KHON KAEN AGR. J. 48 (5): 1098-1123 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.99.

สัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลาช่อน

Optimum of protein: energy ratios for snakehead fish (*Channa striata*) diet

ผเด็จ หงษ์มณี[1], สุทธิศักดิ์ บุญยัง[2], สุธี วงศ์มณีประทีป[1] และ บัณฑิต ยวงสร้อย[1*]

Phadet Hongmanee[1], Suttisak Boonyoung[2], Sutee Wongmaneeprateep[1] and Bundit Yuangsoi[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษาสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลาช่อนวัยอ่อนที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยต่อตัว 3.2±0.02 กรัม ทำการแบ่งชุดอาหารทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุมมีระดับโปรตีนร้อยละ 42.05 มีระดับสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ 93 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี และชุดสูตรทดลอง (LP5), (LP10), (LP15) และ (LP20) มีระดับโปรตีนร้อยละ 39.95 , 37.85 , 35.74 และ 33.64 และมีระดับสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ 89, 84, 80 และ 76 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาช่อนที่ได้รับอาหารชุดทดลอง LP 20 และ LP 15 มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยชุดควบคุมให้ค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับชุดทดลอง แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดทดลอง LP5 และ LP10 ($P>0.05$) สำหรับอัตรารอด อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองต่าง ๆ ($P>0.05$)) ดังนั้นจากผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นได้ว่าสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 84 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี (LP10) ที่มีการลดระดับโปรตีนที่ร้อยละไม่เกิน 10 เป็นระดับที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการลดปริมาณโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตในอาหารช่อน ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต, อัตรารอดตาย, อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาช่อน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมอีกทั้งยังสามารถลดต้นทุนการผลิตอาหารปลาช่อนได้ร้อยละ 3.23

คำสำคัญ: ปลาช่อน, โปรตีน, พลังงาน, การเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ABSTRACT: The study was conducted to evaluate the optimal level of protein to energy (P/E) ratio of diets for fingerling snakehead fish (initial weight 3.2±0.02 g/fish). The trials had five different diets: The protein contents of diets were 42.05 %CP (control), 39.95 %CP (LP5), 37.85 %CP (LP10), 35.74 %CP (LP15) and 33.64 %CP (LP20). The dietary P/E ratio of diets were 93, 89, 84, 80 and 76 mg protein/kcal, respectively. After 8 weeks of trails, fish were fed with LP20 and LP15 group diets have resulted in significant lower weight gain (WG), average daily gain (ADG) and specific growth rate (SGR) comparing to control and other trial groups ($P<0.05$). The result of control groups showed the highest weight gain, ADG and SGR, however there were no significant differences comparing

Received August 6, 2019
Accepted March 9, 2020

[1] สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen
[2] บริษัทคาร์กิลล์มีทส์ (ประเทศไทย), สระบุรี
Cargill Meats (Thailand) Co., Ltd, Saraburi
* Corresponding author: bundyu@kku.ac.th

with LP5 and LP10 group (P>0.05). The outcomes of feed conversion ratio (FCR), survival rate (SR) and protein efficiency ratio (PER) significantly resulted in no differences among all trials (P>0.05). This study indicated that P/E ratio at 84 mg protein/kcal, which was substituted protein by carbohydrate level at 10% (LP10), is a proper suitable ratio to reduce protein level by carbohydrate in diet for fingerling snakehead fish. In addition, by using this ratio gives no significant effects to growth, FCR, SR and PER comparing to control groups plus it reduces feed cost at 3.23 percentages.
Keywords: snakehead fish, protein, energy, growth, feed utilization

บทนำ

ปลาช่อน (*Channa striatus* Bloch,1797) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากได้รับความนิยมนำมาบริโภคกันอย่างแพร่หลาย แต่จากปริมาณของปลาที่จับได้จากธรรมชาติมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจนทุกปีโดยพบว่าจากปี 2555-2560 ปริมาณปลาที่จับจากธรรมชาติลดลงจาก 24,700 ตัน เหลือ 14,500 ตัน (กรมประมง, 2561) ดังนั้นเพื่อทดแทนปริมาณความต้องการของผู้บริโภคจึงส่งผลทำให้เกิดธุรกิจการเพาะพันธุ์ การอนุบาลลูกปลา และการเลี้ยงปลาช่อนในเชิงพาณิชย์ จากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบัน ทั้งเพื่อการส่งออกและการบริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะธุรกิจอาหารสัตว์น้ำซึ่งมีแนวโน้มการขยายตัวทางธุรกิจอย่างรวดเร็ว และเมื่อกล่าวถึงต้นทุนหลักในการผลิตสัตว์น้ำพบว่า อาหารเป็นต้นทุนหลักของปัจจัยการผลิต (Sagada et al., 2017) หรือประมาณร้อยละ 60 ของต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำทั้งหมด (Zehra and Khan, 2012) ดังนั้นการพัฒนาสูตรอาหารสัตว์น้ำในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นไปที่คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตและวิตามินที่สัตว์น้ำต้องการ ซึ่งพบว่าโปรตีนเป็นสารอาหารหลักในอาหารสัตว์น้ำ โดยใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ แต่เนื่องจากวิกฤตของราคาปลาป่นในปัจจุบันที่มีราคาสูงรวมทั้งปริมาณของปลาที่นำมาผลิตเป็นปลาป่นมีแนวโน้มลดลง อีกทั้งการใช้ปลาป่นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ถือได้ว่าเป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่สิ้นเปลือง (Wasteful) และผิดศีลธรรม (Muzinic et al., 2006) ดังนั้นการใช้ปลาป่นเพื่อผลิตอาหารสัตว์น้ำจึงเป็นประเด็นที่ถูกให้ความสนใจเป็นพิเศษในเรื่องการใช้ทรัพยากรธรรมชาติในอนาคตที่มีอยู่อย่างจำกัดให้เกิดประโยชน์สูงสุด เป็นสาเหตุให้นักโภชนาการอาหารสัตว์น้ำจึงต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหารให้เกิดประโยชน์และคุ้มค่ามากที่สุด โปรตีนในอาหารจึงควรนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในตัวมากกว่าที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Shiau, 1997; Mohapatra et al., 2003) เพื่อให้สัตว์น้ำใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้รับจากอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด นักโภชนาการอาหารปลาจึงต้องพิจารณาถึงแหล่งพลังงานจากวัตถุดิบประเภทอื่นๆ ที่ไม่ใช่โปรตีน (None-protein energy) เช่น ไขมันและคาร์โบไฮเดรต (El-sayed and Garling, 1988; Chou and Shiau, 1996; Nankervis et al., 2000; Watanabe et al., 2001 อ้างโดย Borba et al., 2006) โดยการใช้แหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนในระดับและ สัดส่วนที่เหมาะสมเพื่อทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้สูงสุด ซึ่งเรียกว่าการสำรองโปรตีน (Protein sparing effect) (Stone et al., 2003; Tan et al., 2007) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลาช่อนวัยอ่อนเพื่อใช้ในการลดต้นทุนการผลิตอาหาร

วิธีการศึกษา

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่ ชุดสูตรอาหารควบคุม (Control diet) และชุดสูตรอาหารที่มีการลดระดับโปรตีนที่ระดับร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ 93, 89, 84, 80 และ 76 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลอรี ตามลำดับ

อาหารทดลอง

วัตถุดิบหลักที่ใช้ทดแทนแหล่งพลังงานของโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ ข้าวโพดป่น และมันสำปะหลังจากบริษัท ไทยยูเนี่ยน ฟีดมิลล์ จำกัด (มหาชน) สูตรอาหารทดลองได้ทำการลดปริมาณโปรตีนในสูตรอาหารที่ระดับร้อยละ 5 10 15 และ 20 โดยทำการลดปริมาณปลาป่น จากนั้นมีการเพิ่มปริมาณมันสำปะหลังและข้าวโพดเพื่อใช้เป็นแหล่งของพลังงาน ดังแสดงในตารางที่ 1 (**Table 1**) โดยชุดการทดลองที่ 1 คือ สูตรควบคุม เป็นสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 42.05 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 93 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี ชุดการทดลองที่ 2 (LP5) สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 39.95 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 89 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี ชุดการทดลองที่ 3 (LP10) สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 37.85 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 84 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลอรี ชุดการทดลองที่ 4 (LP15) สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 35.74 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 80 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี และชุดการทดลองที่ 5 (LP20) สูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนในอาหาร 33.64 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และมีสัดส่วนของโปรตีน/พลังงานที่ระดับ 76 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลอรี

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets

Ingredients	Experimental Diets (%)				
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20
Fish meal (64.02 %CP)	20	18	16	14	12
Soybean meal (46.70 %CP)	30	30	30	30	30
Poultry meal (65.43 %CP)	22	20.45	19	17.4	15.9
Corn meal	7	8.86	10.12	11.43	12.85
Cassava starch	11.5	13	15	17.1	19
Soya oil	4	4	4	4	4
Fish oil	2	2	2	2	2
Dicalciumphosphate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamin mix[1]	1	1	1	1	1
Mineral mix[2]	1	1	1	1	1
Methionine	0	0.05	0.1	0.15	0.19
Lysine	0	0.14	0.28	0.42	0.56
Total	100	100	100	100	100

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20);

[1] Vitamin mixture provided the following per kg diet: vitamin A 1,130,000 IU, vitamin D3 1,043,170 IU, vitamin E 30,000 IU, vitamin K3 3.25 g, vitamin B1 12 g, vitamin B2 5 g, vitamin B6 30 g, vitamin B12 12 g, vitamin C 30 g, chollnechloride 5 g, niacin 10 g, pantothenic acid 27 g; [2] Mineral mix provided the following per kg diet: Na 3.278 g, Mg 25.25 g, K 76.612 g, Ca 49.096 g, Fe 4.821 g, Zn 0.667 g, Mn 0.433 g, Cu 0.069 g and I 0.015 g.

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1098-1123 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.99.

Table 1 Ingredients and chemical composition of experimental diets

Ingredients	Experimental Diets (%)				
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20
Chemical composition					
Moisture (%)	8.07	8.18	8.28	8.39	8.50
Protein (%)	42.05	39.95	37.85	35.74	33.64
Fat (%)	10.61	10.37	10.13	9.86	9.61
Fiber (%)	2.61	2.68	2.76	2.84	2.92
Ash (%)	8.67	8.21	7.76	7.3	6.85
Nitrogen free extract (%)	27.1	29.61	32.09	34.68	37.02
Digestible Energy (Kcal/100g)	314.33	310.07	305.79	301.28	296.98
Gross Energy (Kcal/g)	4.52	4.51	4.51	4.44	4.44
Protein to Energy ratio (mg protein $kcal^{-1}$ GE)	93	89	84	80	76
Feed Cost (THB; Baht/Kg)	35.60	34.94	34.45	33.96	33.43

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20);

[1] Vitamin mixture provided the following per kg diet: vitamin A 1,130,000 IU, vitamin D3 1,043,170 IU, vitamin E 30,000 IU, vitamin K3 3.25 g, vitamin B1 12 g, vitamin B2 5 g, vitamin B6 30 g, vitamin B12 12 g, vitamin C 30 g, chollnechloride 5 g, niacin 10 g, pantothenic acid 27 g; [2] Mineral mix provided the following per kg diet: Na 3.278 g, Mg 25.25 g, K 76.612 g, Ca 49.096 g, Fe 4.821 g, Zn 0.667 g, Mn 0.433 g, Cu 0.069 g and I 0.015 g.

การเตรียมอาหารทดลองดำเนินการ ณ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร โดยนำวัตถุดิบต่างๆ ผสมด้วยเครื่องผสมอาหารแบบแนวนอน เติมน้ำร้อยละ 30-35 จนกระทั่งผสมเป็นเนื้อเดียวกัน นำเข้าเครื่องอัดอาหารปลาแบบลอยน้ำ (Floating Pellet Extruder) จากนั้นนำอาหารไปอบร้อนด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อลดความชื้นให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 บรรจุอาหารทดลองในถุงที่ปิดสนิท และเก็บที่ภายใต้อุณหภูมิห้องจนกระทั่งนำมาใช้

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนด้วยวิธี *In Vitro* Digestibility

การศึกษาความประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์จากปลาช่อน ด้วยวิธี *In vitro* digestibility ได้ดัดแปลงวิธีการของ Rungruang-sak-Torissenet et al. (2002) โดยนำตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดและชั่งน้ำหนัก 5 มิลลิกรัม ผสมด้วย 4,950 ไมโครลิตร 10 มิลลิโมล phosphate buffer pH8 จากนั้นเติมคลอแรมเฟนิคอล (ละลายใน 95% Ethanol) 50 ไมโครลิตร และบ่มในเครื่องเขย่า 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด เติม crude enzyme และบ่มเครื่องเขย่า 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา ปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกเอาส่วนใสเพื่อเก็บไว้ใช้ในการวิเคราะห์กรดอะมิโนอิสระที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Ninhydrin Test ซึ่งนำค่าดูดกลืนแสง มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของ DL- alanine (0-3 มิลลิกรัม/ลิตร)

สภาวะการเลี้ยง

นำลูกพันธุ์ปลาช่อนที่ผ่านการฝึกอาหารเม็ดสำเร็จรูป จากฟาร์มเอกชนของจังหวัดพิจิตร ขนาดน้ำหนักประมาณ 3 กรัม จำนวน 500 ตัว เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 2 ถัง แบ่งถังละ 250 ตัว ในโรงเรือนปิด ณ สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นชินกับอาหารชุดควบคุมและสภาพแวดล้อมการเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 1 สัปดาห์ ดำเนินการทดลองโดยใช้ลูกปลาช่อนที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 3.2±0.02 กรัมต่อตัว จำนวน 150 ตัว สุ่มใส่ตู้ทดลองกระจกขนาด 30x60x37.5 เซนติเมตรซึ่งบรรจุน้ำปริมาตร 30 ลิตรตู้ละ 10 ตัว จำนวน 15 ตู้ พร้อมทั้งให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ให้อาหารทดลองทั้ง 5 สูตร วันละ 2 ครั้ง (8.00 น. และ 17.00 น.) ในปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน ในแต่ละวันทำการจดบันทึกจำนวนปลาตาย ปริมาณอาหารต่อวัน และตรวจวัดคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ ทุกสัปดาห์มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปริมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาครั้งนี้มีการดูแลและจัดการด้านการเลี้ยงตามมาตรฐานและเป็นไปตามเกณฑ์ที่ว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ

การเก็บข้อมูล

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักปลาช่อนก่อนเริ่มทำการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง ทุกๆ 2 สัปดาห์ ตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง เพื่อประเมินการ เจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์จากอาหาร ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; WG; กรัม/ตัว) การเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG; กรัม/ตัว/วัน) อัตราการ เจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR; %/วัน) อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) อัตราการรอดตาย (Survival rate; SR; %) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และพลังงานในตัวปลา เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio; PER)

หลังสิ้นสุดการทดลองทำการแยกเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาแต่ละชุดการทดลอง โดยเก็บเลือดปลาใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วแช่ในน้ำแข็ง นำเลือดปลาไปทำการแยกซีรัม (Serum) โดยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 5,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บส่วนที่เป็นซีรัมใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด (Blood glucose) การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสตามคำอธิบายของ Clow et al. (2004) โดยเตรียมสารละลาย 250 mmol l^{-1} imidazole, 5 mmol l^{-1} $MgSO_4$, 10 mmol l^{-1} ATP และ 0.8 mmol l^{-1} $NADP^+$ จากนั้นนำซีรัมปริมาณ 100 ไมโครลิตรมาเจือจางด้วยสารละลายที่เตรียมไว้ในสัดส่วน 1 ต่อ 10 หลังจากนั้นเติม glucose-6-phosphate dehydrogenase ปริมาณ 10 ไมโครลิตร หลังบ่มไว้ 10 นาที นำไปอ่านค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 340 nm

สำหรับกระเพาะและลำไส้ของปลาช่อนจะถูกนำมาบดด้วยเครื่อง Homogenizer ขณะที่บดจะแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสที่อุณภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น Crude extract สำหรับวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ต่อไป การวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ Protease และ Amylase ตามวิธีการของ Areekijseree et al. (2004)

สำหรับตับจะนำไปวิเคราะห์ดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) การสะสมไกลโคเจนในตับ (Liver Glycogen) ตามคำอธิบายของ Rosas et al. (2002)และลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของตับ (Liver Histology) ตามคำอธิบายของ Prisingkorn (2018).

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1098-1123 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.99.

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลาช่อน ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยต่อตัว 3.2±0.02 กรัม โดยให้อาหาร 5 สูตรทดลอง โดยประกอบด้วย ชุดควบคุม (Control) ที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 42.05 ซึ่งมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 93 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลอรี่ สำหรับชุดทดลองอื่นๆ มีการลดระดับของโปรตีนลงที่ร้อยละ 5 (LP5), 10 (LP10), 15 (LP15) และ 20 (LP20) ซึ่งมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 89, 84, 80 และ 76 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี่ ตามลำดับ (**Table 1**)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของอาหารในหลอดทดลอง (*In vitro* Digestibility) พบว่า อาหารปลาช่อนทั้ง 5 สูตรทดลอง มีค่าระดับการย่อยได้ของโปรตีนใกล้เคียงกัน และไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (**Table 2**) ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของโปรตีนในอาหารเป็นแหล่งเดียวกัน คือ ปลาป่น เนื้อไก่ป่น กากถั่วเหลือง ข้าวโพด และโปรตีนที่มาจากส่วนของแป้งมันสำปะหลัง แม้ว่าแป้งมันสำปะหลังและข้าวโพดจะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นในอาหารที่มีระดับของโปรตีนต่ำลง แต่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้ในอาหารทดลองครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของอาหารในหลอดทดลอง (*In vitro* Digestibility) นี้เป็นตัวชี้วัดถึงการย่อยได้ของวัตถุดิบในอาหารแต่ละประเภท โดยปกติโปรตีนในปลาป่นหรือโปรตีนจากสัตว์จะมีประสิทธิภาพการย่อยได้สูงกว่าโปรตีนจากพืชซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zerin et al. (2010) รายงานว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแบบ *in vitro* protein digestibility จากวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ที่สกัดได้จากระบบย่อยอาหารของปลานิล พบว่าวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ เช่น เนื้อป่น และปลาป่น (95.12 และ 86.02 เปอร์เซ็นต์) มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่าการย่อยได้ของวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช เช่นกากถั่วเหลือง และกาก mustard สกัดน้ำมัน (78.27 และ 67.95 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ Analia et al. (2009) ได้รายงานว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vitro* protein digestibility ในกุ้ง *Artemesia longinaris* มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นสูงที่สุดที่ระดับ 92 เปอร์เซ็นต์ และกากถั่วเหลืองมีประสิทธิภาพการย่อยต่ำที่สุดที่ระดับ 63% ดังนั้นจากการทดลองครั้งนี้แหล่งของโปรตีนจากกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งของวัตถุดิบที่มีประสิทธิภาพการย่อยต่ำกว่าปลาป่นของทุกสูตรอาหารมีปริมาณเท่ากันจึงมีผลทำให้อาหารทุกชุดการทดลองมีประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลองได้ไม่แตกต่างกัน นั่นแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จากระบบทางเดินอาหารของปลาช่อนในครั้งนี้มีความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนที่มาจากวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ ในอาหาร รวมถึงการย่อยได้ของแป้งมันสำปะหลังและข้าวโพด ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่นำมาทดแทนโปรตีนสำหรับอาหารปลาช่อนได้ไม่แตกต่างกัน

Table 2 *In vitro* protein digestibility in snakehead fish diets

In vitro Digestibility	Experimental Diets					*p-value*
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20	
Protein (mg/ml of 100 µg)	0.65±0.12	0.64±0.04	0.62±0.27	0.65±0.10	0.66±0.07	0.997

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20)
Values are presented as means ± SD of three replicates. Values within the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

เมื่อสิ้นสุดระยะการทดลอง 8 สัปดาห์พบว่า น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย (WG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ของปลาช่อนในชุดควบคุมมีค่าสูงสุดที่ 9.41±2.13 กรัม, 0.17±0.04 กรัมต่อวัน และ 2.42±0.03 เปอร์เซ็นต์/วัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับชุดทดลอง LP5 และ LP10 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับชุดทดลองที่มีการลดสัดส่วนของโปรตีนมากกว่าร้อยละ 10 โดยในชุดทดลอง LP20 มีค่าน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันต่ำที่สุด (6.91±0.21 กรัม, 0.12 ±0.01 กรัม/วัน และ 2.05±0.04 เปอร์เซ็นต์/วัน) เมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่น ๆ สำหรับอัตราการรอดตาย (SR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง (P>0.05) (**Table 3**) จากผลการเจริญเติบโตในการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า ชุดทดลอง LP5 และ LP10 ที่มีโปรตีนร้อยละ 39.95 และ 37.85 และมีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ 89 และ 84 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี่ ให้ผลการเจริญเติบโตในทิศทางเดียวกันกับชุดควบคุม ในขณะที่การลดระดับโปรตีนที่มากกว่าร้อยละ 10 (สัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานน้อยกว่า 84 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี่) ในสูตรอาหารปลาช่อนแสดงผลการเจริญเติบโตที่ลดลงหรือเป็นไปในทิศทางลบ นั่นแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่าอาหารชุดทดลองที่มีการลดระดับโปรตีนมากกว่าร้อยละ 10 น่าจะมีผลมาจากความสามารถในการนำมาใช้ได้ของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร (Wilson, 1994; Ren et al., 2015) โดยเฉพาะกลุ่มของปลากินเนื้อ (Carnivorous fish) ที่มีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้อย่างจำกัด และอาจเป็นไปได้อีกว่าระดับพลังงานและสารอาหารจากชุดทดลองที่มีการลดระดับโปรตีนมากกว่าร้อยละ 10 ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตสำหรับปลาช่อน ซึ่งสอดคล้องกับ Samantaray and Mohanty (1997) ที่เคยรายงานว่าอาหารที่ระดับโปรตีนที่ร้อยละ 40 และพลังงาน 440 กิโลแคลอรี่ ไขมันที่ร้อยละ 13 และสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 90.9 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี่ จะให้ผลการเจริญเติบโตของปลาช่อนระยะ fingerling ดีที่สุด นอกจากนี้ยังรายงานการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงาน ที่เหมาะสมสำหรับปลาเรนโบว์เทราซ์ขนาด 81.5 ± 10.5 กรัม อยู่ที่ระดับ 81.4 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลอรี่ (Ahmadi and Alizadeh, 2004) ขณะที่ปลา Japanese sea bass ระยะ Juvenile ระดับที่แนะนำคือ 25.9 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลจูล (108.44 มิลลิกรัมโปรตีน/กิโลแคลลอรี่) ที่ระดับไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ และ โปรตีน 41 เปอร์เซ็นต์ (Ai et al., 2004) ทั้งนี้เนื่องจากการลดสัดส่วนโปรตีนต่อพลังงาน ด้วยการลดระดับโปรตีนในอาหารลงนั้นไม่ได้ส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร หรือการเจริญเติบโต แต่เป็นการลดต้นทุนด้านอาหารให้แก่เกษตรผู้เลี้ยงปลา อีกทั้งยังช่วยลดผลกระทบจากการปลดปล่อยของเสียไนโตรเจนสู่สิ่งแวดล้อม ดังที่เคยมีรายงานในปลา Rainbow trout ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการลดปริมาณโปรตีนจาก 47-48 เปอร์เซ็นต์ เป็น 44 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มไขมันเพื่อทดแทนแหล่งพลังงาน สามารถลดการปลดปล่อยไนโตรเจนได้ 27 เปอร์เซ็นต์ (Yigit et al., 2002) ซึ่งจะทำให้เกษตรกรนั้นสามารถควบคุมคุณภาพน้ำตลอดการเลี้ยงปลาได้นานขึ้น อีกทั้งประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนในอาหารให้เกิดประโยชน์มีความคุ้มค่ามากที่สุด โปรตีนในอาหารจึงควรนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนในตัวมากกว่าที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงาน (Shiau, 1997; Mohapatra et al., 2003) อย่างไรก็ตามการทดแทนโปรตีนด้วยแหล่งพลังงานอื่นๆในอาหารนั้นควรอยู่ในระดับที่เหมาะสม โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนของปลา หากมีการทดแทนพลังงานมากเกินไปสามารถส่งผลกระทบในเชิงลบต่อปลาได้ เช่นกัน เนื่องจากพลังงานส่วนเกินในอาหารจะถูกนำไปสะสมเป็นไขมันในร่างกาย และลดการเจริญเติบโต (El-Dakar, 1994; Van der Meer et al., 1997; Shalaby, 1998; Shyong et al., 1998; El-Dakar et al., 2003)

Table 3 The effect of protein to energy ratio on growth parameters and feed utilization in snakehead fish

Parameters	Experimental Diets					*p-value*
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20	
IW (g/fish)	3.23±0.01	3.22±0.00	3.22±0.00	3.22±0.01	3.22±0.01	0.415
WG (g/fish)	9.41±2.13^{b}	9.32±1.03^{b}	8.92±1.08^{b}	6.97±1.13^{a}	6.91±0.21^{a}	0.018
ADG (g/fish/day)	0.17±0.04^{b}	0.17±0.02^{b}	0.16±0.02^{b}	0.12±0.02^{a}	0.12±0.01^{a}	0.018
SGR (%/day)	2.42±0.30^{b}	2.42±0.14^{b}	2.36±0.16^{b}	2.05±0.20^{a}	2.05±0.04^{a}	0.014
SR (%)	66.67±5.77	80.00±8.16	87.50±12.58	72.50±20.62	82.50±22.17	0.458
FCR	2.70±1.08	2.14±0.48	1.88±0.61	3.37±1.37	2.17±0.95	0.237
PER	1.15±0.02	1.23±034	1.69±0.11	1.07±0.28	1.33±0.45	0.197

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20)
Initial weight (IW), weight gain (WG), average daily gain (ADG), specific growth rate (SGR), survival rate (SR), feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER). Values are presented as means ± SD of three replicates. Values within the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

ผลการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ Protease และ Amylase ของระบบย่อยอาหารของปลาช่อนที่ได้รับอาหารที่มีระดับของสัดส่วนโปรตีนต่อพลังงานที่แตกต่างกัน (**Table 4**) พบว่า ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ถึงอย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากค่ากิจกรรมเอนไซม์ Protease and amylase ต่อการตอบสนองการใช้ประโยชน์จากโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต สามารถสังเกตได้ว่ากิจกรรมเอนไซม์ Protease มีแนวโน้มแปรผันตามปริมาณของระดับโปรตีนในอาหาร และแหล่งของโปรตีนที่นำมาพิจารณาเป็นวัตถุดิบในอาหารก็มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ Protease ด้วยเช่นกัน ดังที่เคยรายงานในปลา Rainbow trout ปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากปลาป่น จะมีค่าการทำงานของเอนไซม์ Protease สูงที่สุดในช่วง 3 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืชมีค่าการทำงานของเอนไซม์ Protease ต่ำสุด (Santigosa et al., 2008) ในขณะที่กิจกรรมเอนไซม์ Amylase มีแนวโน้มแปรผันตามปริมาณของระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหารเช่นกัน เนื่องจากเอนไซม์ Amylase เป็นเอนไซม์สำหรับย่อยคาร์โบไฮเดรตจากวัตถุดิบประเภทแป้ง ดังนั้นแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ Amylase สามารถเกิดได้จากอาหารที่ได้รับ คือ ชนิดและปริมาณอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะสามารถกระตุ้นให้เอนไซม์ Amylase มีการทำงานเพิ่มขึ้นได้ ดังที่เคยมีรายงานในปลานิล (*Oreochromis niloticus*, L.) ปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับแป้งสูงส่งผลต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Amylase ที่จะสูงขึ้นด้วย (De silva and Anderson, 1995)

Table 4 The effect of protein to energy ratio on enzyme activity in snakehead fish

Enzyme activity	Experimental Diets					*p-value*
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20	
Protease (mU mg protein^{-1})	2.40±0.26	2.19±0.32	1.98±0.34	1.51±0.44	1.62±0.53	0.084
Amylase (μmol maltose h^{-1} mg protein^{-1})	25.27±2.70	32.05±5.37	35.50±1.91	30.41±5.19	31.93±2.33	0.147

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20)
Values are presented as means ± SD of three replicates. Values within the same row with different superscripts are significantly different ((P<0.05)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำการศึกษาปริมาณน้ำตาลในซีรั่มของปลาช่อนพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนการทดแทนโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด (LP20) มีค่าน้ำตาลสูงที่สุดที่ 12.53±3.15 mMol glucose/L ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในอาหารต่ำสุดที่ 6.39±0.02 mMol glucose/L (P<0.05) (**Table 5**) โดยผลการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่าชุดอาหารทดลองที่มีสัดส่วนการทดแทนคาร์โบไฮเดรตในอาหารที่ระดับแตกต่างกันมีแนวโน้มของปริมาณน้ำตาลในซีรั่มแปรผันตามปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่ได้รับจากอาหาร ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้เมื่อพิจารณาความเหมาะสมของการทดแทนโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตเพื่อเป็นแหล่งพลังงานในระดับที่สูงกว่าร้อยละ 10 พบว่ามีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงอย่างชัดเจน สอดคล้องกับ Hemre et al. (2002) ที่อ้างโดย Kumar et al. (2008) ได้รายงานว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตในระดับสูงเกินความต้องการ ส่งผลทำให้ปลาเกิดความเครียดจากขบวนการเผาผลาญอาหารและมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากการเผาผลาญกลูโคสของปลามีจำกัดซึ่งการได้รับกลูโคสในระดับสูงจะมีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงหลังจากได้รับอาหารและจะยังมีระดับสูงคงที่ติดต่อกันนานหลายชั่วโมง (Kaushik and Oliva-Teles, 1985; Brauge et al., 1994; Hutchins et al., 1998; Small and Soares, 1999 อ้างโดย Kumar et al., 2008) ดังนั้นการเตรียมอาหารที่มีระดับของคาร์โบไฮเดรตที่เพียงพอเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหาร ส่งผลให้ลดการนำเอาโปรตีนมาเผาผลาญเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานหรือสังเคราะห์กลูโคสขึ้นมาใช้ใหม่ทำให้เกิดการสำรองโปรตีนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Wang et al., 2005; Sá et al., 2008)

การศึกษาค่าการสะสมไกลโคเจนภายในตับและค่าดัชนีตับ (HSI) ของปลาช่อนที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่แตกต่างกัน (**Table 4**) พบว่า การสะสมไกลโคเจนภายในตับของปลาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่ปลาช่อนกลุ่มที่รับอาหารชุดควบคุม (Control) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีระดับของคาร์โบไฮเดรตในอาหารต่ำสุดมีค่าการสะสมไกลโคเจนภายในตับต่ำที่สุดคือ 1.11±0.52 mg/g liver นอกจากนี้ยังพบว่าผลการสะสมไกลโคเจนภายในตับมีความสอดคล้องกับค่า HSI ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มขึ้นจะมีแนวโน้มให้ค่า HSI ที่สูงขึ้นเช่นเดียวกัน โดยจะเห็นได้อย่างชัดเจนในกลุ่มของปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมซึ่งมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในอาหารต่ำสุดให้ HSI ต่ำสุด คือ 1.73±0.53 ในขณะที่ชุดทดลอง LP20 ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในอาหารสูงสุดให้ HSI สูงสุด คือ 3.13±0.79 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังนั้นจากการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของการสะสมไกลโคเจนภายในตับและค่า HSI จะแปรผันตามปริมาณของคาร์โบไฮเดรตใน

แก่นเกษตร 48 ฉบับที่ 5: 1098-1123 (2563)./doi:10.14456/kaj.2020.99.

อาหารที่ปลาได้รับ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากการได้รับสารอาหารและการสะสมสารอาหาร (deposit) ประเภทคาร์โบไฮเดรต และมีความสอดคล้องกับการศึกษาในปลาชนิดอื่นๆ ที่พบว่า เมื่อระดับแป้งในอาหารเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่า HSI สูงขึ้นในปลา European sea-bass (Dias et al., 1998; Peres and Oliva-Teles, 2002) ปลา Rainbow trout (Tapia-Salazar et al., 2006) ปลา White bream (Sá et al., 2008) ปลา Blackspot sea bream (Figueiredo-Silva et al., 2009) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่า HSI นั้นอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของการสะสมไกลโคเจนภายในตับ (Fermández et al., 2007) ทั้งนี้เนื่องจากการดูดซึมคาร์โบไฮเดรต ถ้าไม่มีการถูกนำไปใช้เป็นพลังงาน หลังจากคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนรูปแล้วจะถูกนำไปสะสม (Accumulate) เป็นไกลโคเจนในตับ (Kim and Kaushik, 1992; Brauge et al., 1994; Hatlen et al., 2005) ซึ่งมีผลทำให้ตับมีการขยายขนาดและค่า HSI จึงมีค่าเพิ่มขึ้น หรืออีกประเด็นของการเพิ่มขึ้นของค่า HSI อาจเป็นผลมาจากการสะสมของไขมันในตับ (Hepatic lipid content) ดังที่เคยรายงานในปลากะพงยุโรป เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ (Digestible carbohydrate) ในระดับสูง ส่งเสริมทำให้ปลามีค่า HSI, ค่าไกลโคเจนภายในตับและไขมันในตับมีค่าสูงขึ้น (Dias et al., 1998; Peres et al., 1999 อ้างโดย Peres and Oliva-Teles, 2002)

Table 5 The effect of protein to energy ratio on blood glucose and liver glycogen in snakehead fish

Parameters	Experimental Diets					*p-value*
	Control	LP5	LP10	LP15	LP20	
Blood glucose (mMol glucose/L)	6.39±0.02^{a}	9.47±2.08^{ab}	11.35±0.71^{b}	12.10±0.90^{b}	12.53±3.15^{b}	0.010
Glycogen (mg/g liver)	1.11±0.52	2.14±0.59	1.23±0.09	2.21±0.59	1.37±0.06	0.074
Hepatosomatic index (HSI)	1.73±0.53^{a}	2.50±0.43^{ab}	2.69±0.52^{ab}	2.31±0.79^{ab}	3.13±0.79^{b}	0.043

Remark: Experimental diets: Control, less protein at 5% diet (LP5), less protein at 10% diet (LP10), less protein at 15% diet (LP15), less protein at 20% diet (LP20).
Values are presented as means ± SD of three replicates. Values within the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

จากการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพตับของปลาช่อนที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานในระดับที่แตกต่างกัน (**Figure 1**) พบว่า ขนาดของเซลล์ตับมีความสัมพันธ์กับระดับปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในสูตรอาหาร โดยจากการทดลองครั้งนี้ปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (Control) ซึ่งในสูตรอาหารมีองค์ประกอบของระดับคาร์โบไฮเดรตต่ำที่สุด แสดงให้เห็นถึงลักษณะเซลล์ตับของปลากลุ่มนี้มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ตับของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารชุดทดลองซึ่งมีระดับของคาร์โบไฮเดรตสูงขึ้น ในขณะเดียวกันปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับคาร์โบไฮเดรตสูงเกินไปอาจส่งผลทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์ตับได้เช่นกัน ซึ่งในกรณีดังกล่าวนี้ได้พบลักษณะความเสียหายของเซลล์ตับบางส่วนในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารชุดทดลองที่มีการทดแทนโปรตีนด้วยคาร์โบไฮเดรตในระดับสูงกว่าร้อยละ 10 นอกจากนี้ลักษณะทางพยาธิสภาพของเซลล์ตับยังมีความสัมพันธ์กับค่าดัชนีตับ HSI โดยจากการทดลองในครั้งนี้พบว่าที่ระดับการทดแทนคาร์โบไฮเดรตในระดับร้อยละ 20 นั้นให้ค่า HSI สูงที่สุด และเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากการสะสมของไกโคเจนหรือไขมันในตับมีปริมาณมากเกินไปจึงส่งผลทำให้เซลล์ตับและตับปลามีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาระดับของคาร์โบไฮเดรตในอาหารสัตว์น้ำของ

ปลาชนิดต่าง ๆ เช่น ปลา Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) (Bou et al., 2014), ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) (Kumar et al., 2005), ปลา Golden pompano (*Trachinotus ovatus*) (Zhou et al., 2015) และ ปลา Blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) (Prisingkorn et al., 2017) เป็นต้น ซึ่งได้รายงานไว้ว่าระดับการสะสมไขมันในตับ (lipid accumulation) รวมถึงค่าดัชนีตับ HSI (Hepatosomatic index) มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับระดับของคาร์โบไฮเดรตที่ปลาได้รับจากอาหาร ซึ่งการสะสมของไขมันที่สูงขึ้นส่งผลทำให้เซลล์ตับมีขนาดใหญ่ขึ้น รวมถึงในกรณีที่สัตว์น้ำได้รับอาหารที่มีระดับคาร์โบไฮเดรตสูงเกินความต้องการ จะส่งผลต่อสุขภาพของสัตว์น้ำเช่น ทำให้ตับเกิดความเสียหาย (inflammatory infiltration in the liver) และอาจส่งผลทำให้เกิดโรคไขมันพอกตับ (fatty liver disease) (Duvnjak et al., 2007; Song et al., 2007; Bergheim et al., 2008; Prisingkorn et al., 2017, 2019) ได้เช่นเดียวกัน

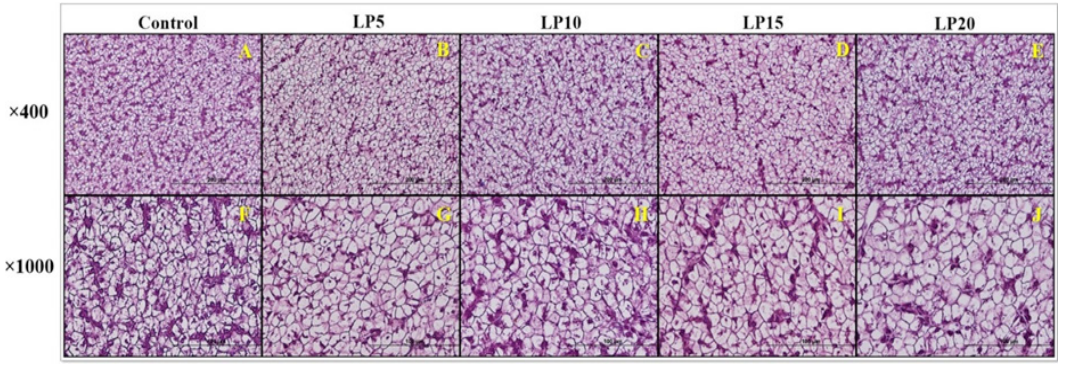

Figure 1 Representative hematoxylin and eosin stained histological sections of fish hepatocytes
Note: A and F = fish fed with; control diet (P/E ratio at 93 mg protein/kcal), B and G = Less protein at 5% diet (P/E ratio at 89 mg protein/kcal) , C and H = Less protein at 10% diet (P/E ratio at 84 mg protein/kcal), D and I = Less protein at 15% diet (P/E ratio at 80 mg protein/kcal), E and J = Less protein at 20% diet (P/E ratio at 76 mg protein/kcal). A, B, C, D and E were zoomed in at 400%. F, G, H, I and J were zoomed in at 1000%

สรุป

จากการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสมในอาหารปลาช่อนในครั้งนี้พบว่าระดับสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงานที่ 84 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลอรี โดยอาหารมีปริมาณโปรตีน 37.85 เปอร์เซ็นต์โปรตีน และพลังงาน 305.79 กิโลแคลอรี่/ 100 กรัม เป็นระดับที่เหมาะสมในอาหารช่อน ซึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาช่อน ดังนั้นสามารถลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารได้ไม่เกินร้อยละ 10 อีกทั้งยังสามารถลดต้นทุนในการผลิตอาหารได้ร้อยละ 3.32

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2561. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2559. กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง. เอกสารฉบับที่ 12/2561. แหล่งข้อมูล: https://www.fisheries.go.th/strategy-stat/themeWeb/books/2559/1/สถิติการประมงแห่งประเทศไทยพ.ศ.2559.pdf. ค้นเมื่อ 27 กรกฎาคม 2562.

Ahmadi, M. R., and M. Alizadeh. 2004. Effects of dietary protein and energy levels on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in brackish water. Iran J. Fish. Sci. 4: 77-88.

Ai, Q. H., K. S. Mai, H. T. Li, C. X. Zhang, L. Zhang, Q. Y. Duan, B. P. Tan, W. Xu, H. M. Ma, W. B. Zhang, and Z. G. Liufu. 2004. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 230: 507-516.

Analia, V. F. G., C. D. Ana, M. V. Susana, and L. F. Jorge. 2009. *In vivo* and *in vitro* Protein Digestibility of Formulated Feeds for *Artemesia longinaris* (Crutacea, Penaeidae). Brazil Arch. Biol. Technol. 52: 1379-1386.

Areekijseree, M., A. Engkagul, U. Kovitvadhi, A. Thongpan, M. Mingmuang, P. Pakkong, and K. Rungruangsak-Torrissen. 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Aquaculture 234: 575-587.

Bergheim, I., S. Weber, M. Vos, S. Krämer, V. Volynets, S. Kaserouni, C. J. McClain, and S. C. Bischoff. 2008. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: Role of endotoxin. J. Hepatol. 48: 983-992.

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

Bou, M., M. Todorcevic, R. Fontanillas, E. Capilla, J. Gutiérrez, and I. Navarro. 2014. Adipose tissue and liver metabolic responses to different levels of dietary carbohydrates in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 175: 72-81.

Brauge, C., F. Medale, and G. Corraze. 1994. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhychus mykiss*, reared in seawater. Aquaculture 1233: 109-120.

Chou, B. S. and S. Y. Shiau. 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. Aquaculture 143: 185-195.

Clow, K. A., K. J. Rodnick, T. J. MacCormack, and W. R. Driedzic. 2004. The regulation and importance of glucose uptake in the isolated Atlantic cod heart: ratelimiting steps and effects of hypoxia. J. Exp. Biol. 207: 1865-1874.

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

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

Duvnjak, M., I. Lerotic, N. Baršic, V. Tomašic, L. V. Jukic, and V. Velagic. 2007. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. World J. Gastroentero. 13: 4539-4550.

El-Dakar, A. Y. 1994. Studies on aquatic animal: Shrimp nutrition. Ph.D. Thesis. Alexandria University, Alexandria, Egypt.

El-Dakar, A. Y., G. D. I. Hassanen, S. I. Ghoneim, and O. A. Zenhom. 2003. Daily optimum energy feeding of rabbitfish *Siganus rivulatus*: Effect of dietary energy level at various feeding rate on performance of rabbitfish, Siganus. P. 123-128. Aquaculture America Conference

2003, December 18 2003. American Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.

El-Sayed, A. M. and D. L. Jr Garling. 1988. Carbohydrate-to-lipid ratio in diets for *Tilapia zillii* fingerlings. Aquaculture 73: 157-153.

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

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

Hatlen, B., B. Grisdale-Helland, and S. J. Helland. 2005. Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content. Aquaculture. 249: 401-408.

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

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

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

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

Kumar, S., N. P. Sahu, A. K. Pal, D. Choudhury, S. Yengkokpam, and S. C. Mukherjee. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. Fish Shellfish Immun. 19: 331-344.

Kumar, V., N. P. Sahu, A. K. Pal, S. Kumar, and S. K. Gupta. 2008. Gelatinized to no gelatinized starch ratio in the diet of *Laeo rohita*: Effect on digestive and metabolic response and growth. J Anim Physiol and An N. 92: 492-502.

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

Muzinic, L. A., K. R. Thompson, L. S. Metts, S. Dasgupta, and C. D. Webster. 2006. Use of turkey meal as partial and total replacement of fish meal in practical diets for sunshine bass (*Morone chrysops × Morone saxatilis)* grown in tanks. Aquacult. Nutr. 12: 71-81.

Nankervis, L., S. J. Matthews, and P. Appleford. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient retention and circulating insulin-like growth

factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture. 191: 323-335.

Peres, H., P. Gonc¸alves, and A. Oliva-Teles. 1999. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 179: 415-423.

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

Prisingkorn, W. 2018. The effect of high fat and high carbohydrate diets on Growth Performance, Histology and Transcriptome in Blunt Snout Bream (*Megalobrama amblycephala*). Ph.D. Thesis. Huazhong Agricultural University, P.R. China.

Prisingkorn, W., I. JakovlicI, S. K. Yi, F. Y. Deng, Y. H. Zhao, and W. M. Wang. 2019. Gene expression patterns indicate that high-fat-high-carbohydrate diet causes mitochondrial dysfunction in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). Genome. 62: 53-67.

Prisingkorn, W., P. Prathomya, I. Jakovlic, H. Liu, Y. H. Zhao, and W. M. Wang. 2017. Transcriptomics, metabolomics and histology indicate that high-carbohydrate diet negatively affects the liver health of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). BMC Genomics. 18: 856.

Ren, M., H. M. Habte-Tsion, J. Xie, B. Liu, Q. Zhou, X. Ge, L. Pan, and R. Chen. 2015. Effects of dietary carbohydrate source on growth performance, diet digestibility and liver glucose enzyme activity in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. Aquaculture. 438: 75-81.

Rosas, C., G. Cuzon, G. Gaxiola, C. Pascual, G. Taboada, L. Arena, and A. Van Wormhoudt. 2002. An Energetic and Conceptual Model of the Physiological Role of Dietary Carbohydrates and Salinity on *Litopenaens vannamei* juveniles. J.Eep. Mar. Biol. 286: 47-67.

Rungruangsak-Torrissen, K., A. Rustad, J. Sunde, S. A. Eiane, H. B. Jensen, J. Opstvedt, E. Nygard, T. A. Samuelsen, H. Mundheim, U. Luzzana, and G. Venturini. 2002. *In vitro* digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. J. Sci. Food Agricult. 82: 644-654.

Sagada, G., J. Chen, B. Shen, A. Huang, L. Sun, J. Jiang, and C. Jin. 2017. Optimizing protein and lipid levels in practical diet for juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). Anim Nutr. 3: 156-163.

Samantaray, K., and S. Mohanty. 1997. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striate*. Aquaculture. 156: 241-249.

Santigosa, E., J. Sanchez, F. Medale, S. Kaushik, J. Perez-Sanchez, and M. A. Gallardo. 2008. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. Aquaculture. 282: 68-74.

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

veniles. Aquac Res. 39: 1069-1076.

Shalaby, S. M. 1998. Nutrition requirements of rabbitfish, *Siganus rivulatus*, fingerlings. Ph.D. Thesis, Alexandria University, Egypt.

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

Shyong, W. J., C. H. Huang, and H. C. Chen. 1998. Effects of dietary protein concentration on growth and muscle composition of juvenile *Zacco barbata*. Aquaculture. 167: 35-42.

Singer, T. D., V. G. Mahadevappa, and J. S. Ballantyne. 1990. Aspects of the energy metabolism of Lake sturgeon *Acipenser fulvescens* with special emphasis on lipid and ketone body metabolism. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 47: 873-881.

Small, B. C., and J. H. J. Soares. 1999. Effect of dietary carbohydrate on growth, glucose tolerance and liver composition of juveniles striped bass. North American Journal of Aquaculture. 61:286-292.

Song, Z., I. Deaciuc, Z. Zhou, M. Song, T. Chen, D. Hill, and C. J. McClain. 2007. Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 293: 894-902.

Stone, D. A. J. 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. Rev Fish Sci. 11: 337-369.

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

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

Van der Meer, M. B., J. E. Zamora, and M. C. Verdegem. 1997. Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). Aquac Res. 28: 405-417.

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

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

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

Yigit, M., Ö. Yardim, and S. Koshio. 2002. The protein sparing effects of high lipid levels in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) with special reference to reduction of total nitrogen excretion. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh. 54: 79-88.

Zehra, S., and M. Khan. 2012. Dietary protein requirement for fingerling *Channa punctatus* (Bloch), based on growth, feed conversion, protein retention and biochemical composition. Aquacult Int. 20: 383-395.

Zerin, S., Md. S. Ahmed, Md. S. Iqball, and Md. A. H. Chisty. 2010. Determination of in vitro protein digestibility of different feed ingredients for niloticus (*Oreochromis niloticus*). Bangladesh Res. Publ. J. 4: 87-94.

Zhou, C., X. Ge, J. Niu, H. Lin, Z. Huang, and X. Tan. 2015. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition, intestinal and hepatic enzyme activities, and growth hormone gene expression of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*. Aquaculture. 437: 390-7.