กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) (Yang et al., 2014) ปลิงทะเล (*Apostichopus japonicus*) (Wang et al., 2013) จากการศึกษาในปลากะรังดอกแดง (*Epinepherus coidoides*) พบว่าเมื่อได้รับอาหารที่เสริมด้วยสารสกัดจากเห็ด จะสามารถต้านทานเชื้อโรค *Vibrio alginolyticus* ได้ (Chang et al., 2013)

Nguyen และคณะ (2012) ใช้วิธีการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC analysis) เพื่อศึกษาคุณภาพของเออโกไธโอนีนที่สกัดได้จากเศษวัตถุดิบเห็ดเพื่อเสริมในอาหารปลาหางเหลือง (*Caesio erythrogaster*) พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันและช่วยป้องกันการเกิดลิปิดออกซิเดชันและการเปลี่ยนสีในเนื้อในขั้นตอนการผลิตได้

Katya และคณะ (2014) รายงานผลของการใช้แบคทีเรียแลคโตบาซิลัสและยีสต์หมักร่วมกับเศษวัตถุดิบเห็ดในปลาเนื้ออ่อน พบว่าให้ผลดีต่อการเจริญเติบโต และสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme activity) และเซรั่มโปรตีน

Bilen และคณะ (2016) สกัดสารสำคัญจากเห็ดโดยการใช้เมทานอล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เสริมในอาหารปลาเรนโบว์เทร้า พบว่าให้ผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและสามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ได้

Ahmed และคณะ (2015) สกัดสารสำคัญจากเห็ดด้วยน้ำร้อน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เสริมในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าให้ผลดีต่อการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้

2.4 โปรตีนไฮโดรไลเซต

โปรตีนไฮโดรไลเซต คือ องค์ประกอบของเพปไทด์และกรดอะมิโนอิสระที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนบริเวณพันธะเพปไทด์ด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์โปรตีเอส (protease enzyme) (ฤทัยรัตน์, 2547) ปัจจุบันได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารสัตว์น้ำอย่างแพร่หลายเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากโปรตีนของวัตถุดิบทดแทนปลาป่น เช่น พืช เศษปลาจากโรงงานอุตสาหกรรม ทั้งยังสามารถเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นและรสของอาหารของสัตว์น้ำเนื่องจากกรดอะมิโนที่พบในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตสัมพันธ์กับการเกิดกลิ่น รสชาติ (Chotikachinda et al., 2013) ได้แก่ กรดกลูตามิก และกรดแอสพาติก โดยให้รสสัมผัสคล้ายเนื้อสัตว์จึงสามารถดึงดูดสัตว์น้ำได้ การผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลเซตที่ใช้วิธีการย่อยโดยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) ให้ผลดีกว่าการย่อยสลายด้วยสารเคมีได้แก่ กรดและเบส ที่ควบคุมการย่อยสลายได้ยากและคุณภาพไม่คงที่

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นจะใช้เอนไซม์โปรตีเอสย่อยโปรตีนในวัตถุดิบที่ต้องการทำให้เกิดสารเพปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ แบ่งออกเป็น เอนโดเพปติเดส (endopeptidase) และเอกโซเพปติเดส (exopeptidase) โดยการใช้เอนไซม์โปรตีเอสนั้นจะมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นทำให้ใช้ในปริมาณน้อยต่อปริมาณ แต่จำเป็นต้องเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์และสภาวะตามความเหมาะสม ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ความคงตัวในสภาวะอุณหภูมิสูง ในการย่อยสลายได้ (ฤทัยรัตน์, 2547) สภาวะที่ผลิตจะมีผลต่อคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตแตกต่างกันไป จากนั้นจึงพิจารณานำไปเข้าสู่ขั้นตอนการผลิตตามของผลิตภัณฑ์คุณสมบัติที่ต้องการ โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นไม่รุนแรงเมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยสลายด้วยสารเคมี ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ตรงตามความ

ต้องการนำไปใช้และมีคุณสมบัติที่ดี คือ มีการละลายน้ำที่ดีปริมาณโปรตีนสูง ไขมันต่ำ และมีคุณสมบัติการเป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ดี แต่มีข้อจำกัด ดังเช่น หากมีระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) ที่เป็นตัวชี้วัดได้ถึงอัตราการตัดพันธะเปปไทด์ โดยหากมีระดับการย่อยสายสูง จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสขม เอนไซม์ที่นำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นมีหลากหลายชนิดที่วางจำหน่ายทางการค้า (ตารางที่ 1) มีความแตกต่างทั้ง แหล่งที่มา สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต การนำมาใช้ประโยชน์จำเป็นต้องคำนึงถึงการนำไปประยุกต์ใช้ เช่น การนำมาผลิตเป็นอาหารสัตว์นั้นควรเป็นเอนไซม์ที่มีกลิ่นและรสที่กระตุ้นการกิน รวมไปถึงมีคุณค่าทางโภชนาการที่สัตว์สามารถย่อยและดูดซึมได้

Kristinsson และ Rasco (2000) รายงานขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยเอนไซม์โปรตีเอส ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก ได้แก่ (1) การเตรียมวัตถุดิบ หยุดการทำงานของเอนไซม์ในวัตถุดิบโดยใช้ความร้อน (Chotikachinda et al., 2013) (2) ย่อยสลายโปรตีน แบ่งเป็น การย่อยด้วยสารตั้งต้นและการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส (3) ขั้นตอนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส เพื่อควบคุมระดับการย่อยสลาย (4) การแยกส่วนของเหลวที่สกัดได้ กรองหรือปั่นเหวี่ยงแยกกรดอะมิโนอิสระและไขมันออก (5) ขั้นตอนการทำแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เพื่อการเก็บรักษา

Lotfy และคณะ (2015) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดโดยใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์ (flavourzyme) ที่เป็นเอนไซม์ชนิดไฮโดรเลส (hydrolase) ที่ต้องใช้น้ำเป็นตัวร่วมในการทำงาน วิธีการผลิตเริ่มจากชั่งเห็ดให้ได้น้ำหนักแห้ง 150 กรัม ผสมในน้ำ 825 กรัม ต้มในอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จึงนำมาตั้งให้อุณหภูมิลดเหลือ 50 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 7 โดยใส่โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จากนั้นจึงเติมเอนไซม์ 0.78 กรัม ย่อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสก่อนเก็บรักษาด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (มัลลิกา และคณะ, 2552) การวิเคราะห์คุณสมบัติของโปรตีนไฮโดรไลเซตเพื่อเลือกสภาวะที่ดีที่สุด ได้แก่ ร้อยละผลผลิต (เปอร์เซ็นต์ yield) ปริมาณเกลือ (เปอร์เซ็นต์ NaCl) ความเป็นกรด-ด่าง และร้อยละการย่อยสลาย

ตารางที่ 1 เอนไซม์ไฮโดรไลเซตทางการค้า

เอนไซม์	แหล่งที่มา	ประเภท	pH	อุณหภูมิ (°C)	ระดับกิจกรรม	ชื่อทางการค้า
Alcalase®	*Bacillus licheniformis*	Serine protease	6.5-8.5	50-70	2.4 AU^{-1}	Novozymes
Flavourzyme®	*Aspergillus oryzae*	Aminopeptidase	5.0-7.0	50-70	500 LAPU g^{-1}	Novozymes
Protamax™	*Bacillus subtilis*	Thiol-protease /metallopro-tease	5.5-7.5	35-60	1.5 AU^{-1}	Novozymes
Papain	Papaya stem (*Carica papaya*)	Thiol protease	5.0-9.0	40-80	100 TU mg^{-1}	Enzybel
Bromelain	Pine apple stem (*Ananas comosus*)	Thiol protease	5.0-8.0	20-65	100 TU mg^{-1}	Enzybel

1 AU คือ Anson unit ระบุการปลดปล่อยเอนไซม์ 1 มิลลิโมลประจุจากการเปลี่ยนแปลงสภาพโดยยูเรียของฮีโมโกลบินใน 1 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5

2LAPU คือ Leucineaminopeptidase unit ระบุการเกิดไฮโดรไลซิสของเอนไซม์1 ไมโครโมล จาก L-luecine-p-nitroanilideเป็น L-leucine และ p-nitroanilide

3TU คือ Tyrosine unit ระบุการปลดปล่อย 1 มิลลิกรัมของเอนไซม์ไทโรซีน (tyrosine) ใน 1 นาที จากตัวเร่งปฏิกิริยาจำเพาะเคซีน (casein)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ovissipour และคณะ (2013)

การศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นมีการนำมาใช้ในอาหารสัตว์ เนื่องจากมีกรดอะมิโนอิสระเช่น อะลานีน (alanine), ไกลซีน (glycine), ไอโซลิวซีน (isoleucine), ลิวซีน (leucine) และอาร์จีนีน (argenine) ที่ส่งผลต่อรสชาติและดึงดูดการกินอาหาร (Opheim et al., 2016) โปรตีนไฮโดรไลเซตผลิตจากปลาแซลมอนให้ผลดีต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของลำไส้โดยเพิ่มความยาวของวิลไลบริเวณลำไส้ตอนต้นในไก่กระทง นอกจากการใช้วัตถุดิบเศษเนื้อ ยังมีการใช้วัตถุดิบพืช (ณัฐวุฒิ, 2550) ไฮโดรไลเซตโปรตีนผลิตจากกากถั่วเขียวมีเอกลักษณ์กลิ่นรสคล้ายเนื้อสัตว์มีคุณสมบัติการนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่ง (Palupi and Windrati, 2010) การศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดฟางสามารถนำมาใช้ในการเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Nakajima et al., 2009) การศึกษาในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นสารเสริมในอาหารสามารถดึงดูดการกิน เพิ่มการเจริญเติบโตจากการใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Chotikachinda et al., 2013) และการศึกษาโปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารสัตว์น้ำพบว่าให้ผลดีต่อการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากโปรตีน ระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงดึงดูดการกินอาหารในสัตว์น้ำหลายชนิด ดังเช่น การศึกษาในปลาแซลมอนแอตแลนติก (*Salmo salar* L.) (Hevrøy et al., 2005) และปลาจวด (*Pseudosciaena crocea* R.) (Tang et al., 2008)

2.5 การตรวจสอบคุณภาพเนื้อ

เนื้อปลานั้นสามารถสูญเสียคุณภาพได้ง่าย การแช่แข็งหรือแช่เย็นนั้นทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อ จึงจำเป็นต้องมีการประเมินคุณภาพ การเปลี่ยนแปลงของเนื้อ เพื่อป้องกันการปลอมปนในการส่งออกและบริโภค (Guimarães et al., 2016) การตรวจสอบและวัดคุณภาพเนื้อปลาต่อการเปลี่ยนแปลงในเบื้องต้น ได้แก่ การตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง การเปลี่ยนแปลงของสี (Hakim and Jinsataporn, 2012) เนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่องมือ (texture analyzer) การสูญเสียน้ำหนัก (drip loss) การต้านทานการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน (thiobarbituric reactive substances,TBARs) และการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory test) (ชลกานต์, 2555; Qin et al., 2016) โดยคุณภาพเนื้อที่ดีนั้นจะมีค่าสีเป็นไปตามความต้องการของสายพันธุ์ เช่น ปลาสวายจะมีเนื้อสีขาว ส่วนเนื้อปลาแซลมอน (*Salmo salar*) จะมีสีส้มตามสายพันธุ์ จากสีตามที่กล่าวมาของเนื้อนั้นสามารถใช้พิจารณาคุณภาพเนื้อและความต้องการของผู้บริโภคเพื่อเพิ่มมูลค่าทางการตลาด นอกจากนั้นยังมีการทดสอบ TBARs เป็นการทดสอบการเกิดการออกซิเดชันของ

ไขมันที่สัมผัสกับออกซิเจน ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อปลา การเหม็นหืน นอกจากนั้นยังทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ

2.6 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลา

ระบบทางเดินอาหารนั้นจะผลิตเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในการย่อยสารอาหารที่ได้รับ ซึ่งเป็นส่วนการทำงานของร่างกายที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญเติบโตของปลา จากการย่อยอาหารก่อนดูดซึมและนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆในร่างกาย ทั้งนี้กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารของปลายังขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการกินอาหาร องค์ประกอบทางโภชนาการ คุณภาพของวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตอาหาร รวมถึงสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และความเป็นกรดด่าง (pH) (Tok et al., 2016) ทั้งนี้พฤติกรรมการกินอาหารยังมีผลต่อลักษณะอวัยวะ เช่น ในปลาสวายจัดเป็นปลาที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ จึงมีลักษณะกระเพาะเป็นรูปตัวเจ ลำไส้ตรงและยาวกว่ากลุ่มปลากินเนื้อ (carnivore) โดยอวัยวะในระบบทางเดินอาหารนั้นมีความสำคัญในการทำงานโดยเอนไซม์ย่อยอาหารที่ถูกปล่อยออกมา

โปรตีนนั้นมีบทบาทสำคัญในประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา ดังนั้นการศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease enzyme) จากอวัยวะในระบบทางเดินอาหารที่ผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยโปรตีน เช่น ตับ และลำไส้ นั้นสามารถบอกได้ถึงประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากโปรตีนของปลา โดยการลดระดับโปรตีนหรือใช้วัตถุดิบที่ปลาไม่สามารถย่อยได้ จะส่งผลให้ระดับกิจกรรมการทำงานเอนไซม์ย่อยโปรตีนลดลงเช่นกัน (Kumar et al., 2012) ส่วนเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยไขมัน ได้แก่ เอนไซม์ไลเปส ในหลายการศึกษากล่าวว่ากิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้จะขึ้นอยู่กับระดับและวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไขมันในอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะการกินอาหารตามธรรมชาติของปลา แต่การผลิตเอนไซม์สามารถเพิ่มขึ้นได้หากอาหารที่ได้รับมีปริมาณของแป้งสูง (starch) (Tok et al., 2016)

บทที่ 3

การทดลองที่ 1

ระดับที่เหมาะสมในการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

3.1 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ ที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชต่างระดับ

3.2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design: CRD) แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ โดยชุดการทดลองที่ 1-5 จะเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดแบบจมที่จัดเตรียมขึ้นเอง ชุดการทดลองที่ 1 เป็นอาหารสูตรที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก ชุดการทดลองที่ 2-5 ทำการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยวัตถุดิบจากพืชในสูตรอาหารที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในแต่ละซ้ำของการทดลองจะใช้ปลาสวายจำนวน 20 ตัว ระยะเวลาที่ทำการทดลอง 8 สัปดาห์

3.2.2 การเตรียมปลาทดลอง

นำปลาสวายลูกผสมน้ำหนักเฉลี่ย 2 กรัม/ตัว จากฟาร์มแสงฟ้าแหล่งพันธุ์ปลา อ.ควนลัง จ.สงขลา มาอนุบาลในบ่อคอนกรีตขนาด 3 ลูกบาศก์เมตร ความจุน้ำ 3000 ลิตร โดยใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ในระหว่างการปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสถานที่ทดลองจะให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 (สูตรที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก) วันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปลี่ยนถ่ายน้ำ 60

เปอร์เซ็นต์ ทุก 2 วัน ตรวจสอบสุขภาพเบื้องต้นและการยอมรับอาหาร เมื่อพบว่าปลาแข็งแรง ไม่มีโรคและปรสิตภายนอก จึงคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันสำหรับใช้ในการทดลอง

3.2.3 การเตรียมอุปกรณ์ทดลอง

เตรียมตู้กระจกความจุน้ำ 220 ลิตร (50 x 110 x 40 เซนติเมตร) สำหรับใช้ในการทดลอง ทำความสะอาดและติดตั้งระบบให้อากาศ จากนั้นเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ปริมาตร 100 ลิตร น้ำที่นำมาใช้ในการทดลองจะนำมาเติมคลอรีนและพักไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อฆ่าเชื้อโรค จากนั้นใช้โซเดียมไธโอซัลเฟตทิ้งไว้อีก 24 ชั่วโมงเพื่อจับโลหะหนักรวมถึงคลอรีนที่เติมลงไปก่อนหน้า ปิดตู้ที่ใช้ในการทดลองด้วยพลาสติกกันแมลงเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมตกลงไปในตู้ ตรวจคุณภาพภาพน้ำในทุกตู้ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่า pH และอุณหภูมิก่อนเริ่มการทดลอง

3.2.5 การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมวัตถุดิบที่จะนำมาใช้เป็นอาหารทดลองโดยการบดละเอียด และอบแห้ง จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีการของ AOAC (1995) ก่อนนำไปใช้ในการคำนวณเตรียมสูตรอาหารทดลองที่ มีความแตกต่างของวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนวัตถุดิบพืชหลายชนิด ได้แก่ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน, ถั่วลิสงป่น และโปรตีนกลูเตนจากข้าวสาลี ทั้งสิ้น 5 สูตรอาหารทดลอง ดังนี้

สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) อาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก

สูตรที่ 2 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 4 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 5 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารเม็ดแบบจมที่จัดเตรียมขึ้นเอง กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานที่ย่อยได้ประมาณ 3,400 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กิโลกรัมมีส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ตามในตารางทดลองที่ 2 มีขั้นตอนการเตรียมอาหารทดลอง เริ่มต้นคือนำวัตถุดิบที่จะใช้ไปบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) จากนั้นนำวัตถุดิบไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและสร้างสูตรอาหาร โดยกำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกัน นำวัตถุดิบแต่ละชนิดมาชั่งและแยกใส่ถุงไว้สำหรับอาหารทดลองแต่ละสูตร จากนั้น นำวัตถุดิบทั้งหมด (ยกเว้นน้ำมันและน้ำ) มาผสมให้เข้ากัน

ด้วยเครื่องผสมอาหารประมาณ 10 นาที จึงเติมน้ำมันปลาและน้ำมันถั่วเหลืองลงไป ผสมต่ออีกประมาณ 5 นาที จึงเติมน้ำกลั่นประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร สำหรับวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้ว นำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรโดยตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน จึงนำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยอาหารที่ผ่านการอบแล้วนำไปบรรจุในถุงพลาสติกเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในการทดลอง สุ่มอาหารทดลอง 100 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า) ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

ตารางที่ 2 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 1

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร				
	T1 สูตรควบคุม	T2 วัตถุดิบพืช 25 เปอร์เซ็นต์	T3 วัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์	T4 วัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์	T5 วัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์
ส่วนประกอบวัตถุดิบในอาหารต่อ 1 กิโลกรัม					
ปลาป่น	250.00	187.50	125.00	62.50	0.00
กากถั่วเหลือง	150.00	209.24	268.49	327.73	386.98
ถั่วลิสงป่น	0.00	32.50	65.00	97.50	130.00
แป้งสาลี	0.00	5.33	10.65	15.98	21.31
รำข้าว	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
หัวกุ้งป่น	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
แกลบ	174.50	144.33	114.16	83.99	53.82
แป้งมัน	200.00	190.00	180.00	170.00	160.00
น้ำมันปลา	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
น้ำมันปาล์ม	15.00	14.80	14.60	14.40	14.20
โคลีน คลอไรด์	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rovimix2030	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50

ตารางที่ 2 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 1 (ต่อ)

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร				
	T1 สูตรควบคุม	T2 วัตถุดิบพืช 25 เปอร์เซ็นต์	T3 วัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์	T4 วัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์	T5 วัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์
อินโนซิตอล	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	7.50	12.50	17.50	22.50	27.50
ซีเอ็มซี	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)					
โปรตีน	26.90	26.98	25.31	25.65	26.44
ไขมัน	6.77	6.81	7.16	6.76	7.81
พลังงาน (เมกะจูล/กิโลกรัม)	18.13	18.81	18.05	18.59	18.49
ความชื้น	5.69	6.80	5.65	6.34	6.67
เถ้า	9.57	9.14	9.11	9.10	9.16

วิตามินและแร่ธาตุรวม (Rovimix 2030) ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร: retinal (A) 8000 IU; cholecalciferol (D3) 1500 IU; tocopherol (E) 100 มก.; menadione sodium bisulfite (K3) 5 มก.; thiamine (B1) 10 มก.; riboflavin (B2) 15 มก.; pyridoxine (B6) 15 มก.; cobalamin (B12) 0.02 มก.; niacin 80 มก.; calcium pantothenate 40 มก.; ascorbic acid (C) 150 มก.; biotin 0.5 มก.; folic acid 4 มก.; Cu 5 มก.; Fe 30 มก.; Zn 40 มก.; Mn 25 มก.; Co 0.05 มก.; I 1 มก.; Se 0.25 มก.

3.2.6 การศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะที่แสดงออกของปลา

บันทึกข้อมูลในระหว่างการทดลองเพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทุกวัน โดยสังเกตพฤติกรรมของปลา เช่น การว่ายน้ำ การกินอาหาร และลักษณะผิดปกติภายนอกของปลาที่อาจเกิดขึ้น เช่น การเปลี่ยนแปลงของสีลำตัว การตกเลือด และการบวมบริเวณส่วนต่างๆ บันทึกข้อมูลที่ได้จากการสังเกตหากมีอาการผิดปกติ

การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักรวมของปลาและน้ำหนักอาหารที่ปลากินทุก 2 สัปดาห์ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารก่อนชั่งน้ำหนัก 1 มื้อ) เพื่อนำข้อมูลน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและน้ำหนักอาหารที่ปลากินไปคำนวณค่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ของทุกชุดการทดลอง พร้อมจดบันทึกตลอดจนจบการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตรารอดตาย (survival rate) จากสมการ

อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้นการทดลอง (ตัว)}} \times 100$$

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์ weight gain)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR เปอร์เซ็นต์/วัน) ‘

$$= \frac{(\ln\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(กรัม)} - \ln\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง(กรัม)})}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) คำนวณจากสมการ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

ปริมาณอาหารที่กิน (เปอร์เซ็นต์/ตัว/วัน)

$$= 100\times \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ปลากินต่อตัว (กรัม)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กรัม)}} \times \text{จำนวนวัน}$$

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 6 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้น และนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะเก็บตัวอย่างปลาจำนวน 3 ตัวต่อตู้ ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเพื่อหาความชื้นของตัวปลา ทำซ้ำจนกระทั่งได้ค่าความชื้นคงที่ แล้วจึงบดตัวปลาให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยในตัวปลาจะวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) และนำค่าโปรตีนของปลาก่อนและหลังการทดลองที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ตามวิธีการของ Hardy และ Barrows (2002)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER) คำนวณจากสมการประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}} \times 100$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) คำนวณจากสมการ

$$= \frac{\text{(เปอร์เซ็นต์ โปรตีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - เปอร์เซ็นต์ โปรตีนเมื่อเริ่มต้นการทดลอง)}}{} \times 100$$

น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)

3.2.7 การศึกษาองค์ประกอบเลือด

ศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบเลือดในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยแหล่งโปรตีนจากพืช เปรียบเทียบสูตรอาหารควบคุม เมื่อให้อาหารทดลองครบ 8 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างปลาจากตู้ ตู้ละ 3 ตัว รวมทั้งสิ้นเป็น 9 ตัวในแต่สูตรอาหารทดลอง นำมาสลบโดยน้ำมันกานพลู แล้วจึงเจาะเลือดบริเวณโคนหางด้วยเข็มขนาด 25Gx1 ใส่หลอดไมโครเซนตริฟิว (microcentrifuge tube) นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปวิเคราะห์ ส่วนเลือดที่เหลือในหลอดวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีเพื่อให้เกิดการตกตะกอน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใส (ซีรัม) ใส่หลอดไมโครเซนตริฟิว หลอดใหม่ เก็บที่ -70 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์

เม็ดเลือดแดง (red blood cell, RBC) **และเม็ดเลือดขาว** (white blood cell count, WBC)

วิเคราะห์โดยวิธีการดัดแปลงจาก ตามวิธีการของ กิจการ (2538) เมื่อเจาะเลือดแล้วดูดผสมกับสารละลายYokoyama เข้าไปใน RBC diluting pipette แล้วจึงนำไปใส่ในสไลด์นับเม็ดเลือด ทำการนับเม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เปอร์เซ็นต์ haematocrit, Hct)

วิเคราะห์โดยวิธีการดัดแปลงจาก Blaxhall และ Daisley (1973) นำเลือดที่ได้ใส่ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้หลอดคาปิลลารี (capillaries tube) 2 หลอดในแต่ละตัวอย่าง ปิดปลายหลอดด้วยดินน้ำมัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องฮีมาโตคริตเซนตริฟิวจ์ความเร็ว 10,000 - 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จึงนำมาคำนวณปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (มิลลิเมตร)}}{\text{ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมด (มิลลิเมตร)}} \times 100$$

ซีรัมโปรตีน (serum protein)

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Bradford (1976) ใช้ซีรัม 10 ไมโครลิตรละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 990 ไมโครลิตร จากนั้นดูด 25 ไมโครลิตรนำมาผสมกับสารละลาย Bradford ปริมาณ 325 ไมโครลิตร ในไมโครเพลทก้นแบน 96 หลุม นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ใช้ช่วงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน (protein standard curve) ที่ใช้ Bovine serum albumin เป็นสารละลายมาตรฐาน

กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme activity)

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Demers และ Bayne (1997) ใช้ซีรัม 25 ไมโครลิตร ร่วมกับ แบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* ปริมาณ 175 ไมโครลิตร (เตรียมโดยความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 5.8) ลงในไมโครเพลทก้นแบน 96 หลุม นำไปวัดแบบ Kinetic ในช่วง 30 วินาที เป็นเวลา 6 นาที ใช้ช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง microplate reader เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน ที่ใช้ Hen white egg lysozyme (Sigma) เป็นสารละลายมาตรฐาน

กิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase acitivity)

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Sahoo และคณะ (2005) โดยใส่ซีรัม 5 ไมโครลิตรเจือจางลงในสารละลายเกลือ Hank (Hank's buffer salt solution (HBSS)) ปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงในไมโครเพลทก้นแบน 96 หลุม ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติมสารก่อสี TMB 100 ไมโครลิตร หยุดปฏิกิริยาด้วย 2M กรดซัลฟูริค จึงนำไปวัดด้วยเครื่อง microplate reader ที่ช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ใช้ตัวอย่างปฏิกิริยาที่ไม่เติมซีรัมลงไปเป็น Blank ทำการคำนวณหน่วยของกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน แสดงถึงการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน 0.01หน่วยในเวลา 1 นาที

3.2.8 การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

เก็บตัวอย่างปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ ชุดการทดลองละ 9 ตัว จากแต่ละตู้ ตู้ละ 3 ตัว ที่ได้รับอาหารผลิตจากวัตถุดิบพืชเพื่อแทนที่ปลาป่นเปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุม ติดต่อกันเป็นเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ก่อนทำการเก็บตัวอย่าง อดอาหารเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง เพื่อให้ไม่มีอาหารตกค้างในทางเดินอาหาร จากนั้นนำมาสลบด้วยน้ำมันการพลู ผ่าตัดนำอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ กระเพาะ ตับ และ ลำไส้ บรรจุลงในหลอด cryogenic และแช่ลงในไนโตรเจนเหลวทันที นำไปสกัดและวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในขั้นตอนต่อไป

การสกัดเอนไซม์ (extraction enzyme)

การสกัดเอนไซม์ดัดแปลงตามวิธีการของ Thongprajukaew และ Kovitvadhi (2013) เริ่มจากนำอวัยวะตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักและบด (homogenize) ให้ละเอียด เติมสารบัฟเฟอร์ Tris-HCl ที่มีค่า pH 8 ลงไปในปริมาณ 4 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง จากนั้นนำไปปั่นในเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuged) ที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 15 นาที จนตัวอย่างที่ได้แยกชั้น ดูดเอาส่วนใส (supernatant) ระวังไม่ให้ติดไขมัน เก็บลงในหลอดไมโครเซนตริฟิว นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสก่อนเริ่มทำการวิเคราะห์ โปรตีนในตัวอย่างเอนไซม์ที่ได้ทำการวัดตามวิธีการของ Bradford (1976) ใช้ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 990 ไมโครลิตร จากนั้นดูด 25 ไมโครลิตรนำมาผสมกับสารละลาย Bradford ปริมาณ 325 ไมโครลิตร ในไมโครเพลทก้นแบน 96 หลุม นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ใช้ช่วงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน (protein standard curve) ที่ใช้ Bovine serum albumin เป็นสารละลายมาตรฐาน

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

การศึกษาเพื่อระบุถึงค่า pH และ อุณหภูมิ ที่จำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ ดัดแปลงตามวิธีการของ Thongprajukaew และ Kovitvadhi (2013) ทำการเปรียบเทียบที่อุณหภูมิที่ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และเปรียบเทียบความเป็นกรดด่างตั้งแต่ค่าpH 2-12 โดยปรับความเป็นกรดด่างด้วยบัฟเฟอร์ดังนี้ ค่า pH 2 ใช้ไกลซีน-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ (glycine-HCl buffer) ,ค่า pH 3-5 ใช้ซิเตรดบัฟเฟอร์ (citrate buffer),

ค่า pH 6-8 ใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ,ค่า pH 9-10 ใช้คาร์บอเนต-ไบคาร์เนตบัฟเฟอร์ (carbonate-bicarbonate buffer), ค่า pH 11 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Na_2HPO_4) และค่า pH 12-13 โพแทสเซียม-โซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามลำดับ จากนั้นวิเคราะห์แต่ละสภาวะตามวิธีการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารรายงานเป็นหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน เปรียบเทียบทางแต่ละระดับกิจกรรมเอนไซม์สูงตามชนิดเอนไซม์ pH และอุณหภูมิเพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร ได้แก่ ทริปซิน (trypsin), ไคโมทริปซิน (chymotrypsin), ไลเปส (lipase) และอะไมเลส (amylase) ทำการวิเคราะห์และรายงานในหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน มีรายละเอียดต่อไปนี้

ตารางที่ 3การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

เอนไซม์	สารตั้งต้น	อ้างอิง
Trypsin	Benzoyl-L-Arg-*p*-nitroanilide	Erlanger และคณะ (1961)
Chymotrypsin	Succinyl-Ala-Ala-Pro-phenylalanine-*p*-nitroanilid	Del Mar และคณะ (1979)
Lipase	*p*-Nitrophenylpalmitate	Winkler และ Stuckmann (1979)
α-amylase	Soluble starch	Bergmeyer และคณะ (1974)

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลค่าเฉลี่ยที่ได้จากการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบเลือด สภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร ทำการวิเคราะห์โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบจำแนกทางเดียว ANOVA (one way analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.4 ผลการทดลอง

3.4.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอด

ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชในแต่ละระดับเปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุมที่ใช้ปลาป่นในระดับปกติ มีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แสดงในตารางที่ 4 โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม), 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 25,50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อตัว และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาปลาป่นในระดับต่างๆ พบว่ามีผลการศึกษาไปในทิศทางเดียวกันคือ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับสูตรอาหารที่ 1 (สูตรควบคุม) ,2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 25, 50, 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์) น้อยกว่าปลาสูตรที่ได้รับสูตรอาหารอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

โดยปลาในทุกชุดการทดลองนั้นมีอัตราการการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

3.4.2 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ปริมาณการกินอาหารและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในโดยใช้อาหารวัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นในแต่ละระดับ ได้ผลการศึกษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 โดยปริมาณอาหารที่ปลากินในชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณการกินอาหารสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

อัตราการกินของปลา (ตารางที่ 5) เมื่อเปรียบกันพบว่าปลาในชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) มีอัตราการกินอาหารต่ำที่สุด แตกต่างกันจากอัตราการกินอาหารในปลาชุดการทดลองที่ 1(สูตรควบคุม), 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิพืช 50 เปอร์เซ็นต์) ($P<0.05$) แต่เมื่อพิจารณาจากปริมาณอาหารที่ปลากิน และอัตราการกิน

อาหารของปลาจะพบว่าปลาในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 นั้นสามารถบริโภคอาหารได้สูงกว่าในปลาชุดการทดลองที่ 5

3.4.3 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาเมื่อสิ้นสิ้นการทดลอง 8 สัปดาห์ จากข้อมูลในตารางที่ 5 พบว่าปลาที่มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุดคือปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 1, 2 และ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุพืช 0, 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) โดยมีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) สำหรับประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากอาหารของปลาชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกชุดการทดลอง

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิจากการทดลองพบว่ามีค่าสูงสุดในปลาชุดการทดลองที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 1(สูตรควบคุม), 2 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีค่ารองลงมา ($P<0.05$) สูงกว่าปลาในชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) ที่มีระดับการใช้ประโยชน์สุทธิจากโปรตีนต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เปรียบเทียบจากชุดการทดลองทั้งหมด เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิมีความสอดคล้องกันคือ ในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ มีการใช้โปรตีนดีกว่าปลาที่แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์ หรือปลาที่ไม่มีการแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การรอดตายของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)		อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 8			
T1	0 (สูตรควบคุม)	3.00±0.00[a]	11.80±1.38[b]	2.44±0.21[b]	131.20±15.30[b]	100±0.00[a]
T2	25	3.00±0.00[a]	12.27±1.98[b]	2.50±0.28[b]	136.21±21.91[b]	98.75±0.00[a]
T3	50	3.00±0.00[a]	12.58±2.05[b]	2.63±0.30[b]	146.43±25.15[b]	100±0.00[a]
T4	75	3.00±0.00[a]	11.88±1.82[b]	2.46±0.03[b]	131.98±2.13[b]	96.67±5.77[a]
T5	100	3.00±0.00[a]	8.09±0.50[a]	1.77±0.11[a]	94.54±9.58[a]	98.33±2.89[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

ตารางที่ 5 ปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณอาหารที่ปลากิน (กรัมต่อตัว)	อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (เปอร์เซ็นต์)
T1	0 (สูตรควบคุม)	11.39±1.31[ab]	3.60±0.14[b]	1.28±0.02[ab]	2.91±0.06[b]	45.07±1.43[b]
T2	25	10.96±1.80[b]	3.42±0.18[b]	1.20±0.04[ab]	3.09±0.10[b]	41.90±2.60[b]
T3	50	11.82±2.42[ab]	3.67±0.14[b]	1.12±0.13[a]	2.88±0.28[b]	53.76±0.20[c]
T4	75	10.86±2.40[ab]	3.65±0.17[b]	1.38±0.08[bc]	2.75±0.09[ab]	43.70±1.53[b]
T5	100	8.29±1.32[a]	2.76±0.14[a]	1.50±0.02[c]	2.35±0.31[a]	35.06±4.23[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

3.4.4 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา

ตัวอย่างปลาที่นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีนั้นเป็นตัวอย่างปลาก่อนการเริ่มต้นการทดลองและปลาที่ภายหลังการทดลอง 8 สัปดาห์ที่ได้รับอาหารแทนทีปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชในระดับต่างๆ แสดงองค์ประกอบทางเคมีของปลาเริ่มต้นการทดลองที่มีความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ในตารางที่ 6 ตามลำดับ สำหรับค่าการวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลองนั้นมีค่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ค่าองค์ประกอบไขมันในตัวปลา (ตารางที่ 6) พบว่าปลาในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์) นั้นมีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมา ($P<0.05$) ด้วยองค์ประกอบไขมันในปลาชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์) และในชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) มีค่าไม่แตกต่าง ($P>0.05$) จากชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) สำหรับค่าการวิเคราะห์ในชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำที่สุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ค่าองค์ประกอบเถ้า (ตารางที่ 6) มีความแตกต่างจากค่าองค์ประกอบของไขมัน โดยปลาในชุดการทดลองที่ 3 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีค่าสูงสุด ($P<0.05$) แตกต่างจาก ปลาในชุดการทดลองที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25 เปอร์เซ็นต์) และชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) และ 4 (แทนที่ด้วยว้ตถุดิบพืช 0 และ 75 เปอร์เซ็นต์) มีค่าไม่แตกต่าง ($P>0.05$) จากทุกชุดการทดลอง

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (เปอร์เซ็นต์) ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	เถ้า (เปอร์เซ็นต์)
ปลาก่อนการทดลอง	-	78.20±1.66	58.36±1.52	18.60±1.08	15.40±0.75
T1	0 (สูตรควบคุม)	73.52±0.30[a]	53.46±1.30[ab]	30.83±0.37[bc]	12.26±0.30[ab]
T2	25	77.30±4.79[a]	53.58±2.82[ab]	32.67±1.24[c]	11.47±0.69[a]
T3	50	72.45±3.12[a]	56.80±2.75[b]	32.13±2.31[c]	12.92±0.62[b]
T4	75	72.84±1.66[a]	53.33±3.74[ab]	27.95±0.44[b]	12.41±0.98[ab]
T5	100	73.78±0.46[a]	51.47±0.38[a]	22.29±1.16[a]	13.38±0.30[b]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

3.4.5 องค์ประกอบเลือด

ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์มีค่าองค์ประกอบเลือดดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดแดงและค่าฮีมาโตคริตของปลาในแต่ละชุดการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับปริมาณเม็ดเลือดขาวในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีปริมาณสูงสุดต่างจากชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบ พืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) ทางสถิติจากทุกชุดการทดลอง

การวิเคราะห์ซีรัมโปรตีนจากเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์พบว่า (ตารางที่ 7) ค่าไลโซไซม์ในปลาพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($P>0.05$) และค่าการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จากค่าในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) ที่มีค่าสุดสุดในทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) แต่ค่าในชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับในทุกชุดการทดลอง

โดยเมื่อพิจารณาจากค่าการวิเคราะห์เลือดและซีรัมโปรตีนในเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์พบว่ามีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันคือ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) นั้นมีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวและกิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่น

ตารางที่ 7 องค์ประกอบเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณเม็ดเลือดแดง (10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณเม็ดเลือดขาว (10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	ไลโซไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	3.18±0.34[a]	2.23±0.39[b]	46.60±1.99[a]	216.97±33.06[a]	0.595±0.10[b]
T2	25	3.14±0.57[a]	2.31±0.27[b]	45.84±1.65[a]	209.60±10.71[a]	0.501±0.002[ab]
T3	50	2.52±0.46[a]	1.68±0.31[ab]	44.62±2.81[a]	215.20±23.98[a]	0.486±0.07[ab]
T4	75	2.94±0.31[a]	2.05±0.25[ab]	44.16±1.99[a]	221.54±15.14[a]	0.493±0.10[ab]
T5	100	2.87±0.70[a]	1.43±0.23[a]	44.78±1.64[a]	177.26±21.76[a]	0.421±0.02[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

3.4.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

ในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารแต่ละชนิดทำการวิเคราะห์ในแต่ละอวัยวะ ได้แก่ กระเพาะ ตับ และลำไส และชนิดของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไลเปส และอะไมเลส พบว่าระดับจำเพาะที่ใช้ในการวิเคราะห์ (ตารางที่ 9) ดังนี้ เอนไซม์ทริปซินในกระเพาะ ตับ และสำไส้ ใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเท่ากัน ค่า pH 10, 8 และ 9 ตามลำดับ เอนไซม์ไคโมทริปซินในกระเพาะ ตับ และสำไส้ ใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเท่ากัน ค่าpH 7, 7 และ 8 ตามลำดับ เอนไซม์อะไมเลสในกระเพาะ ตับ และลำไส้ ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเท่ากัน ค่า pH 7, 7 และ 8 ตามลำดับ และเอนไซม์อะไมเลส ใช้อุณหภูมิ 30, 40 และ 40 องศาสเซลเซียสเท่ากัน ตามลำดับ ค่า pH 7 เท่ากัน

ตารางที่ 8 สภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

อวัยวะตัวอย่าง	เอนไซม์ทริปซิน		เอนไซม์ไคโมทริปซิน		เอนไซม์ไลเปส		เอนไซม์อะไมเลส	
	อุณหภูมิ (°c)	pH	อุณหภูมิ (°c)	pH	อุณหภูมิ (°c)	pH	อุณหภูมิ (°c)	pH
กระเพาะ	40	10	40	7	50	7	30	7
ตับ	40	8	40	7	50	7	40	7
ลำไส้	40	9	40	8	50	8	40	7

[1]อุณหภูมิศึกษาเปรียบเทียบที่ 20, 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

[2]ค่า pH ศึกษาเปรียบเทียบที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12

3.4.7 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารภายในระบบทางเดินอาหาร

เมื่อสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 8 สัปดาห์ในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช พบว่าการแทนที่วัตถุดิบพืชในอาหารปลาระดับที่แตกต่างต่างกันนั้นส่งผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารที่วิเคราะห์ได้จากอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ผลของการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารจากกระเพาะอาหาร ดังที่แสดงในตารางที่ 10 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีระดับกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) จากทุกชุดการทดลอง ระดับของกิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซิน (ตารางที่ 10) นั้นมีค่าสูงสุดไปในทิศทางเดียวกัน โดยในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีระดับกิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซินสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) จากทุกชุดการทดลอง สำหรับกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในกระเพาะอาหารนั้นมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนั้นชุดการทดลองที่ 1, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) และกิจกรรมอะไมเลสในกระเพาะอาหารพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) มีค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในกระเพาะอาหารต่ำกว่าปลาที่ได้รับสูตรอาหารอื่นทุกสูตรอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ค่ากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะอาหารมีแนวโน้มเช่นเดียวกันทั้งในค่ากิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไลเปส และอะไมเลส ที่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัถตุดิบพืชที่ระดับต่างๆ

ค่าการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับ แสดงในตารางที่ 11 พบว่าค่าเอนไซม์ทริปซินในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1(สูตรควบคุม) และ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 25 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) จากชุดการทดลองที่ 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) สำหรับค่าการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซิน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงกว่า ($P<0.05$) ชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) แต่ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) จากชุดการทดลองที่ 2 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์) และ

กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สำหรับค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสนั้นปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 มีค่าสูงแตกต่างปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองอื่นของชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม), 2 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 25 และ 75 เปอร์เซ็นต์)

ลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามีกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารดังแสดงในตารางที่ 12 ที่พบว่ามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ทริปซินสูงสุดในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุพืช 0 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แตกต่างจากชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยชุดการทดลองที่ 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองอื่น ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซินในลำไส้ของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สำหรับค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์อะไมเลสในลำไส้ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์มีค่าสูงสุดต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ในชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในจากอวัยวะในทางเดินอาหารของปลาสวายปรังปรุงสายพันธุ์พบแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไลเปส และอะไมเลสของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) นั้นมีระดับต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น นอกจากนั้นในการวิเคราะห์พบว่าสามารถวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ในกระเพาะอาหารมากกว่าอวัยวะอื่น เอนไซม์ไคโมทริปซินนั้นสามารถวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันในกระเพาะอาหารและตับ ส่วนเอนไซม์อะไมเลสนั้นวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันในกระเพาะอาหารและตับเช่นดียวกัน และเอนไซม์ไลเปสนั้นพบได้มากจากการวิเคราะห์ในลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ตารางที่ 9 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	48.51±19.59^{ab}	2.82±0.63^{ab}	31.73±7.53^{bc}	150.53±32.02^{b}
T2	25	91.78±66.68^{b}	4.81±1.22^{b}	39.45±18.84^{c}	130.38±29.28^{b}
T3	50	98.43±38.11^{b}	4.74±0.67^{b}	24.98±8.11^{ab}	154.97±47.52^{b}
T4	75	94.20±24.56^{b}	2.99±0.61^{ab}	23.83±3.32^{ab}	120.97±21.66^{b}
T5	100	20.94±13.21^{a}	2.57±0.13^{a}	17.59±9.57^{a}	87.04±26.83^{a}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

ตารางที่ 10 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	30.35±13.86[b]	2.78±0.42[a]	290.64±38.57[a]	109.31±51.20[ab]
T2	25	31.49±9.26[b]	4.35±1.30[ab]	262.64±88.67[a]	134.21±35.90[ab]
T3	50	40.06±9.67[ab]	5.06±2.12[b]	209.48±88.06[a]	207.64±62.55[b]
T4	75	27.66±6.67[ab]	5.06±1.57[b]	270.18±37.08[a]	108.79±62.55[ab]
T5	100	5.49±1.38[a]	4.57±1.35[ab]	260.17±49.26[a]	61.89±73.43[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

ตารางที่ 11 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	53.18±20.73[b]	1.75±0.77[a]	745.57±152.01[b]	109.71±23.58[b]
T2	25	45.48±16.19[b]	2.24±0.21[a]	483.80±166.14[a]	64.52±21.12[a]
T3	50	42.74±20.88[ab]	2.06±1.34[a]	468.80±31.66[a]	70.71±15.05[a]
T4	75	40.20±9.29[ab]	2.28±1.10[a]	494.10±135.16[a]	44.19±9.50[a]
T5	100	11.16±6.88[a]	1.91±1.39[a]	503.20±124.2[a]	49.18±20.87[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.005)

3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์โดยอาหารสูตรควบคุม(แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) (ชุดการทดลองที่ 1) และปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ) ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ปลามีน้ำหนักเริ่มต้นที่ 3.00 กรัม พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารสูตร 5 เป็นอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น การใช้ประโยชน์จากโปรตีนต่ำกว่า และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรอื่น สอดคล้องตามการศึกษาของ Phumee และคณะ (2011) ที่พบว่าสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลาสวายได้ 45เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต แต่เมื่อระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชมีสัดส่วนที่สูงขึ้นจะส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง เช่นเดียวกับในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าในระดับการแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ในรายงานของ Ali และคณะ (2013) แสดงข้อมูลการทดลองเลี้ยงปลาสวายในบ่อดินของเกษตรกรประเทศบังคลาเทศได้ค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 2.07 และ 1.70 จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่ผลิตขึ้นเองและอาหารที่ผลิตทางการค้า ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงประสิทธิภาพของอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชในการใช้เลี้ยงปลาสวายที่มีแนวโน้มดีกว่าสูตรอาหารที่ผลิตเองของเกษตรกรและใกล้เคียงกับสูตรอาหารทางการค้าทั่วไป สำหรับประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของการศึกษาในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในการทดลองนี้มีความใกล้เคียงกับการศึกษาในปลาสวายชนิดที่ใช้ทางการค้าของ Da และคณะ (2015) ที่มีค่าอยู่ในช่วง 2.35-2.96 โดยอัตราการแลกเปลี่ยนเนื้อที่ดีขึ้นอาจขึ้นอยู่กับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เกี่ยวข้องเป็นปัจจัยร่วม ทั้งนี้ระดับของการใช้วัตถุดิบพืชนั้นยังขึ้นอยู่กับคุณภาพและปริมาณที่ใช้ รวมถึงชนิดของปลาเช่นกัน (Ali et al.,2013) และในรายงานของ Da (2015) ยังแสดงถึงศักยภาพถึงการใช้วัตถุดิบทดแทนปลาป่น เช่น กากถั่วเหลือง ใบมันสำปะหลัง หัวกุ้งป่น ในอาหารปลาสวาย ที่สามารถใช้วัตถุดิบทดแทนปลาป่นในอาหารปลาสวายได้โดยไม่ส่งผลต่อผลการอัตราการเจริญเติบโตนั้นต้องขึ้นอยู่กับปริมาณในสูตรอาหารและคุณค่าทางโภชนาการเฉพาะของวัตถุดิบ เนื่องจากการแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชที่ปริมาณในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้มีสารต้านโภชนาการ เช่น ไฟเตท (phytate) สูงขึ้น นอกจากนั้นวัตถุดิบพืชยังการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิดที่ปลาและลดความดึงดูดการกินอาหารของปลา

การที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนต่ำหรือโปรตีนจากพืชนั้นอาจส่งผลต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน ในการศึกษานี้พบว่าในชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) นั้นมีปริมาณเม็ดเลือดขาวและกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสในซีรัมต่ำกว่าในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) การศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันระหว่างปลาที่ได้รับสูตรอาหารควบคุมและปลาที่ได้รับสูตรอาหารที่แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชในระดับต่างกัน พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณฮีมาโตคริตของปลาในชุดการทดลองที่ 5 ไม่แตกต่างจากปลาในชุดการทดลองอื่น โดยความแตกต่างองค์ประกอบเลือดเนื่องจากผลของโภชนาการในอาหารที่ได้รับต่อระบบภูมิคุ้มกันที่มีแต่กำเนิด (innate immune system) ลดน้อยลงกว่าปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเพียงบางส่วน ส่งผลต่อความสามารถในการต้านทานโรค สำหรับปริมาณเม็ดเลือดขาว เอนไซม์ไลโซไซม์ และกิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสที่จะถูกกระตุ้นให้เพิ่มปริมาณเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอม เป็นองค์ประกอบเลือดที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน จากการวัดกิจกรรมของไลโซไซม์ซึ่งเป็นเอนไซม์ต้านเชื้อจุลชีพที่มีความจำเพาะตรงตำแหน่งพันธะ β-(1,4)-glycosidic bonds ที่เชื่อมระหว่างพอลิเมอร์ (polymer) ของน้ำตาล N-acetylmuramic acid และ N-acetylglucosamine ในชั้นเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ของผนังเซลล์แบคทีเรีย (Yano, 1995) และเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม peroxidase ที่ผลิตโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) ทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง hypochlorous acid (HClO) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) และ chloride anion (Cl-) ในกระบวนการ respiratory burst สำหรับกำจัดสิ่งแปลกปลอม (Castro et al., 2008) และมีผลการศึกษาจากการศึกษาของ ชลกานต์ (2555) ที่พบว่าอาหารทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชบางส่วนนั้นไม่ส่งผลต่อเสียองค์ประกอบทางเคมีของเลือดและระบบภูมิคุ้มกันในปลาสวาย ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน เป็นการตรวจสอบความผิดปกติในของปลาที่เกิดได้การได้รับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการไม่เพียงพอต่อความต้องการส่งผลให้เกิดความผิดปกติตามดัชนีชี้วัดข้างต้น ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องจากสาเหตุต่างๆ เช่น สภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำ และการได้รับเชื้อโรค เป็นต้น (Chen et al., 2004)

การนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์เกี่ยวข้องโดยตรงกับกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับบริเวณที่เกิดการย่อยและปริมาณสารอาหารที่ได้รับ (Santigosa et al., 2008; Li et al., 2014) จากการศึกษาครั้งนี้ในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เปรียบเทียบจากชุดการทดลองสูตรควบคุม (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) และสูตรอาหารที่แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเพิ่มขึ้นจาก 25-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารแทนที่สูตรอาหารด้วย

ปลาป่นบางส่วนนั้นมีระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) (ชุดการทดลองที่ 1) และอาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักทั้งหมด (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์) (ชุดการทดลองที่ 5) โดยเนื่องจากปลาสวายที่ใช้นั้นเป็นปลาที่บริโภคทั้งพืชและสัตว์เป็นอาหาร จึงสามารถใช้ประโยชน์จากการร่วมกันของทั้งโปรตีนจากพืชและสัตว์ได้ ในการศึกษาวิเคราะห์ระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารได้แก่ เอนไซม์ทริปซิน เอนซ์ไลเปส และเอนไซม์อะไมเลส นั้นจะพบในระดับความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับบริเวณของอวัยวะและอาหารที่ได้รับ (Santigosa et al., 2008) ผลในการวิเคราะห์พบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้ในกระเพาะอาหารมากกว่าอวัยวะอื่น เอนไซม์ไคโมทริปซินนั้นสามารถวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันในกระเพาะและตับ ส่วนเอนไซม์อะไมเลสนั้นวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันในกระเพาะและตับเช่นดียวกัน และเอนไซม์ไลเปสนั้นพบมากได้มากจากการวิเคราะห์ในลำไส้ สอดคล้องจากการวิเคราะห์ของ Li และคณะ (2014) ที่พบว่าสามารถวิเคราะห์กลุ่มเอนไซม์ที่ใช้ย่อยโปรตีน (protrolytic enzyme) ได้มากในบริเวณ กระเพาะอาหาร และเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตวิเคราะห์ได้จากกตับและลำไส้ ในการศึกษาครั้งนี้ยังสามารถแสดงความสัมพันธ์ของระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในชุดการทดลองที่ 3 และ 4 นั้นมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนได้แก่ เอนไซม์ทริปซินในกระเพาะและไคโมทริปซินในตับ สูงกว่าในชุดการทดลองอื่น ($P>0.05$) สอดคล้องกับผลการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในการทดลองครั้งนี้ที่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชระดับ 0, 25, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิได้ดีกว่าชุดการทดลองแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนนั้นมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตของปลาโดยตรง การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ในทางเดินอาหารนั้นทำให้สามารถนำมาพิจารณาการใช้ประโยชน์จากอาหารของปลาได้ (Srichanun et al., 2012) โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนขึ้นอยู่กับอาหารที่ได้รับ การลดระดับโปรตีนในอาหารก็จะทำให้เอนไซม์ลดลง (Tok et al., 2016) ดังที่เห็นได้จากแนวโน้มในทิศทางเดียวกันของระดับกิจกรรมเอนไซม์และการใช้ประโยชน์สุทธิของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองในการศึกษาครั้งนี้ สำหรับเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตที่พบว่ามีของระดับกิจกรรมเอนไซม์ในปลาที่ได้รับสูตรอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม สอดคล้องกับการศึกษาของ Santigosa และคณะ (2008) ที่พบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ทริปซินและเอนไซม์อะไมเลสในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยโปรตีนจากพืชที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ในปลาที่ได้รับอาหารโปรตีนจากพืชสูงส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์ในระบบการย่อยอาหาร นอกจากนั้นความเกี่ยวข้องกันระหว่างการเจริญเติบโตของปลาและระดับ

กิจกรรมย่อยอาหาร ระดับกิจกรรมเอนไซม์ที่ลดต่ำลงยังแสดงถึงสัมประสิทธิการย่อยที่ลดลง ด้วยสาเหตุของการที่ไฟเบอร์ในพืชขัดขวางการดูดซึมสารอาหารอื่น และจากปลาไม่สามารถย่อยเซลลูโลส (cellulose) ที่ผนังเซลล์ของพืชได้ ระดับเอนไซม์ในปลานั้นสามารถนำไปพิจารณาได้ถึงการเจริญเติบโต จากการศึกษาของ Li และคณะ (2014) แสดงความสอดคล้องระหว่างระดับการแทนที่ที่สูงขึ้นของวัตถุดิบพืชนั้นสัมพันธ์กับการลดลงของการเจริญเติบโต และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในทางเดินอาหารของปลา และเช่นเดียวกับการศึกษาของ Cheng และคณะ (2010) ในปลากะพงญี่ปุ่น (*Lateolabrax japonicus*) ซึ่งเป็นปลากินเนื้อ (carnivare) ที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยกากคาโนลา (canola meal) แสดงให้เห็นถึงผลการเจริญเติบโตที่ลดลงตามระดับของกากคาโนลาที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร โดยกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและอะไมเลสที่วิเคราะห์จากตับและลำไส้ของปลากะพงญี่ปุ่นที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยกากคาโนลาที่ระดับ 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ จะลดต่ำลงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการแทนที่วัตถุดิบพืชในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในครั้งนี้ จะพบว่าระดับกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสและอะไมเลสมีความแตกต่างกัน ในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถใช้แทนที่วัตถุพืชในระดับสูงกว่าโดยไม่ส่งผลต่อเอนไซม์ไลเปสและอะไมเลสที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตเพื่อเป็นพลังงานให้แก่ปลา สอดลค้องกับ Tok และคณะ (2016) พี่พบว่าปลาสวายนั้นสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยอาหาร ได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส ได้ดีสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนที่ลดประมาณปลาป่นเหลือเพียง 35-25 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารควบคุม

3.6 **สรุปผลการศึกษา**

จากการทดลองใช้อาหารวัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์หลังจากได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการแทนที่ปลาป่นด้วยวัถตุดิบพืชที่ระดับ 25-75 เปอ์เซ็นต์ในอาหารนั้นไม่มีความแตกต่างกับอาหารที่ใช้วัตถุดิบปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักในปลาที่ทำการศึกษา แต่ในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ นั้นการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิได้ดีที่สุด โดยในปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ นั้นมีผลต่อการลดลงของการเจริญเติบโต ทำให้มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนในอาหารลดลง ส่งผลเกี่ยวข้องกับปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินในระบบทางเดินอาหารของปลาที่ได้รับอาหารทดลองชุดที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 100

เปอร์เซ็นต์) ดังนั้นจากผลการทดลองจึงเห็นได้ว่าปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์นั้นสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ได้สูงสุด

บทที่ 4

การทดลองที่ 2

การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารสำหรับปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นหลัก

4.1 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงผลการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพของเนื้อปลาภายหลังสิ้นสุดการทดลอง

4.2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

4.2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ โดยชุดการทดลองที่ 1-5 จะเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดแบบจมที่จัดเตรียมขึ้นเอง โดยนำผลจากการทดลองที่ 1 ในระดับที่ดีที่สุดและดีรองลงมา ได้แก่ อาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นอาหารทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 เป็นอาหารสูตรที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 เป็นอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ 4 และ 5 เป็นอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในแต่ละซ้ำของการทดลองจะใช้ปลาสวายจำนวน 20 ตัว ระยะเวลาที่ทำการทดลอง 8 สัปดาห์

4.2.2 การเตรียมปลาทดลอง

นำปลาสวายลูกผสมน้ำหนักเฉลี่ย 4 กรัม/ตัว จากฟาร์มแสงฟ้าแหล่งพันธุ์ปลา อ.ควนลัง จ.สงขลา มาอนุบาลในบ่อคอนกรีตขนาด 3 ลูกบาศก์เมตร ความจุน้ำ 3000 ลิตร โดยใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ในระหว่างการปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสถานที่ทดลองจะให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 (สูตรที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก) วันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เปลี่ยนถ่ายน้ำ 60 เปอร์เซ็นต์ ทุก 2 วัน ตรวจสอบสุขภาพเบื้องต้นและการยอมรับอาหาร เมื่อพบว่าปลาแข็งแรง ไม่มีโรคและปรสิตภายนอก จึงคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันสำหรับใช้ในการทดลอง

4.2.3 การเตรียมอุปกรณ์ทดลอง

เตรียมตู้กระจกความจุน้ำ 220 ลิตร (50 x 110 x 40 เซนติเมตร) สำหรับใช้ในการทดลอง ทำความสะอาดและติดตั้งระบบให้อากาศ จากนั้นเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ปริมาตร 100 ลิตร น้ำที่นำมาใช้ในการทดลองจะนำมาเติมคลอรีนความเข้มข้น และพักไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อฆ่าเชื้อโรค จากนั้นใช้โซเดียมไธโอซัลเฟตทิ้งไว้อีก 24 ชั่วโมงเพื่อจับโลหะหนักรวมถึงคลอรีนที่เติมลงไปก่อนหน้า ปิดตู้ที่ใช้ในการทดลองด้วยพลาสติกกันแมลงเพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมตกลงไปในตู้ ตรวจคุณภาพภาพน้ำในทุกตู้ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่า pH และอุณหภูมิก่อนเริ่มการทดลอง

4.2.4 การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้า (MPH)

ศึกษาผลของการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้า ในสูตรอาหารสำหรับปลาสวายลูกผสม ในขั้นแรกทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าโดยกำหนดปัจจัยควบคุมในกระบวนการผลิต ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ย่อยตัวอย่าง (เอนไซม์ทางการค้า Flavourzyme® ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์), ระยะเวลาในการย่อย (1, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง), ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH 5, 6 และ 7), และอุณหภูมิ (50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส)การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้ามีขั้นตอนดังนี้ เริ่มต้นโดยนำโคนเห็ดนางฟ้าไปล้างทำความสะอาด อบด้วยเครื่องอบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเพื่อลดความชื้นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง บดตัวอย่างให้ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) บรรจุตัวอย่างใส่ถุงพลาสติก เก็บที่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้งาน แล้วจึงชั่งตัวอย่าง

แห้ง 10 กรัม ใส่ลงให้ขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 5-7 เติมเอนไซม์ฟลาโวไซม์ปริมาณ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัวอย่าง ใส่ลงในขวด นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ที่เวลา 1, 3, 6, 9, 12, และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด หยุดปฏิกิริยาด้วยความร้อน 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรอง และนำส่วนใสที่ได้ไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นนำไปวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้เกณฑ์ในการพิจารณา คือ ระดับร้อยละการย่อยสลาย (degree of hydrolysis, % DH) ด้วยการวัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่ทำปฏิกิริยากับ trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) นำค่าที่ได้เปรียบเทียบคุณสมบัติในแต่ละสภาวะที่โปรตีนไฮโดรไลเซตเศษเหลือเห็ดนางฟ้าโดยวิธีการทางสถิติ จากนั้นเลือกสภาวะที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดนำไปผลิตเพื่อใช้ในอาหารทดลอง และทำการวิเคราะห์ค่าการละลายของโปรตีนในน้ำ (protein soluble) และองค์ประกอบทางเคมีก่อนสร้างสูตรอาหาร

4.2.5 การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย

วิเคราะห์โดยวิธีการดัดแปลงจาก Adler-Nissen (1979) ด้วยการละลายตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซต 0.1 มิลลิกรัมใน สารsodium dodecyl sulfate (SDS) 1 เปอร์เซ็นต์ จนเป็นของเหลว นั้นนำตัวอย่างของเหลวที่ได้ปริมาณ 25 ไมโครลิตรมาเจือจางในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ปริมาณ 175 ไมโครลิตร โดยใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อสารละลายเท่ากับ 1:8 แล้วจึงนำไปผสมด้วยเครื่องเวอร์เท็กซ์ (vortex) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที เติม 0.1 เปอร์เซ็นต์ TNBS ก่อนบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำออกมาเติมกรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 1 นอร์มอล (1N HCl) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร คำนวณระดับการย่อยสลายตามสูตร นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของลูซีน

$$DH = [(L_t-L_0)/(L_{max}-L_0)] \times 100$$

โดยที่ L_t = ตัวอย่างที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยาที่ย่อยด้วยเอนไซม์ 1 ชั่วโมง

L_0 = ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วยเอนไซม์

L_{max}= ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วย 6 M HCl 24 ชั่วโมง

4.2.6 การเตรียมอาหารทดลอง

หลังจากสิ้นสุดการทดลองที่ 1 เลือกสูตรอาหารที่ดีที่สุดและสูตรที่ดีรองลงมาเพื่อนำมาปรับปรุงเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารและศึกษาการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร สุขภาพของปลา และคุณภาพเนื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design: CRD) อาหารที่ใช้ทดลองทั้งหมด 5 สูตร โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) อาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก
- สูตรที่ 2 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 3 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 4 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 5 อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นที่ระดับ 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารเม็ดแบบจมที่จัดเตรียมขึ้นเอง กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานที่ย่อยได้ประมาณ 3,400 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กิโลกรัม โปรตีนไฮโดรไลเซตมีโปรตีนจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 26.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารที่ตามในตารางทดลองที่ 12 มีขั้นตอนการเตรียมอาหารทดลอง เริ่มต้นคือนำวัตถุดิบที่จะใช้ไปบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 เมช จากนั้นนำวัตถุดิบไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและสร้างสูตรอาหาร โดยกำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกัน นำวัตถุดิบแต่ละชนิดมาชั่งและแยกใส่ถุงไว้สำหรับอาหารทดลองแต่ละสูตร 3.) นำวัตถุดิบทั้งหมด (ยกเว้นน้ำมัน น้ำ และ MPH) มาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหารประมาณ 10 นาที จึงเติมน้ำมันปลาและน้ำมันถั่วเหลืองลงไป ผสมต่ออีกประมาณ 5 นาที จึงเติมน้ำกลั่นประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร ละลาย MPH ที่ผ่านการอบลงในน้ำ และผสมให้เข้ากันกับวัตถุดิบอื่น สำหรับวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้ว นำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรโดยตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน จึงนำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยอาหารที่ผ่านการอบแล้วนำไปบรรจุในถุงพลาสติกเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในการทดลอง สุ่มอาหารทดลอง 100 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า) ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990)

ตารางที่ 12 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 2

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร				
	T1 สูตรควบคุม	T2 วัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	T3 วัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์	T4 วัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	T5 วัตถุดิบพืช 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์
ส่วนประกอบวัตถุดิบในอาหารต่อ 1 กิโลกรัม					
ปลาป่น	250.00	125.00	125.00	62.50	62.50
กากถั่วเหลือง	150.00	268.49	268.49	327.73	327.73
MPH	0.00	25	50	25	50
ถั่วลิสงป่น	0.00	40.00	15.00	72.50	47.50
แป้งสาลี	0.00	10.65	10.65	15.98	15.98
รำข้าว	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
หัวกุ้งป่น	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
แกลบ	174.50	114.16	114.16	83.99	83.99
แป้งมัน	200.00	180.00	180.00	170.00	170.00
น้ำมันปลา	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
น้ำมันปาล์ม	15.00	14.60	14.60	14.40	14.40
โคลีน คลอไรด์	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Rovimix 2030	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
อินโนซิตอล	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ไดแคลเซียม-ฟอสเฟต	7.50	17.50	17.50	22.50	22.50
ดีแอลเมทไธ-ไอนีน	0.00	1.60	1.60	2.40	2.40

ซีเอ็มซี	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00

ตารางที่ 12 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในการทดลองที่ 2 (ต่อ)

	สูตรอาหาร				
วัตถุดิบ	T1 สูตรควบคุม	T2 วัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	T3 วัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์	T4 วัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	T5 วัตถุดิบพืช 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์
องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)					
ความชื้น	5.64	5.50	5.07	5.60	5.45
โปรตีน	25.43	25.13	25.06	25.28	26.58
ไขมัน	6.13	6.05	6.01	6.09	6.63
เถ้า	15.34	16.69	15.51	16.17	15.27

วิตามินและแร่ธาตุรวม (Rovimix 2030) ต่อ 1 กิโลกรัมอาหาร: retinal (A) 8000 IU; cholecalciferol (D3) 1500 IU; tocopherol (E) 100 มก.; menadione sodium bisulfite (K3) 5 มก.; thiamine (B1) 10 มก.; riboflavin (B2) 15 มก.; pyridoxine (B6) 15 มก.; cobalamin (B12) 0.02 มก.; niacin 80 มก.; calcium pantothenate 40 มก.; ascorbic acid (C) 150 มก.; biotin 0.5 มก.; folic acid 4 มก.; Cu 5 มก.; Fe 30 มก.; Zn 40 มก.; Mn 25 มก.; Co 0.05 มก.; I 1 มก.; Se 0.25 มก.

4.2.7 การศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

วิเคราะห์ตามวิธีการเช่นเดียวกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

4.2.7 การศึกษาองค์ประกอบเลือด

วิเคราะห์ตามวิธีการเช่นเดียวกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

4.2.8 การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร

วิเคราะห์ตามวิธีการเช่นเดียวกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

4.2.9 การศึกษาคุณภาพเนื้อ

ศึกษาเปรียบเทียบเนื้อแล่ของปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชเปรียบเทียบสูตรอาหารควบคุม เมื่อให้อาหารทดลองครบ 8 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างปลาจากตู้ ตู้ละ 2 ตัว รวมทั้งสิ้นเป็น 6 ตัวในแต่สูตรหารทดลอง นำมาสลบด้วยน้ำมันกานพลูจากนั้นแล่ชิ้นเนื้อออกมา รวมถึงตัดหนังของปลาออกให้เป็นชิ้นเนื้อเช่นเดียวกับที่ใช้ในการบริโภค จากนั้นนำไปวัดค่าคุณภาพของเนื้อปลา

การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

การวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง texture analyzer (TA. XT2i, Stable Micro System, Godalming, Surey, UK) วัดโดยใช้การทดสอบแรงตัด (shearing force) มีหน่วยการวัดเป็น shearing force gram

การวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของไขมัน (thiobarbituric acid reactivesubstancea assays)

วิเคราะห์ปริมาณMalondialdehyde (MDA) ในรูปของ TBARs เก็บตัวอย่างปลาวิเคราะห์ตามวิธีของ Benjakul และ Bauer (2001)โดยวิเคราะห์ปริมาณของ MDA 0.0375 กรัม ที่ทำปฏิกิริยา ในสารละลาย 15 เปอร์เซ็นต์ trichloroacetic acid (TCA) และ HCl ความเข้มข้น 2.5 นอร์มอล วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ TBARs โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ MDA รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของ malondialdehyde ต่อน้ำหนักตัวอย่าง (mgMDA/mg)

การวิเคราะห์ค่าสีของเนื้อ

วัดค่าของเนื้อปลาด้วยเครื่อง Hunter Lab รุ่น ColorFlex ทำการวัดโดยนำ probe ของเครื่องมือสัมผัสกับตัวอย่างที่วางในจานใส่ตัวอย่าง อ่านค่าโดยใช้ระบบ CIL lab จะได้ผลของค่าช่วงสี อ่านค่าที่แสดงแสดงได้ดังนี้ ความสว่าง (L*) อ่านผลได้จากค่าสีดำ คือ -L* และค่าสีขาว คือ +L* ความแดง-เขียว (a*) ค่าสีแดง คือ +a* และค่าสีเขียว คือ -a* และความเหลือง-น้ำเงิน (b*) ค่าสีเหลือง คือ +b* และ ค่าสีน้ำเงิน คือ -b*

4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

การเลือกสภาวะผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้ามีปัจจัยร่วมได้แก่ pH อุณหภูมิ ระยะเวลา และปริมาณเอนไซม์ ใช้วิธีวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial design) ที่ส่งผลร่วมกันต่อระดับการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซต ข้อมูลค่าเฉลี่ยที่ได้จากการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบเลือด สภาวะที่เหมาะสมจำเพาะต่อการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลแบบจำแนกทางเดียว ANOVA (one way analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.4 ผลการทดลอง

4.4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า

โปรตีนไฮโดรไลเซตในแต่ละสภาวะได้แก่ pH 5, 6 และ 7 อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ใช้ปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณวัตถุดิบ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการผลิต 1, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง ทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตครบทุกสภาวะเพื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบจากการที่ปัจจัยร่วมกันระหว่าง pH อุณหภูมิ ปริมาณเอนไซม์ และเวลาที่ใช้ ส่งผลต่อระดับการย่อยสลายที่ดีที่สุด โดยผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 13 พบว่าค่าระดับการย่อยในสภาวะที่ใช้ความเป็นกรดด่าง 5 และ 6 นั้นจะมีระดับการย่อยต่ำกว่าในความเป็นกรดด่าง 7 นอกจากนั้นในค่าของระดับการย่อยสลายผลิตภัณฑ์พบว่าในอุณภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ระดับการย่อยของโปรตีนไฮโดรไลเซตลดลง และเมื่อพิจารณาถึงในช่วงระยะที่นานขึ้นจะทำให้มีระดับการย่อยลดลงเช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติจะพบว่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ดีที่สุด ($P<0.05$) อยู่ที่139.62±38.80 เปอร์เซ็นต์ การผลิตโดยสภาวะที่ใช้ความเป็นกรดด่าง 7 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักวัตถุดิบ และระยะเวลา 3 ชั่วโมง

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
5	50	1	1	52.39±1.52
			3	75.49±7.65
			6	48.95±5.54
			9	57.95±0.27
			12	63.91±16.64
			24	52.11±6.14
		2	1	58.95±4.10
			3	42.68±13.82
			6	51.13±11.31
			9	63.45±15.69
			12	62.33±9.30
			24	54.10±11.94
		3	1	57.79±1.21
			3	78.38±10.04
			6	33.18±14.25
			9	65.64±4.47
			12	51.95±2.64
			24	56.34±6.94

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
5	60	1	1	48.94±0.63
			3	39.07±8.93
			6	54.30±1.79
			9	56.09±4.30
			12	54.61±2.07
			24	48.16±5.06
		2	1	56.05±8.35
			3	42.47±5.03
			6	57.43±7.28
			9	48.05±4.50
			12	47.63±1.67
			24	49.41±11.09
		3	1	48.98±0.64
			3	47.59±8.70
			6	54.00±3.42
			9	57.44±16.49
			12	58.43±1.57
			24	52.37±9.17

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
5	70	1	1	38.87±3.07
			3	46.76±3.17
			6	47.74±7.33
			9	50.77±4.32
			12	32.62±23.68
			24	58.83±4.35
		2	1	51.94±3.40
			3	49.39±3.81
			6	50.22±8.45
			9	47.10±15.14
			12	72.23±2.18
			24	39.62±6.93
		3	1	53.84±18.05
			3	48.21±3.04
			6	49.99±7.73
			9	47.10±26.85
			12	55.00±5.07
			24	61.17±4.53

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
6	50	1	1	37.96±2.89
			3	51.03±7.09
			6	54.64±15.08
			9	45.99±16.14
			12	50.14±15.28
			24	59.51±15.04
		2	1	52.45±12.01
			3	64.97±13.60
			6	41.3812.44
			9	44.63±0.86
			12	67.43±2.98
			24	78.16±4.21
		3	1	67.57±17.10
			3	53.83±9.95
			6	55.52±3.03
			9	47.03±11.64
			12	53.86±16.70
			24	41.79±0.47

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
6	60	1	1	40.09±2.31
			3	48.15±1.56
			6	45.71±11.58
			9	41.43±10.20
			12	37.00±9.40
			24	47.64±4.43
		2	1	40.80±5.00
			3	45.33±5.63
			6	49.66±3.94
			9	53.05±0.51
			12	40.43±1.43
			24	42.45±20.37
		3	1	49.00±3.20
			3	53.77±2.72
			6	55.94±1.13
			9	40.11±20.72
			12	44.00±12.22
			24	56.37±9.15

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
6	70	1	1	48.18±1.20
			3	49.08±2.71
			6	51.87±4.07
			9	63.84±4.66
			12	60.16±11.67
			24	62.73±6.59
		2	1	39.96±14.55
			3	38.61±2.16
			6	50.67±2.09
			9	71.02±2.02
			12	53.35±2.45
			24	58.63±21.69
		3	1	48.85±3.44
			3	44.09±7.02
			6	56.95±1.61
			9	71.35±12.57
			12	56.41±4.10
			24	64.93±7.51

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
7	50	1	1	89.66±12.03
			3	72.29±1.99
			6	75.07±0.23
			9	65.59±3.53
			12	67.70±13.13
			24	81.69±5.58
		2	1	98.31±7.65
			3	139.62±38.80
			6	92.28±24.85
			9	72.40±3.87
			12	72.19±4.14
			24	80.47±9.35
		3	1	129.09±34.72
			3	116.31±60.11
			6	90.97±1.91
			9	73.09±20.41
			12	72.22±16.27
			24	72.13±4.32

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
7	60	1	1	47.03±2.07
			3	43.26±1.72
			6	53.12±10.87
			9	45.67±10.84
			12	41.14±21.23
			24	40.21±9.94
		2	1	48.36±2.07
			3	46.19±4.48
			6	46.56±15.31
			9	55.28±5.04
			12	57.66±0.09
			24	45.16±3.76
		3	1	39.77±14.88
			3	44.07±4.82
			6	49.71±6.87
			9	56.74±9.71
			12	43.73±1.18
			24	55.21±3.41

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย (ต่อ)

pH	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (ชั่วโมง)	ระดับการย่อยสลาย (เปอร์เซ็นต์)
7	70	1	1	54.79±0.49
			3	52.42±3.97
			6	50.18±11.24
			9	50.35±6.13
			12	49.56±11.64
			24	51.93±4.53
		2	1	54.14±7.49
			3	58.18±7.00
			6	38.77±10.70
			9	61.34±7.96
			12	43.55±2.69
			24	56.44±5.13
		3	1	49.95±2.65
			3	39.33±20.87
			6	53.45±0.36
			9	64.33±1.80
			12	54.13±19.53
			24	57.84±22.31

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

4.4.2 การเจริญเติบโตและอัตราการรอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 8 สัปดาห์ด้วยอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเปรียบกับสูตรอาหารควบคุมในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ในแต่ละชุดการทดลอง แสดงในตารางที่ 14 โดยน้ำหนักปลาต่อตัวเริ่มต้นการทดลองเฉลี่ยเท่ากับ 5.25 กรัม และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาชุดการทดลองที่1(สูตรควบคุม), 2, 3, 4 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50+2.5 MPH, 50+5 MPH, 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0,05) สำหรับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นนั้นมีผลไปในทิศทางเดียวกันคือ ปลาชุดการทดลองที่1(สูตรควบคุม), 2, 3, 4 และ 5 (แทนด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50+2.5 MPH, 50+5 MPH, 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0,05)

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบผลการเจริญเติบโตระหว่างปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตและกับปลาที่ได้สูตรอาหารควบคุมพบว่า พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) สำหรับอัตราการรอดนั้นมีค่าอยู่ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกชุดการทดลอง

4.4.3 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ตารางที่ 15 แสดงปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตและกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ปลาในแต่ละชุดการทดลองมีปริมาณอาหารที่กินและอัตราการกินอาหารของชุดการทดลองที่ 1-5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50+2.5 MPH, 50+5 MPH, 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สำหรับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกัน จากผลการทดลองการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร อัตราการกินอาหาร และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ จึงมีความสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน

4.4.4 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากอาหารวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตของปลาเมื่อสิ้นสิ้นการทดลอง 8 สัปดาห์ ข้อมูลในตารางที่ 15 แสดงถึงประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในต่ละชุดการทดลอง (P>0.05)

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิมีค่าไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ในชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม), 2. 3 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตุดิบพืช 0, 50+2.5 MPH, 50+5 MPH และ 75+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) แต่ในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 +2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงสุดแตกต่างจากค่าอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ดังนั้นในระดับการแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตโคนเห็ดนางฟางที่ระดับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 4) ทำให้มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้ดีมากกว่าปลาที่ได้รับสูตรอาหารในชุดการทดลองอื่น

ตารางที่ 14 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)		อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 8			
T1	0 (สูตรควบคุม)	5.26±0.01[a]	13.03±3.54[a]	1.62±0.0.53[a]	48.34±13.57[a]	100±0.00[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	5.26±0.01[a]	10.08±2.96[a]	1.20±0.0.45[a]	38.09±9.84[a]	100±0.00[a]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	5.26±0.00[a]	11.33±0.84[a]	1.41±0.14[a]	42.06±3.25[a]	100±0.00[a]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	5.26±0.0[a]	12.24±1.91[a]	1.57±0.25[a]	46.12±6.31[a]	100±0.00[a]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	5.26±0.02[a]	11.81±0.78[a]	1.56±0.15[a]	45.71±3.92[a]	100±0.00[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 15 ปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณอาหารที่ปลากิน (กรัมต่อตัว)	อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (เปอร์เซ็นต์)
T1	0 (สูตรควบคุม)	12.99±1.97[a]	1.26±0.11[a]	1.83±0.78[a]	2.29±0.84[a]	40.31±13.91[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	10.04±1.56[a]	1.13±0.04[a]	1.73±0.42[a]	1.83±0.83[a]	36.06±13.05[a]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	10.79±1.27[a]	1.14±0.10[a]	1.70±0.18[a]	2.26±0.29[a]	47.74±5.71[a]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	11.52±0.89[a]	1.14±0.03[a]	1.58±0.27[a]	2.38±0.49[a]	51.76±8.87[b]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	13.07±1.92[a]	1.29±0.14[a]	1.77±0.13[a]	2.41±0.06[a]	37.25±1.50[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.4.5 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา

ตัวอย่างองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างปลาก่อนทดลองและปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ระยะเวลา 8 สัปดาห์ องค์ระกอบทางเคมีของปลาก่อนการทดลอง มีค่าการวิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน และถ้า แสดงในตารางที่ 16 และองค์ประกอบทางเคมีของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าการวิเคราะห์ความชื้นไม่แตกต่างต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในทุกชุดการทดลอง โปรตีนในองค์ประกอบปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงสุดแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) และ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยชุดการทดลองที่ 3 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์) ไม่มีความแตกตาง (P>0.05) จากชุดการทดลองอื่น แต่สำหรับในค่าองค์ประกอบทางเคมีของไขมันกลับพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) ในปลาจากทุกชุดการทดลองเรียงจากมากไปน้อยตามลำดับ ได้แก่ สูตรอาหารที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์), สูตรอาหารที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์), สูตรอาหารที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์), สูตรอาหารที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) และสูตรอาหารที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) และสำหรับค่าการวิเคราะห์ประกอบเถ้าในปลาที่ได้รับสูตรอาหารที่ 1(สูตรควบคุม), 2, 3, 4 และ 5 (แทนด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50+2.5 MPH, 50+5 MPH, 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ผลขององค์ประกอบทางเคมีของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันใน ความชื้น และ เถ้า แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) ของค่าองค์ประกอบโปรตีน และ ไขมัน

ตารางที่ 16 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (เปอร์เซ็นต์) ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	เถ้า (เปอร์เซ็นต์)
ปลาก่อนการทดลอง	-	76.67±4.88	63.92±1.52	18.00±1.65	16.03±0.75
T1	0 (สูตรควบคุม)	70.75±0.27[a]	54.27±4.88[a]	15.18±0.54[a]	14.92±0.96[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	71.69±0.75[a]	54.07±2.96[a]	20.29±0.31[b]	15.26±0.41[a]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	69.35±1.43[a]	57.68±2.15[ab]	23.75±0.09[d]	15.49±1.49[a]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	69.52±3.35[a]	59.46±1.86[b]	21.17±0.13[c]	15.22±0.87[a]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	71.39±1.21[a]	57.90±1.36[ab]	26.17±0.13[e]	15.22±0.84[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.4.6 องค์ประกอบเลือด

ผลการศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันเปรียบเทียบกันในปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 17 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ของปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีผลการศึกษาเช่นเดียวกับผลของปริมาณเม็ดเลือดขาวที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่ามีค่าฮีมาโตคริตในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่า (P<0.05) ชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) และ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ โดยไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) ของค่าฮีมาโตคริตในชุดการทดลองที่ 3 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH และ 75+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

การวิเคราะห์ไลโซไซม์ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์พบว่า (ตารางที่ 17) มีสูงสุด (P<0.05) ในปลาชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์) ไม่แตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+5 MPH เปอร์เซ็นต์) แต่มีความแตกต่างจากชุดการทดลองที่ 1 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 75+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และมีค่าต่ำสุด (P<0.05) ในชุดการทดลองที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) และสำหรับกิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสในแต่ละชุดการทดลองมีค่าสูงสุด (P<0.05) ในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0, 50 + 2.5 MPH และ 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แตกต่างจาก (P<0.05) ในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองที่ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์)เมื่อเปรียบเทียบจากทุกชุดการทดลอง

จากผลการศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันในปลาที่ได้รับอาหารทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในการศึกษาองค์ประกอบเม็ดเลือดและเม็ดเลือดขาว แต่ในการวิเคราะห์ไลโซไซม์และกิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสเมื่อพิจารณาแล้วพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 2.5 ทั้งในอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 2 และ 4 ตามลำดับ) มีระดับที่สูงกว่าปลาในชุดการทดลองอื่น

ตารางที่ 17 องค์ประกอบเลือดของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณเม็ดเลือดแดง (10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณเม็ดเลือดขาว (10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	ไลโซไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	2.63±0.16[a]	4.16±0.54[a]	43.83±6.31[b]	82.50±24.60[b]	0.205±0.02[b]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	2.93±0.42[a]	5.23±0.66[a]	41.28±1.12[b]	37.00±7.07[a]	0.204±0.04[b]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	2.85±0.31[a]	4.49±1.11[a]	39.04±4.54[ab]	96.00±11.31[bc]	0.202±0.04[b]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	2.84±0.22[a]	4.62±0.84[a]	34.99±2.96[a]	82.67±37.17[b]	0.158±0.03[a]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	2.99±0.39[a]	4.02±0.92[a]		118.67±35.35[c]	0.171±0.04[ab]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.4.7 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารภายในระบบทางเดินอาหาร

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารจากอวัยวะภายในทางเดินอาหาร ได้แก่ กระเพาะ ตับ ลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชและเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตทำการวิเคราะห์เอนไซม์ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไลเปส และอะไมเลส แสดงค่าที่วิเคราะห์ได้ในตารางที่ 18, 19 และ 20 โดยมีค่าการวิเคราะห์แตกต่างกันตามอาหารทดลองที่ได้รับ

ในตารางที่ 18 แสดงค่าการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะอาหาร พบว่าระดับกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินในทุกชุดการทดลอง มีค่าที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่พบว่ามีความแตกต่างกันของระดับกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสโดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงสุดกว่าชุดการทดลองอื่น (P>0.05) แต่ในทางกลับกันพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) มีค่ากิจจกรรมเอนไซม์อะไมเลสต่ำ (P>0.05) กว่าปลาในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH, 50 + 5 MPH และ 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบจากทุกชุดการทดลอง

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับ แสดงในตารางที่ 19 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ของกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน โดยในชุดการทดลองที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงกว่า (P<0.05) ชุดการชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) และ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 50+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) จากชุดการทดลองที่ 2 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH และ 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบจากทุกชุดการทดลอง แต่กลับพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในกิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซินในแต่ละชุดการทดลอง และสำหรับกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสชุดการทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) และ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 50 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) มีค่าสูงสุด (P<0.05) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากชุดการทดลองที่ 2, 4 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+2.5 MPH, 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และกิจเอนไซม์อะไมเลสที่พบว่ามีค่าสูงสุด (P<0.05) ในชุดการทดลองที่ 1 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงกว่า (P<0.05) ชุดการทดลองที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในชุดการทดลองที่ 3 และ 4 นั้น

(แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 5 MPH และ 75 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) จากในทุกชุดการทดลอง

ตัวอย่างลำไส้ของของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร ดังที่แสดงในตารางที่ 20 ผลของระดับกิจกรรมเอนไซม์ทริปซินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) และมีสูงกว่า ($P<0.05$) สูตรทดลองที่ 1 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่มีความแตกต่าง ($P>0.05$) ของปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 2, 3 และ 5 แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50 + 2.5 MPH, 50 + 5 MPH และ 75 + 5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบจากทุกชุดการทดลอง แต่ในค่ากิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซินกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง ($P>0.05$) สำหรับกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในลำไส้มีค่าสูงสุด ($P<0.05$) ในชุดการทดลองที่ 2 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์) รองลงมา ($P>0.05$) ด้วยชุดการทดลองที่ 1 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 และ) และ ($P<0.05$) ชุดการทดลองที่ 3 (แทนที่ด้วยวัตถุดิยพืช 50+5 MPH เปอร์เซ็นต์) และมีค่าสูง ($P<0.05$) จากชุดการทดลองที่ 4 และ 5 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 75+2.5 MPH และ 75+5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในทางกลับกันพบว่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในปลาทดลองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่า ($P<0.05$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากปลาที่ได้อาหารทดลองสูตรที่ 2 และ 4 (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 50+2.5 MPH และ 75+2.5 MPH เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ระดับกิจกรรมเอนไซม์ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต ค่าวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชทั้งระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า 2.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่นและการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ทริปซินได้มากในตับ เอนไซม์ไคโมทริปซินสามารถวิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันในตับและลำไส้ ส่วนเอนไซม์ไลเปสนั้นวิเคราะห์ได้จากกระเพาะอาหารมากกว่าอวัยวะอื่น และเอนไซม์อะไมเลสนั้นพบมากได้มากจากการวิเคราะห์ในตับและลำไส้

ตารางที่ 18 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในกระเพาะของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	21.68±9.96[a]	2.22±1.69[a]	483.97±59.75[c]	215.59±55.19[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	17.88±10.94[a]	2.15±1.18[a]	363.88±10.67[b]	267.25±50.26[ab]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	17.13±5.91[a]	1.72±1.19[a]	303.73±66.55[ab]	255.46±55.72[ab]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	16.58±6.62[a]	3.67±1.11[a]	301.42±67.81[a]	295.70±38.18[b]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	12.98±1.87[a]	1.85±2.30[a]	285.18±39.46[a]	279.36±63.38[ab]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 19 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในตับของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	22.40±14.56[a]	3.81±2.31[a]	359.74±60.55[b]	372.39±38.16[b]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	30.08±7.48[ab]	5.38±3.09[a]	259.51±48.80[a]	261.56±28.09[a]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	24.66±10.12[a]	5.76±3.45[a]	398.12±27.16[b]	343.49±17.63[ab]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	39.23±4.55[b]	5.64±4.33[a]	242.73±26.69[a]	350.53±69.67[ab]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	33.43±10.96[ab]	2.89±1.09[a]	213.20±15.27[a]	358.54±59.61[b]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

ตารางที่ 20 กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	ทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน)
T1	0 (สูตรควบคุม)	7.54±3.48[a]	4.12±2.26[a]	136.80±25.21[bc]	135.04±32.71[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	12.76±5.05[ab]	6.75±3.46[a]	159.23±36.07[c]	189.84±26.83[bc]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	9.02±3.76[ab]	5.69±1.60[a]	108.43±29.35[b]	158.40±24.63[ab]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	15.92±5.88[b]	3.55±1.33[a]	65.22±29.36[a]	221.69±33.65[c]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	13.71±6.25[ab]	5.42±2.00[a]	62.21±26.55[a]	145.96±18.04[ab]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 9 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.4.8 คุณภาพเนื้อ

การประเมินคุณลักษณะในเนื้อแล่ของปลาเมื่อสิ้นสุดการให้อาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 21 พบว่าเนื้อสัมผัสของปลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ทั้งนี้ค่าที่สูงกว่าของการวัดเนื้อสัมผัสคือส่งผลให้เนื้อมีความยืดหยุ่นมากมากกว่าทำให้เนื้อปลาเหนียวตัดขาดได้ยาก และเนื้อปลาที่มีค่าต่ำแสดงถึงความอ่อนนุ่ม

เนื้อปลาตัวอย่างภายหลังการทดลองนำมาวัดค่า TBARs (ตารางที่ 21) พบว่าเนื้อปลาที่ได้รับอาหารสูตรแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตทุกระดับมีค่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเนื้อปลาต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (แทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช 0 เปอร์เซ็นต์) ที่มีค่าสูงสุดแตกต่างจากชุดการทดลองที่เสริมด้วย MPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ค่าสีของเนื้อปลาทำการวัดและอ่านค่าที่แสดงผลได้แก่ L* คือ ความสว่าง a* คือ ความแดง และ b* คือความเหลืองเปรียบเทียบจากการที่ได้รับอาหารแตกต่างกันตามการทดลอง พบว่าค่าความสว่างของเนื้อปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าที่ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร (ชุดการทดลองที่ 3 และ 5 ตามลำดับ) มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ และสูตรอาหารควบคุม (ชุดการทดลองที่ 2, 4 และ 1) แต่ในค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ทางสถิติ ในทุกชุดการทดลอง

คุณภาพเนื้อปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะพบว่าไม่มีความแตกต่างในความเหนียวของเนื้อปลา แต่ปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็นนางฟ้าในทุกระดับมีระดับการออกซิเดชันของไขมันในเนื้อปลาต่ำกว่าเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) แต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าทีระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ นั้นจะทำให้มีสีของเนื้อเข้มขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างในเรื่องของความเป็นสีแดงและเหลืองของปลาที่ได้รับอาหารทดลอง

ตารางที่ 21 คุณภาพเนื้อของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลอง MPH ทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ระดับการแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช (เปอร์เซ็นต์)	เนื้อสัมผัส (shearing force gram)	TBARs (มิลลิกรัมMDAต่อกรัม)	ความสว่าง	ความแดง-เขียว	ความเหลือง-น้ำเงิน
T1	0 (สูตรควบคุม)	516.61±166.69[a]	25.43±7.04[b]	33.35±4.20[ab]	3.84±2.47[a]	5.10±1.64[a]
T2	50 + 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	602.24±164.62[a]	12.83±4.22[a]	31.77±3.18[a]	6.50±2.08[a]	5.91±1.87[a]
T3	50+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	442.67±66.61[a]	8.17±1.41[a]	36.72±2.26[bc]	4.78±2.42[a]	5.87±2.26[a]
T4	75+ 2.5 MPH เปอร์เซ็นต์	528.76±188.68[a]	10.78±4.87[a]	33.21±3.97[ab]	5.77±1.36[a]	5.17±0.85[a]
T5	100+ 5 MPH เปอร์เซ็นต์	480.93±10.84[a]	9.32±2.53[a]	38.61±4.29[c]	6.14±2.69[a]	6.74±2.53[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

[2]ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเดียวกันกำกับนั้นหมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

4.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เศษวัตถุดิบโคนเห็ดนางฟ้าผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้เสริมลงในอาหารสัตว์นิยมผลิตมากจากเศษเหลือวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ เพื่อเพิ่มคุณสมบัติกระตุ้นการกิน รวมถึงปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ได้ เช่น การเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และคุณภาพเนื้อ (Khosravi et al., 2015; Xu et al., 2016) ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกสภาวะในการผลิตให้ระดับที่เหมาะสมในการใช้ในอาหารปลา เปรียบเทียบจากระดับการย่อยสลายสูงสุดอยู่ที่ 139.62±38.80 เปอร์เซ็นต์ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีผลจากหลายปัจจัยร่วมกัน ทั้งการเลือกใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่มีเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโน ทั้งยังให้กลิ่นและรสคล้ายเนื้อสัตว์ (Lotfy et al., 2015; มัลลิกา และคณะ, 2552) ส่งผลดีต่อการนำมาใช้เสริมในอาหารสัตว์น้ำ โดยสามารถกำจัดรสขม (debittering) คือการแยกกรดอะมิโนกลุ่มไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amini acid group) ออกจากผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซต (Izawa, 2007) เนื่องจากกรดอะมิโนกลุ่มนี้จะอยู่ปลายสายเปปไทด์ เอนไซม์ฟลาโวไซม์มีประสิทธิภาพในการตัดแยกกรดอะมิโนกลุ่มนี้ออกจากสายเปปไทด์ ทำให้ช่วยลดความขมของผลิตภัณฑ์ (Ma et al, 2014) และนอกจากชนิดของเอนไซม์ที่ใช้พบว่า อุณหภูมิ pH และปริมาณเอนไซม์ ยังส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้เช่นกัน (Poojary et al., 2017) ในการวิเคราะห์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตจากเห็ดฟางของ Palupi และคณะ (2010) พบว่ามีระดับการย่อยอยู่ที่ 94.75-99.55 เปอร์เซ็นต์ และระดับการผลิตที่มีระดับการย่อยที่ดีที่สุดทำให้ได้รสและกลิ่นสัมผัสที่ดี เหมาะสมกับการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ โดยผลิตที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ใกล้เคียงกับสภาวะที่ใช้ในการผลิต MPH ที่ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง และในการศึกษาของ Poojary และคณะ (2017) เพื่อศึกษาการให้รสอูมามิ (umami taste) จากกรดอะมิโนอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดชนิดต่างๆ ที่ได้จากผลิตโดยใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์ ทำการศึกษาถึงสภาวะที่ดีที่สุดในการใช้เอนไซม์ฟลาโวไซม์ พบว่า มีสภาวะที่ดีที่สุดใกล้เคียงกับในการผลิต MPH โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 7 แต่ใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์สูงกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัวอย่าง ใช้เวลาการหมักลดลงเหลือ 1 ชั่วโมง สามารถนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำเนื่องจากมีรสชาติอูมามิที่ช่วยดึงดูดการกิน

การใช้วัตถุดิบพืชในอาหารสัตว์น้ำในปริมาณสูงอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโต (Da et al.,2015) แต่ในการศึกษาใช้เห็ดนางฟ้าเป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์น้ำนั้นพบว่ามีศักยภาพช่วยในเพิ่มการเจริญเติบโต ทั้งในการศึกษาทดแทนโปรตีนจากปลาป่น (วุฒิพร และคณะ, 2557) และการศึกษาในปลาสวาย (ชลกานต์, 2555) และพบการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นสามารถช่วยให้ปลาดูดซึมและใช้

ประโยชน์จากโปรตีนในอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชได้ดีขึ้น (Xu et al., 2016) การทดลองครั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้ MPH ที่ระดับ 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เสริมลงในอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชที่ระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ แต่ละระดับ พบว่าการเจริญเติบโตของและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาที่ได้รับอาหารสูตรสูตรควบคุมไม่มีความแตกต่างกับสูตรอาหารแทนที่วัตถุดิบพืชเสริมด้วย MPH และจากการศึกษาการใช้เห็ดนางฟ้าเสริมลงในอาหารปลาสวายที่พบว่ามีการเจริญเติบโตและและประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ดีใกล้เคียงกับสูตรอาหารที่ใช้โปรตีนปลาป่นในการศึกษาของ (Hakim and Jintasataporn, 2012) รวมถึงการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาทูน่าในอาหารปลากะพงขาวของ Chotikachinda และคณะ (2013) จะเห็นได้ว่าการใช้ MPH ที่ระดับ 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารแทนที่ปลาด้วยวัตถุดิบพืชที่ระดับสูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพเทียบเทียบการใช้แหล่งโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ผลการเสริม MPH ลงในอาหารแทนที่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชแต่ละระดับ ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเลือดและระบบภูมิกันของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว ไลโซไซม์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารวัตถุดิบพืชมีระดับเทียบเท่ากับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ผลิตจากปลาป่น จากรายงาน Synytsya และคณะ(2009) ที่กล่าวว่าเห็ดเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพภูมิคุ้มกัน Ahmed และคณะ (2015) กล่าวถึงความสามารถเพิ่มการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ ชลกานต์ (2555) ที่แสดงถึงประสิทธิภาพการใช้เห็ดเสริมในอาหารปลาสวายไม่ทำให้เกิดปัญหากับระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนพืช เนื่องจากสารประกอบในเห็ดมีบทบาทลดการเกิดโรค อีกทั้งต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์ทำให้เกิดโรค

โปรตีนไฮโดรไลเซตในสูตรอาหารนั้นจะส่งผลที่แตกต่างกันต่อระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารของปลา Kotzamanis และคณะ (2007) รายงานว่ามีหลายปัจจัยในการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารปลา ตัวอย่างเช่น สัดส่วนและชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในอาหาร ชนิดและปริมาณของโปรตีนไฮโดรไลเซต แต่การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ทำการย่อยก่อนนำมาผลิตเป็นอาหารจะทำให้ปลานำไปใช้ได้ดีกว่า ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเสริม MPH ที่ระดับ 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วย MPH มีระดับเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินที่ไม่แตกต่างจากในกระเพาะอาหารของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม Kolkovski (2001) รายงานถึงการใช้อาหารมีชีวิตหรือวัตถุดิบจากสัตว์ในสูตรอาหาร จะทำให้มีระดับเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ดีและใช้ประโยชน์ได้ดีกว่า แต่ในระดับที่เหมาะสมของโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นจะทำให้ปลาใช้ประโยชน์จาก

โปรตีนได้ดีเทียบเท่ากันจากอาหารวัตถุดิบพืช ดังที่เห็นได้จากผลการทดลอง Kotzamanis และคณะ (2007) รายงานถึงการที่ใส่โปรตีนไฮโดรไลเซตในปริมาณสูงทำให้มีปริมาณเปปไทด์สายสั้นปริมาณสูงส่งผลต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีน เกิดจากการที่กรดอะมิโนอิสระจะผ่านไปยังทางเดินอาหารอย่างรวดเร็วและไม่สามารถดูดซึมได้ ในการศึกษาของ Kolkovski (2001) ที่พบว่านอกจากระดับความเข้มข้นในอาหารของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สูงเกินไปจะส่งผลต่อระดับกิจรรมเอนไซม์ ยังส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากไม่สามารถดูดซึมอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ แต่ปลากะพงที่ได้รับอาหารเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจะมีระดับกิจกรรมเอนไซม์ที่ลำไส้สูงขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าลำไส้ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารแทนที่วัตถุดิบพืช 50 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH มีระดับกิจกรรมเอนไซม์สูงกว่าสูตรอาหารควบคุมเช่นเดียวกัน ทำให้ปลาใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้แม้จะได้รับอาหารที่มีวัถตุดิบต่างจากความต้องการ

เมื่อพิจารณาผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชเสริมด้วย MPH ไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา ทั้งยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากโปรตีนดังผลของกิจกรรมเอนไซม์การย่อยอาหาร สอดคล้องกับผลการศึกษาการใช้โปรตีนในปลาหลายชนิดดังเช่น ปลากะพง (Kolkovski., 2001; Chotikachinda et al.,2013) และปลากะพงแดง ในรายงานของ Bui และคณะ (2014) ที่พบว่าการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน และกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารเช่นเดียวกัน นอกจากนั้นวัตถุดิบเห็ดที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถทดแทนโปรตีนปลาป่นในอาหารปลาสวายบางส่วนได้ (ชลกานต์, 2555; วุฒิพร และคณะ 2557)

การใช้วัตถุดิบเห็ดนั้นคุณสมบัติในการลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันและปรับปรุงคุณภาพเนื้อให้ตรงตามต้องการของตลาด (ชลกานต์, 2555) ดังเช่นผลการทดลองที่พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดลองมีเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่มไม่แตกต่างกัน Bao และคณะ (2009) รายงานถึงประสิทธิสารสกัดเห็ดที่เสริมอาหารนั้นช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีและการเกิดลิปิดออกซิเดชันในเนื้อปลาได้ โดยการวัดค่า TBARs ที่แสดงการเกิดออกซินเดชันของไขมันในเนื้อปลาทำให้เกิดการหืน ทำให้เนื้อมีสีคล้ำและกลิ่นเหม็น เป็นการวัดการเกิดสารมาโลนอลต์ดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์ (เกรียงไกร, 2548 อ้างโดยชลกานต์, 2555) สอดคล้องกับโดยการเสริม MPH ในอาหารทำให้เนื้อแล่ของปลามีค่า TBARs น้อยกว่าเนื้อปลาสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเห็ดมีสารเออโกไธโอนีน (ergothioneine) ที่เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอล (วันดี และคณะ, 2554) สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Bao et al., 2009; Tong et al., 2009) ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ

ไฮดรอกซิลและการจับตัวของโลหะจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน จากการศึกษาของ Pahila et al. (2017) ศึกษาคุณสมบัติของเออโกไธโอนีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแบบ intracellular ที่ได้จากเห็ดสกัดพบว่าสามารถช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน รวมถึงไม่ทำให้เนื้อปลาแซลม่อนเกิดการเปลี่ยนสี และการศึกษาในค่าสีของเนื้อปลาพบว่าปลาที่ไม่มีความแตกต่างของค่าความสว่าง สีแดง และสีเหลือง ดังนั้นการเสริม MPH ที่ระดับ 2.5 ในอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชทั้งระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ดีที่สุดในการปรับปรุงให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้อาหารจากวัตถุดิบพืชเทียบเท่าโปรตีนจากปลาป่น และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน ระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหาร รวมถึงปรับปรุงคุณภาพเนื้อของปลา

4.6 **สรุปผลการทดลอง**

จากการทดลองเลี้ยงปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ในอาหารทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืชในระดับที่ทดแทนได้ดีสูงสุดเท่ากับ 50 และสูตรที่ดีรองลงมาเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ (การทดลองที่ 1) นำมาใส่ MPH เสริมที่ระดับ 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับสูตรอาหารควบคุม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างของการเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนพืชเทียบเท่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) และในปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วย 2.5 เปอร์เซ็นต์ MPH มีการมีสามารถปรับปรุงองค์ประกอบเลือด ระดับกิจกรรมไลเปสและอะไมเลสที่ดีขึ้น รวมถึงคุณภาพของเนื้อที่สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม โดยไม่ทำให้เนื้อปลาเปลี่ยนสี ดังนั้นอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชทั้งระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ที่เสริม MPH ที่ระดับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ดีที่สุด โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปโคนเห็นนางฟ้าซึ่งเป็นวัตถุดิบเหลือใช้ในท้องถิ่นนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในโดยการเป็นอาหารสัตว์น้ำที่มีต้นทุนลดลง และปรับปรุงเพิ่มมูลค่าของผลผลิตเนื้อแล่ของปลาสวายให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

5.1.1 ระดับการแทนที่วัตถุดิบพืชในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

ปลาสวายพันธุ์ปรับปรุงสายพันธุ์สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชได้สูงสุดที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่ผลเสียต่อการเจริญเติบโตของและระบบสุขภาพของปลา และในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ดีที่สุดของการแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืชจากผลการทดลองที่ 1 จึงนำทั้งสองสูตรอาหารไปศึกษาต่อในการศึกษาที่ 2 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสูตรอาหารที่ดีที่สุดและปรับปรุงคุณภาพสูตรที่ดีรองลงมา

5.1.2 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้า

สภาวะที่ทำการการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากโคนเห็ดนางฟ้าให้เหมาะสมกับการนำไปใช้เสริมในอาหารปลาพบว่ามีระดับการผลิตอยู่ที่ pH 7 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณเอนไซม์ 2 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ได้ระดับการย่อยที่สูงสุดที่สุด ทำให้ได้รสและกลิ่นสัมผัสที่ดี

5.1.3 การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าในอาหารแทนที่ด้วยวัตถุดิบพืช

ปลาที่ได้รับอาหารวัตถุดิบพืชทั้งระดับ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เสริมด้วย MPH ที่ระดับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ช่วยให้มีเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและระดับกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารจากอาหารวัตถุดิบพืชเทียบเท่ากับอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นหลัก รวมถึงมีประสิทธิภาพนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพเนื้อแล่ของปลาสวายปรับปรุงสานพันธุ์ ช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่ทำให้ลดคุณภาพของเนื้อปลา

5.2 **ข้อเสนอแนะ**

การศึกษาในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ยังเป็นการทดลองในระดับห้องทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงโดยเกษตรกรในบ่อดินอาจให้ผลที่แตกต่าง จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อก่อนนำไปใช้ทางการตลาด

คุณภาพของเนื้อปลาเป็นการทดสอบในเนื้อปลาสดที่เก็บรักษาในระยะเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาจริงจะมีระยะเวลานานและอุณหภูมิสำหรับแช่แข็ง อาจมีการศึกษาเปรียบเทียบในอนาคต

เอกสารอ้างอ้าง

กิจการ ศุภมาตย์. 2538. คู่มือปฏิบัติการโรคและพยาธิปลา, สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 69 หน้า.

กฤษณา เตบสัน. 2555. การเสริมกรดอะมิโนไลซีนและ/หรือเมธไธโอนีนในอาหารปลาสวายที่ประกอบด้วยถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนหลัก.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาลัยวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลกานต์ ขวัญนาวารักษ์. 2555. การเสริมสารสกัดเห็ดนางฟ้าในอาหาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาลัยวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐวุฒิ ส่งแสง, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ กนก รัตนะกนกชัย. 2550. คุณลักษณะทางเคมีของเอนไซม์-โปรตีนไฮโดรไลเซตถั่วเขียวที่ย่อยสลายด้วยโบรมิเลน. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 38, 259-262.

นฤมล อัศวเกศมณี. 2550. อาหารและการให้อาหารปลา. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา : โรงพิมพ์ภาพพิมพ์. 346 หน้า.

ปัญจพร พงศ์ภมร. 2543. ตำราเลี้ยงปลา กุ้ง หอย และกบ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักงานหอสมุดกลาง09.183 หน้า.

ไพบูลย์ ปะนาเส, ดวงพร อมรเลศพิศาล และเกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2556. การเจริญพันธุ์และประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ของปลาหนัง 3 สายพันธุ์; ปลาบึก ปลาสวายและปลาลูกผสมโดยเทคนิคการผสมกลับ. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 7, 27-37.

มัลลิกา ธนสุคนธ์, ณัฏฐาเลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น และ ปนิดา บรรจงสินศิริ. 2552. คุณลักษณะทางเคมี-กายภาพ และสารหอมระเหยของไฮโดรไลเซทเห็ดย่อยสลายด้วยปาเปน. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 40, 57-60.

ฤทัย สกุลแรมรุ่ง, ประพันธ์ ภานุภาค, ไหม รัตนาวรารักษ์, ปรียาจิต เจริญวงศ์, กำธร ตติยกวี, อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์, สุรนันท์ ตีระวัฒนพงษ์ และทวีศักดิ์ ตีระวัฒนพงษ์. 2539. วิทยาภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 10 กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 354 หน้า.

ฤทัยรัตน์ หวานฉ่ำ. 2547. การผลิตโปรตีนผงแห้งจากเศษเหลือของโรงงานผลิตซูริมิ: การผลิตในระดับนำร่อง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สันต์ นาคสุวรรณ. 2548. คู่มือปลาน้ำจืด Fresh-Water Fishes Handbook. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : Pet Plant Publishing. 400 หน้า.

วันดี หวังคะพันธุ์, คมศร ลมไธสง และ นิวัฒ เสนาะเมือง. 2554. การกระตุ้นการสะสมสารเออโกไธโอนีอีนในเห็ดขอน (*Lentinus* spp.) และเห็ดน้ำหมึก (*Coprinus comatus*) โดยใช้วัสดุผสมฮิสทิดีน. แก่นเกษตร 89, 221-230.

วุฒิพร พรหมขุนทอง, สันติ ยกรัตน์, สุภัทรา อินทศร, ยุทธวัฒน์ รัตนกาล และนัทท์ นันทพงศ์. 2557. การใช้เศษเหลือจากการแปรรูปเห็ดนางฟ้า (*Pleurotussajor-caju* (Fr.) Singers) เพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). วารสารเกษตรพระวรุณ 11, 25-38.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.

Adler-Nissen, J. 1979. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry 27, 1256–1262.

Ahmed, M., Abdullah, N., Yusof, H.M., Shuib, A.S. and Razak, S.A. 2015. Improvement of growth and antioxidant status in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets supplemented with mushroom stalk waste hot water extract. Aquaculture Research, 1-12.

Ahmed, G.U., Chakma, A., Shamsuddin, M., Minar, M.H., Islam, T. and Majumdar, M.Z. 2013. Growth performance of Thai pangus (*Pangasianodon hypophthalmus*) using prepared and commercial feed. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research 2, 92-102.

Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B.T. and Albrektsen, S. 2006. Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: Growth, growth regulation and feed utilization. Aquaculture 261, 305-317.

Ali, H., Haque, M.M. and Belton, B. 2013. Striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*, Sauvage, 1878) aquaculture in Bangladesh: An Overview. Aquaculture Research 44, 950-965.

AOAC. 1990. Official methods of analysis of the association of analytical chemistry, 15th edition. Association of official analytical chemists (AOAC). Washington, DC.

Baba, E., Uluköy, G. and Öntaş, C. 2015. Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. Aquaculture 448, 476-482.

Bao, H.N.D., Shinomiya, Y., Ikeda, H. and Ohshima, T. 2009. Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina Velutipes*) cultured medium. Aquaculture 295, 243–249.

Benjakul, S. and Bauer, F. 2000. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles. Journal of the Science of Food and Agriculture 80, 1143-1150.

Bergmeyer, H.U., Bernt, E., Schmidt, F., Stork, H., 1974. *D*-glucose determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Bergmeyer, H.U., (Ed.), Methods of Enzymatic Analysis, Weinheim: Verlag Chemie,1196–1201.

Bhattacharjya, D.K., Paul, R.K., Miah, N. and Ahmed, K.U. 2015. Comparative study on nutritional composition of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Fr.) cultivated on different sawdust substrates. Bioresearch Communications 1, 93-98.

Bilen, S., Ünal, S. and Güvensoy, H. 2016. Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica Dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 454, 90-94.

Blaxall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology 5, 771-781.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilization the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72, 248-254.

Bui, H.T.D., Khosrvravi, S., Fournier, V., Herault, M. and Lee, K.J. 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabeam (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysate. Aquaculture 418-419, 11-16.

Cao, L., Wang, W., Yang, C., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z. and Li, D. 2007. Application of microbial phytase in fish feed. Enzyme and Microbial Technology40, 497-507.

Carbonero, E.R., Ruthes, A.C., Freitas, C.S., Utrilla, P., Gálvez, J., Da Silva, E.V., Sassaki, G.L., Gorin, P.A.J. and Iacomini, M. 2012. Chemical and biological properties of a highly branched β-glucan from edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. Carbohydrate and Polymers 90, 814-819.

Castro, R., M.C. Piazzon, M. Noya, J.M. Leiro, and J. Lamas. 2008. Isolation and molecular cloning of a fish myeloperoxidase. Molecular Immunology. 45 :428-437.

Chang, C.S., Huang, S.L., Chen, S. and Chen, S.N. 2013. Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on Orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, aquaculture. Fish and Shellfish Immunology 35, 115-125.

Chen, C., Wooster. G.A. ans Bowser. 2004. Comparaive blood chemistry and histopathology of Tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptocuccus iniae* or exposed to carbon tetrchoride, gentamicin, or copper sulfate. Aquaculture 239, 421-443.

Chen, J. and Seviour, R. 2007. Medicinal importance of fungal β-(1⟶3), (1⟶6)-glucans. Mycological Research 111, 635-652.

Cheng, Z., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., Li, M. and Zhang, J. 2010, Effects of dietary canola meal growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 305, 102-108.

Cheung, L.M., Cheung, P.C.K. and Ooi, V.E.C. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry 81, 249-255.

Chotikachinda, R., Tantikitti, C., Benjakul, S., Rustad, T. and Kumarnsit, E. 2013. Production of protein hydrolysates from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera as feeding attractants for asian seabass (*Lates calcarifer*). Aquaculture Nutrition 19, 773-784.

Corrêa, R.C.G., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R.M. and Ferreira, I.C.F.R. 2016. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (oyster mushroom) related with its chemical composition: A Review on the Past Decade Findings. Trends in Food Science and Technology 50, 103-117.

Da C.T. 2015. Evaluation of potential protein locally feed resources for tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in earthen pond-cultured in the Mekong delta, Vietnam. 2015. Journal of science, An Glang university 3(3), 161-172.

Daniel, J.R. 2003. Cultivation of oyster mushroom. The Pennsylvania State University: Information and Communication Technologies in the College of Agricultural Sciences. p. 11.

Daneshmand, A., Sadeghi, G.H., Karimi, A. and Vaziry, A. 2011. Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with and without probiotic on growth performance and some blood parameters of male broilers. Animal Feed Science Technology 170, 91-96.

Del Mar, E.G., Largman, C., Brodrick, J.W. and Geokas, M.C. 1979. A sensitive new substratefor chymotrypsin. Analytical Biochemistry 99, 316-320.

Demers, N.E. and Bayne, C.J. 1997. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Developmental and Comparative Immunology 21, 363-373.

El Enshasy, H.A. and Hatti-Kaul, R. 2013. Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. Trends in biotechnology 31, 668-677.

Erlanger, B., Kokowsky, N. and Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Arch. Biochem. Biophys. 95, 271-278.

FAO. 2010. Groundfish. European fish price report. Food and agriculture organization of the united nations.

FAO. 2012. Fishery Statistic. Available: http://www.fao.org/fishery/culturespicies/Pangasius_hypothalamus/en. Accessed: 1 July 2016.

FAO. 2016. Aquaculture feed and fertilizer resources information system. Available: http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/nile-tilapia/nutritional-requirements/. Accessed 20 June 2016.

Giannenas, I., Tontis, D., Tsalie, E., Chronis, E.F., Doukas, D. and Kyriazakis, I. 2010. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. Research in Veterinary Science 89, 78-84.

Guimarães, C.F.M., Eliane, T.M., Maria L.G.M., Môsar, L., Sergio, B.M. and Carlos, A.C.J. 2016. The chemical quality of frozen vetnamese *Pangasius hypophthalmus* fillets. Food Science Nutrition 4, 398-408.

Guinard, J., Miller, A.M., Mills, K., Wong, T., Lee, S.M., Sirimuangmoon, C., Schaefer, S.E. and Drescher, G. 2016. Consumer acceptance of dishes in which beef has been partially substituted with mushrooms and sodium has been reduced. Appetite 105, 449-459.

Hakim, R.R. and Jintasataporn, O. 2012. Supplemental Nang fa Mushroom (*pleurotus* spp.) in Pangasius catfish (*Pangasius hypophtalmus*) diets: Effect on Immunity and fillet quality. The 14th food innovation asia conference 2012. 14th-15th June 2012. BITEC Bangna, Bankok, Thailand.

Hardy, R.W. and Barrows, F.T. 2002. Diet Formulation and Manufacture. In: Fish Nutrition. 3 Edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds.), San Diego: Academic press.

Hevrøy, E.M., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., Hemre, G.-I., 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquatuculture Nutrition 11, 301-313.

Hung, P.V. and Nhi, N.N.Y. 2012. Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushrooms grown in the southern Vietnam. International Food Research Journal. 19, 611-615.

Islam, T., Yu, X. and Xu, B. 2016. Phenolic profiles, antioxidant capacities and metal chelating ability of edible mushrooms commonly consumed in china. LWT - Food Science and Technology 72, 423-31.

Izawa, N. 2007. Debittering od protein hydrolysates using aeromonas caviae aminopeptidase. Journal of Agriculture and Food Chemistry 45, 543-545.

Kakon, Aj., Choudhury, M.B.K. and Saha, S. 2012. Mushroom is an ideal food supplement. Journal of Dhaka national medical college & hospital 18, 58-62.

Kalač, P. 2009. Chemical composition and nutritional value of european species of wild growing mushrooms: A review. Food Chemistry 113, 9-16.

Katya, K., Yun, Y., Yun, H., Lee, J.Y. and Bai, S.C. 2014. Effects of dietary fermented by-product of mushroom, *Pleurotus ostreatus*, as an additive on growth, serological characteristics and nonspecific immune responses in juvenile Amur catfish, *Silurus asotus*. Aquaculture Research 47, 1622-1630.

Kavishree, S., Hemavathy, J., Lokesh, B.R., Shashirekha, M.N. and Rajarathnam, S. 2008. Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. Food chemistry 106, 597-602.

Khosravi, S., Bui, H.T.D., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Kim, S.S., Jeong, J.B. and Lee, K.J. 2015. Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 435, 371-376.

Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. Aquaculture 200, 181-201.

Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J. and Cahu, C. 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrachus labrax*) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology A 147 (1), 205-214.

Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. Journal of Agriculture and Food Chemistry 48, 657-666.

Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., Boeck, G.D. and Becker, K. 2012. Phytate and phytase in fish nutrition. Animal Physiology and Animail Nutrition 96, 335-364.

Li, Y., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Deng, J. and Cheng, Z. 2014. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replace fish meal on the activities of didgestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). 2014. Aquaculture research 45, 1051-1060.

Lotfy, S.N., Fadel, H.H.M. El-Ghorab, A.H. and Shaheen, M.S. 2015. Stability of encapsulated beef-like flavourings prepared from enzymatically hydrolysed mushroom proteins with other precursors under conventional and microwave heating. Food Chemistry 187, 7-13.

Ma, Y., Wang, L., Sun, X., Zhang, J., Wang, J. and Lim, Y. 2014. Study on hydrolysis conditions of flavourzyme in soybean polypeptide alcalase hydrolysate and soybean polypeptide refining process. Journal of Food Science and Technology 6, 1027-1032.

Mattila, P., Salo-Väänänen, P., Könkö, K., Aro, H. and Jalava, T. 2002. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. Journal of Agriculture Food Chemistry 50, 6419-6422.

Mendez, L.A., I Castro, C.A.S., Casso, R.B. and Leal, C.M.C. 2005. Effect of substrate and harvest on the amino acid profile of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Jounal of Food Composition Analysis 18, 447-450.

Meng, X., Liang, H. and Luo, L. 2016. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. Carbohydrate Research 424, 30-41.

Nakajima, K., Yoshie-Stark, Y. and Ogushi, M. 2009. Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates. Food Chemistry 114, 844-851.

Nguyen, T.H., Giri, A. and Ohshima, T. 2012. A Rapid HPLC post-column reaction analysis for the quantification of ergothioneine in edible mushrooms and in animals fed a diet supplemented with extracts from the processing waste of cultivated mushrooms. Food Chemistry 133, 585-591.

Nguyen, T.P. 2013. On-farm feed management practices for striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in Mekong River Delta, Viet Nam.Fisheries and Aquaculture Technical 83, 241–267.

O'Keefe, T. 2003. Plant protein ingredients for aquaculture feed: use considerations & quality standards. Seed 5, 1-5.

Opheim, M., Sterten, H., Øverland, M. and Kjos, N.P. 2016. Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein hydrolysate – effect on growth performance and intestinal morphometry in broiler chickens. Livestock Science 187, 138-145.

Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., Modanlow, M., Gholami, S. and Nemati, M. 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93, 1718-1726.

Pahila, J., Kaneda, H., Nagasaka, R., Koyama, T. and Ohshima. 2017. Effects of ergothioneine-rish mushroom extracts on lipid oxidation ans discoloration in Salmon muscle stored at low temperatures. Food Chemistry 233, 273-281.

Palupi, N.W. and Windrati, W.S. 2010. The effect of enzymatic hydrolysis on the properties of protein hydrolysate from paddy mushroom. Makara Teknology 14, 73-76.

Phan, L.T., Bui, T.M., Ingram, B.A., Nguyen, T.T.T., Gooley, G.J., Nguyen, H.V., Nguyen, P.T. and De Silva, S.S. 2009. Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong delta region, Vietnam. Aquaculture 306, 92-100.

Phumee, P., Wei, W.Y., Ramachandran, S. ans Hashim, R. 2011. Evaluation of soybean meal in the formulated diets for juvenile *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878). Aquaculture Nutrition 17, 214-222.

Poddar, K.H., Ames, M., Jen, C.H., Feeney, J., Wang, Y. and Cheskin, L.J. 2013. Positive effect of mushrooms substituted for meat on body weight, body composition, and health parameters. a 1-year randomized clinical trial. Appetite 71, 379-387.

Poojary, M.M., Orlien, V., Passamonti, P. and Olsen, K. 2017. Enzyme-assissted extraction the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. Food Chemistry 234, 236-244.

Qin, N., Li, D., Hong, H., Zhang, M.Y., Zhu, B. and Luo, Y. 2016. Effects of different methods on the flesh quality of grass crap (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 ˚C. Food Chemistry 291, 131-138.

Sahoo, P.K., Kumari, J. and Mishra, B.K. 2005. Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. Journal of Applied Ichthyology 21, 151-155.

Santigosa, E., Sánchez J., Mèdale, F., Kaushik, S., Pères-Sánchez, J. and Gallardo, M.A. 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea beam (*Sprus aurata*) in respone to dietary fish meal replacement by plants protein sources. Aquacultue 282, 68-74.

Silveira, M.L.L., Smiderle, F.R., Moraes, C.P., Borato, D.G., Baggio, C.H., Ruthes, A.C., Wisbeck, E., Sassaki, G.L., Cipriani, T.R., Furlan, S.A. and Iacomini, M. 2014. Structural

characterization and anti-inflammatory activity of a linear β-D-glucan isolated from *Pleurotus sajor-caju* Carbohydrate and Polymers 113, 588-596.

Singdevsachan, S.K., Auroshree, P., Mishra, J., Baliyarsingh, B., Tayung, K. and Thatoi, H. 2016. Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: A review Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 7, 1-14.

Santigosa, E., Sánchez J., Mèdale, F., Kaushik, S., Pères-Sánchez, J. and Gallardo, M.A. 2008. Mpdifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea beam (*Sparus aurata*) in respone to dietary fish meal replacement by plants protein sources. Aquacultue 282, 68-74.

Srichanun, M., Tantikitti, C., Vatanakul, V. and Musikarune, P. 2012. Digestive enzyme activity during ontogenetic development and effect of live feed in green catfish larvae (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). Songklanakarin Journal Science and Technology 34, 247-254.

Sutthi, N., Amornlerdpisan, D., Chitmanat, C. and Mengumphan, K. 2014. Annual growth and reproductive performance in an F2 catfish hybrid. Journal of Advance Agricultural Technology. 1, 113-118.

Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spevá**č**ek, J., Erban, V., Kováříková, E. and **Č**opíková, J. 2009. Glucans from Fruit Bodies of Cultivated Mushrooms *Pleurotus Ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. Carbohydrate and Polymer. 76, 548-556.

Tang, H., Wu, T., Zhao, Z., and Pan, X. 2008. Effects of fish protein hydrolysate on growth performace and humoral immube response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). Journal of Zhejiang University Science. 9, 684-690.

Taofiq, O., González-Paramás, A.M., Martins, A., Barreiro, M.F. and Ferreira, I.C.F.R. 2016. Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics-a review. Industrial Crops and Products 90, 38-48.

Thangthaeng, N., Miller, M.G., Gomes, S.M. and Shukitt-Hale, B. 2015. Daily supplementation with mushroom (*Agaricus bisporus*) improves balance and working memory in aged rats. Nutrition Research. 35, 1079-1084.

Thongprajukaew, K. and Kovitvadhi, U. 2013. Effects of sex on characteristics and expression levels of digestive enzymes in the adult guppy *Poecilia reticulata*. Zoological Studies 52, 3-8.

Tok, C.N., Jain, K.K., Prabu, D.L., Sahu, N., Munikumar, S., Pal, A.K., Siddiah, G.M. and Kumar, P. 2016. Metabolic and digestive enyme activity of *Pangasianodn hypophthalmus* (Sauvage, 1878) fingerlings in response to alternate feeding of different protein levels in the diet. Aquaculture Research, 1-17.

Tong, H., Xia, F., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D. and Sun, Xi. 2009. Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. Bioresource Technology. 100, 1682-1686.

Wang, Y., Wang, H., Yan, D., Wang, L., Sun, Z. and Sun, H. 2013. Lentinan extracted from shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*) improves the non-specific immunity of Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). Aquaculture 21, 1261-1277.

Weigand-Heller, A.J., Kris-Etherton, P.M. and Beelman, R.B. 2012. The bioavailability of ergothioneine from mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the acute effects on antioxidant capacity and biomarkers of inflammation. Preventive Medicine 54, 75-78.

Winkler, U.K., Stuckmann, M., 1979. Glycogen, hyaluronate and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. Journal of Bacteriology. 138, 663-670.

Woldegiorgis, A.Z., Abate, D., Haki, G.D. and Ziegler, G.R. 2014. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. Food Chemistry 157, 30-36.

Xu, H., Mu, Y., Zhang, Y., Li, J., Liang, M., Zheng, K. and Wei, Y. 2016. Graded levels of fish protein hydrolysate in high plant diets for turbot (*Scophthalmus maximus*): effects on growth performance and lipid accumulation. Aquaculture 454, 140-147.

Yang, C.C., Chen, S.N., Lu, C.L., Chen, S., Lai, K.C. and Liao, W.L. 2014. Effect of mushroom Beta glucan (MBG) on immune and haemocyte response in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Aquaculture Research & Development. 5, 275.

Yano, T. 1996. The nonspecific immune system: humoral defense. In: G. Iwama, and T. Nakanishi. The Fish Immune System: Organism, Pathogen, and Environment. Academic Press, San Diego.

Yuangsoi, B., Wongmaneeprateep, S. and Sangsue, D. 2016. The optimal dietary DL-methionine on growth performance, body composition and amino acids profile of Pangasius catfish (*Pangasius bocourti*). AACL Bioflux 9, 369-378.

Zhu, K., Zhou, H. and Qian, H. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ proteins hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. Process Biochemistry 41, 1296-1302.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบและอาหารทดลอง

1. การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1.) นำถ้วย (crucible) ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
2.) ชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยโดยละเอียด
3.) ชั่งตัวอย่างใส่ถ้วยประมาณ 1 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด
4.) นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
5.) นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง
6.) ทำซ้ำตามข้อ 1 ถึง 5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณ เปอร์เซ็นต์ ความชื้นด้วยสมการ

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

โดย a = น้ำหนักตัวอย่างและถ้วยก่อนอบแห้ง (กรัม)
b = น้ำหนักตัวอย่างและถ้วยหลังอบแห้ง (กรัม)
w = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1.) ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

2.) นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

3.) นำเข้าโถดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างเย็นแล้ว นำออกมาชั่งน้ำหนักโดยละเอียด

คำนวณ เปอร์เซ็นต์ เถ้าด้วยสมการ

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

โดย a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักภายหลังการเผา

w = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

3 การวิเคราะห์หาโปรตีน (ตามวิธีการของ AOAC, 1990)

สารเคมี

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

2.) สารเร่งร่วม (catalyst mixture): เตรียมโดย ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate, $CuSO_4$) 7 กรัม กับโพแตสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate, K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3.) โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45 เปอร์เซ็นต์ (sodium hydroxide, NaOH): เตรียมโดยละลาย 450 กรัมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ชนิดเกล็ดลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

4.) สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดยละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

5.) กรดบอริค (boric acid, H_3BO_3) 4 เปอร์เซ็นต์: เตรียมโดย ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรให้ร้อน แล้วใส่ผงกรดบอริคลงไป 40 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

6.) อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator): เตรียมโดยละลายเมทธิลเรด (metyl red) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีน บลู (methylene blue) 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

7.) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดย อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260-270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งโซดียมคาร์บอเนต 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

8.) เมทิลออเรจน์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator): เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1.) ขั้นตอนการย่อย

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม โดยชั่งตัวอย่างลงบนกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจนแล้วห่อตัวอย่างใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน เติมสารเร่งร่วม 3 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนกระทั่ง สารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์ใส (สีเขียวมรกต) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

2.) ขั้นตอนการกลั่น

นำหลอดโปรีตีนที่เย็นลงต่อเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพู่ซึ่งบรรจุกรดบอริค 40 มิลลิลิตร (ใส่อินดิเคเตอร์รวม 2-3 หยด) โดยให้ปลายของหลอดแก้วต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นให้อยู่ในกรดบอริค ทำการเลือกระดับการกลั่นที่ตั้งไว้ (โปรแกรม 1) ได้แก่ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยเครื่องกลั่นจะทำงานอัตโนมัติเป็นระยะเวลา 5 นาทีต่อตัวอย่าง จะสังเกตเห็นสารละลายมีสีดำ จนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา นำขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่องกลั่น

3.) ขั้นตอนการไตเตรท

นำสารที่ได้ไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน จนถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนเป็นชมพูอ่อนบันทึกปริมาตรของกรดเกลือมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณโปรตีนต่อไป

การคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนด้วยสมการ

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

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทกับ Blank

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือ (นอร์มอล๗

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

4.) การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล (จากสารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีส้มแดง หรือจนไม่เปลี่ยน) คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$

นอร์มอลลิตี้ของกรดเกลือ

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

4 การวิเคราะห์หาไขมันรวม

อุปกรณ์และสารเคมี

1.) เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec CU 8000)
2.) ถ้วยสกัดไขมัน (cup) และลูกแก้ว
3.) ไส้กรองสาร (thimble)
4.) โถดูดความชื้น
5.) ตู้อบ
6.) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
7.) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1.) อบถ้วยสกัดไขมันที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา
2.) ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วให้ได้น้ำหนักคงที่ (w_1)
3.) ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่ในกระดาษกรองประมาณ 1 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิด
4.) เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 80 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างในถ้วยสกัดไขมัน
5.) ใส่ตัวอย่างพร้อมไส้กรอง ในถ้วยสกัดไขมัน นำไปใส่ประกอบเข้าเครื่องสกัดไขมัน
6.) เครื่องสกัดไขมันทำงานอัตโนมัติใช้ระยะเวลา 1 ชั่วโมง 10 นาที มีขั้นตอนดังนี้ boiling หรือต้มเดือด 20 นาที rinsing เพื่อชะสารออกจากตัวอย่าง 40 นาที และ solvent recovery เพื่อระเหย 10 นาที

7.) นำถ้วยสกัดไขมันออกจากเครื่องสกัดไขมัน แล้วนำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส จนแห้ง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

8.) นำถ้วยสกัดไขมันและไขมันหลังอบแห้งมาชั่งและบันทึกน้ำหนัก (w_3)

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมัน

$$= \frac{(w_3-w_1)}{w_2} \times 100$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันและน้ำหนักไขมันหลังอบแห้ง

w_2 = น้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยสกัดไขมัน

w_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์พลังงาน (Bomb Calorimeter)

1.) ชั่งตัวอย่างที่อัดเม็ด จากนั้นใส่ตัวอย่างในถ้วยโลหะ

2.) นำถ้วยใส่ตัวอย่างวางในช่องใส่ถ้วย จากนั้นจึงต่อลวดความยาว 6 ซม. เข้ากับขั้วไฟฟ้า แล้วจึงต่อด้ายความยาว 12 ซม. เข้ากับลวดโดยนำปลายด้ายด้านหนึ่งวางในถ้วยใส่ตัวอย่าง วางทับด้วยตัวอย่าง

3.) เติมน้ำใส่ในถัง bomb 1 มิลลิลิตร ปิดฝา แล้วจึงเติมออกซิเจนจนความดัน 20 บาร์

4.) เติมน้ำในถังประมาณ 2 ลิตร ยกตั้งในเครื่อง แล้วยก bomb ใส่ในถังน้ำ สังเกตไม่ให้มีฟองอากาศ

5.) ตรวจสอบวงจรไฟฟ้าโดยปุ่ม test switch ถ้าปกติหลอดไฟจะติด

6.) ปรับตั้ง Thermometer bridge เพื่อปรับอุณหภูมิของในถังที่มี bomb กับน้ำหล่อเย็นให้มีค่าเท่ากันโดยการหมุนปุ่ม balance

7.) บันทึกอุณหภูมิที่อ่านจาก Thermometer reader/vibrator ความละเอียด 0.001 องศาเซลเซียส

8.) เมื่ออุณหภูมิของน้ำเท่ากันแล้ว กด fire switch เพื่อสันดาปค้างไว้ประมาณ 3 วินาที บันทึกอุณหภูมิเริ่มต้น

9.) หลังจากจุดระเบิดแล้ว 5 นาที ทั้งบันทึกค่า ยกฝาเครื่องขึ้น นำ bomb ขึ้นมาตรวจภายในห้องไหม้ และวัดความยาวของลวดที่เหลือ สังเกตผลการสันดาป

10.) ถ้าภายใน bomb มีเขม่าดำ หรือเห็นเศษตัวอย่างค้างอยู่ แสดงว่าการสันดาปไม่สมบูรณ์ ทำซ้ำขั้นตอนที่ 1-9 หากไม่มีการคำนวณผลการทดลองโดย

ค่าพลังงานความร้อน

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

Heat capacity

$$= \frac{\text{(26441.6 x น้ำหนัก Benzoic) +58.58+12.55 จูลส์/องศาเซลเซียส}}{\text{อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น}}$$

ภาคผนวก ข

การวัดระดับกิจกรรมเอนไซม์

1. การวัดปริมาณโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์

วัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดได้จากอวัยวะตัวอย่าง ด้วยวิธี Bradford (1976) ดูดตัวอย่างเอนไซม์ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:100 ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ใส่ลงใน microplate แล้วเติม Bradford's reagent ปริมาณ 325 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณปริมาณโปรตีนเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานอัลบูมิน (Bovine serum albumin; BSA) เพื่อคำนวณค่า specific enzyme activity (unit/ mg protein)

2. การวัดกิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน (Erlanger et al.,1961)

วิเคราะห์เอนไซม์ทริปซินโดยทำปฏิกิริยาซับสเตรต Benzoyl-L-Arg-*p*-nitroanilide (BAPNA) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 480 ไมโครลิตร เอนไซม์ 20 บ่มระยะเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย TCA ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร จากนั้นหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใส วัดค่าดูดกลืนแสงช 410 นาโนเมตร

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) คำนวณ

$$= \frac{\text{OD 410 นาโนเมตร x 1000 x ปริมาณรวมของปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)}}{\text{8800 x ระยะเวลาที่บ่ม (นาที) x ปริมาณโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์ (มิลลิกรัม)}}$$

3. การวัดกิจกรรมเอนไซม์ไคโมทริปซิน (Del Mar et al.,1979)

วิเคราะห์เอนไซม์ทริปซินโดยทำปฏิกิริยาซับสเตรต Succinyl-Ala-Ala-Pro-phenylalanine-*p*-nitroanilid (SAPNA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ใช้ปริมาตร 480 ไมโครลิตรต่อเอนไซม์ปริมาณ 20 ไมโครลิตร บ่มระยะเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย TCA ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 50 ไมโครลิตร จากนั้นหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใส วัดค่าดูดกลืนแสง 410 นาโนเมตร

4. การวัดกิจกรรมไลเปส (Winkler and Stuckmann,1979)

ตัวอย่างเอนไซม์ 5 เท่า วิเคราะห์เอนไซม์ไลเปสโดยทำปฏิกิริยาซับสเตรต *p*-Nitrophenylpalmitate ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ใช้ปริมาณ 50 ไมโครลิตรต่อปริมาณเอนไซม์ปริมาณ 25 ไมโครลิตร บ่มระยะเวลา 30 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย Na_2CO_3 (sodium carbonate) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาณ 125 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยง 12000 รอบต่อนาที ดูดส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader และคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน p-nitrophenol 0-100 ไมโครโมลาร์

5. การวัดกิจกรรมอะไมเลส (Bergmeyer et al.,1974)

ตัวอย่างเอนไซม์ 5 เท่า วิเคราะห์เอนไซม์อะไมเลสโดยทำปฏิกิริยาซับสเตรต Soluble starch (น้ำแป้ง) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ทำละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ในสภาวะที่เหมาะสม (ตารางที่ 8) ใช้ปริมาณ 250 ไมโครลิตรต่อปริมาณเอนไซม์ปริมาณ 50 ไมโครลิตร หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 500 ไมโครลิตร และต้มในน้ำเดือดนาน 95 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วจึงเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโทส (maltose) 0-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นาย วิศรุต ช่อเส้ง

รหัสนักศึกษา 5710620020

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์น้ำ)	มหาวิทยาลัยศิลปากร	2555

ทุนการศึกษา

- ทุนสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครนทร์
- ทุนอุดหนุนการวิจัยบัณฑิตวิทยาลัย