

บทที่ 4

วิจารณ์ผลและสรุป

4.1 ลักษณะของลูกปลากระพงขาวที่ใช้ทดลอง

ลูกปลากระพงขาวที่เตรียมไว้สำหรับทดลองได้มาจากการผสมของพ่อพันธุ์ แม่พันธุ์เดียวกัน ในสภาพแวดล้อมเหมือนกันและลูกปลามีอายุเท่ากัน ทำการอนุบาลด้วยโรติเฟอร์ตั้งแต่ลูกปลาอายุ 2-13 วัน ก่อนนำมาทดลองทำการคัดขนาดให้มีความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกันมากที่สุด ฉะนั้นจึงมีความมั่นใจได้ว่าความผันแปรหรือความแตกต่างที่เกิดกับสัตว์ทดลองควรจะเป็นผลกระทบมาจากปัจจัยที่ใช้ทดลองเอง โดยที่อายุและขนาดของลูกปลาหรือปัจจัยอื่นอาจจะสืบเนื่องมาจากพันธุกรรมของสัตว์นั้น มีอิทธิพลน้อยมากหรือไม่มีเลย และการจัดบ่อแบบ Randomized complete block (RB) ในการทดลองครั้งนี้ก็เพื่อกำจัดความผันแปรอันอาจจะเกิดจากปัจจัยอื่นๆ ที่มีใ้ปัจจัยของการทดลอง

ลักษณะของการวางแผนแบบสุ่มในบล็อกจะแบ่งหน่วยทดลองที่ได้รับทริทเมนต์ออกเป็น - กลุ่มๆ โดยแต่ละกลุ่มจะมีทุกทริทเมนต์รวมเรียกว่าบล็อก โดยกำหนดให้จำนวนของหน่วยทดลองในแต่ละบล็อกเท่ากับจำนวนทริทเมนต์ที่ใช้ทดลอง ซึ่งการทดลองนี้ใช้หลักเกณฑ์ในการจัดบล็อก 2 ประการคือ บล็อกเนื่องจากขนาดลูกปลาซึ่งถือเป็นปัจจัยภายในหน่วยทดลองเอง และบล็อกเนื่องจากการได้รับอิทธิพลของแสงสว่างที่ไม่เท่ากันซึ่งถือเป็นปัจจัยภายนอกหน่วยทดลอง

4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพและรูปแบบการเจริญเติบโต

4.2.1 อัตราการรอดและอัตราการเจริญเติบโต

จากการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับอัตราการรอดของลูกปลากระพงขาวที่ทำการศึกษาในตู้กระจก ด้วยวิธีวิเคราะห์ว่าเรียนซ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตารางที่ 2) พบว่าลูกปลากระพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิตตลอดการทดลอง (กลุ่มทดลองที่ 1) มีอัตราการรอดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มลูกปลากระพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิตตอนกลางวันสลับกับอาหารสูตรสำเร็จตอนกลางวัน (กลุ่มทดลองที่ 2) และในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรสำเร็จเสริมด้วยอาหารมีชีวิต 3 ครั้ง/สัปดาห์ (กลุ่มทดลองที่ 3) ส่วนอัตราการรอดระหว่างลูกปลากระพงขาวในกลุ่มที่ 1 และในกลุ่มที่ 3 แม้จะไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติก็ตามแต่พอจะมองเห็นได้ถึงแนวโน้มว่าอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลากระพงขาวให้ผลในด้านอัตราการรอดดีกว่าอาหารสูตรสำเร็จ

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตทั้งในด้านน้ำหนักและความยาวด้วยวิธีวิเคราะห์วาเรียนซ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังตารางที่ 4, 5 พบว่าลูกปลาระยะฟองขาวในกลุ่มที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากลูกปลาระยะฟองขาวในกลุ่มที่ 2 และ 3 แต่อัตราการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงให้เห็นชัดเจนว่าอาหารมีชีวิตและอาหารสูตรสำเร็จที่ใช้อุบาลลูกปลาระยะฟองขาวมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะฟองขาวตลอดระยะเวลา 4 เดือนที่ทำการทดลอง และเมื่อทดสอบหาความแตกต่างระหว่างอิทธิพลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะฟองขาว ผลการศึกษาปรากฏว่าอาหารมีชีวิตให้ผลการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะฟองขาวดีที่สุด ส่วนอาหารมีชีวิตผสมอาหารสูตรสำเร็จและอาหารสูตรสำเร็จเสริมด้วยอาหารมีชีวิต 3 ครั้ง/สัปดาห์ ให้ผลด้านการเจริญเติบโตต่อลูกปลาระยะฟองขาวไม่แตกต่างกันและมีประสิทธิภาพสู้อาหารมีชีวิตไม่ได้

จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า อาหารมีชีวิตที่ใช้อุบาลลูกปลาระยะฟองขาวมีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารสูตรสำเร็จทั้งในด้านอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอด ซึ่งผลการศึกษานี้มีลักษณะเช่นเดียวกับการศึกษาของบังอร ศรีมุกดา (2526); ธิดา เพชรมณี (2528); ชวัญกัญญ์ ถนอมเกียรติ และคณะ (2528) ซึ่งรายงานว่าลูกปลาระยะฟองขาวที่อนุบาลด้วยอาหารไม่มีชีวิตนั้นมีอัตราการรอดและอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าพวกที่อนุบาลด้วยอาหารมีชีวิต สาเหตุที่ส่งผลให้อาหารมีชีวิตมีประสิทธิภาพช่วยให้การอนุบาลลูกปลาระยะฟองขาวได้ผลดี อาจเนื่องมาจากอาหารสูตรสำเร็จที่เตรียมขึ้นเองนั้นขาดสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของลูกปลา เช่น กรดอะมิโน และกรดไขมันที่จำเป็น ฯลฯ แต่ในอาหารมีชีวิต เช่น อาร์ทีเมีย กุ้งเคย จะอุดมด้วยสารอาหารเหล่านี้ ดังตารางที่ 2, 3 ดังนั้นการเลือกชนิดของอาหารมีชีวิตมาอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนนั้นจะเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งที่จะทำให้การอนุบาลลูกปลาได้ผลดีหรือไม่ อาหารมีชีวิตดังกล่าวจะต้องมีความเหมาะสมกับขนาดของปากลูกปลาอุดมด้วยคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณอาหารที่ให้ต้องมากพอ (Nash, 1977; Watabe, 1979; Girrin, 1979) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เป็นการยากที่จะควบคุมมิให้อาหารบางส่วนละลายน้ำได้แม้จะใช้วันเป็นตัวยึดเกาะ (binder) ก็ตาม ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าคุณค่าทางอาหารบางส่วนของอาหารสูตรสำเร็จต้องสูญเสียไปบ้าง นอกจากนี้ในการทดลองได้ใช้ปริมาณโปรตีนประมาณ 66.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจเป็นค่าโปรตีนที่ยังไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะฟองขาวก็เป็นได้

อย่างไรก็ตามแม้ว่าในการทดลองนี้การอนุบาลลูกปลาระยะฟองขาวด้วยอาหารมีชีวิตจะให้ผลดีที่สุดก็ตาม แต่อาหารสูตรสำเร็จที่สร้างขึ้นมานี้จะมีคุณสมบัติเหมาะสมพอที่จะใช้อุบาลร่วมกับอาหารมีชีวิตเป็นการลดปัญหาบางส่วนลงได้ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอาหารมีชีวิตเมื่อเสริมด้วยอาหารสูตรสำเร็จบางทีจะสามารถลดความอ่อนแอของปลาลงได้ ทั้งนี้เพราะสิ่งหนึ่งที่สังเกตจากการทดลองแสดงให้เห็นชัดว่าอายุของลูกปลาระยะฟองขาวที่เลี้ยงได้ขนาดโตพอสมควร อายุประมาณ

25 วัน ขนาดประมาณ 1.2-1.5 เซนติเมตร จะทำการฝึกให้กินอาหารสูตรสำเร็จได้ง่ายกว่าลูกปลาอายุ 13-15 วัน ขนาดประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร และจากลักษณะนิสัยของลูกปลาระพงขาวที่จะไม่เก็บอาหารกินเมื่อตกลงสู่พื้น ฉะนั้นข้อคำนึงในการทำอาหารก็คืออัตราความเร็วในการที่อาหารจมน้ำ, ขนาด ราคา คุณค่าทางอาหาร ฯลฯ ซึ่งต้องให้พอดีและเหมาะสมกับการกินของลูกปลา

สำหรับอัตราการรอดของลูกปลาระพงขาวที่ทำการศึกษาในตู้กระจกนั้น แม้ว่าลูกปลาในกลุ่มทดลองที่ 1 จะให้ผลสูงสุด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ การอนุบาลโดยทั่วๆ ไปแล้วนับว่ายังไม่สูงนัก เพราะนอกจากปลาจะตายไปด้วยอิทธิพลของอาหารเองแล้วบางส่วนของปลา ยังกินกันเองอีกด้วย ซึ่งการเลี้ยงในตู้กระจกนี้ปลามีขนาดแตกต่างกันอย่างมาก จนไม่สามารถแบ่งเป็น 3 ขนาดได้ ฉะนั้นตัวที่ใหญ่ที่สุดบางตัวจึงต้องคัดออกไปแล้วถือว่าตายไปจากการทดลอง ทำให้อัตราการรอดไม่สูงเท่าที่ควร

อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้มิได้มุ่งเป้าประสงค์ไปที่การปรับองค์ประกอบของอาหารสูตรสำเร็จให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาระพงขาวเป็นหลัก เพียงแต่ต้องการศึกษาว่าชนิดของอาหารหรืออายุของลูกปลามีอิทธิพลต่อรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ ในทางเดินอาหารของลูกปลาระพงขาวหรือไม่เท่านั้น

4.3 การศึกษาชนิดของเอ็นไซม์ย่อยอาหารในทางเดินอาหารของลูกปลาระพงขาว

จากการทดลองพบว่าในทางเดินอาหารของลูกปลาระพงขาวมีเอ็นไซม์ที่ทำการศึกษาคือได้ 3 ชนิด (จากการศึกษาทั้งหมด 4 ชนิด) ได้แก่ โคติเนส, ทริปซิน, เปปซิน สำหรับอมายเลสนั้นไม่สามารถตรวจพบแอกติวิตีในทางเดินอาหารของลูกปลาระพงขาวได้เลย เมื่อใช้วิธีของ Hofer โดยใช้แป้งเป็นสับสเตรท อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองใช้วิธีดังกล่าวที่ตรวจหาแอกติวิตีของอมายเลสในทางเดินอาหารของปลานิลและปลามอเทค ซึ่งเป็นปลากินพืชเป็นอาหารสามารถตรวจพบแอกติวิตีของอมายเลสได้ ดังนั้นผลการทดลองนี้จึงเป็นการพอจะยืนยันได้ว่าลูกปลาระพงขาวเป็นพวกปลากินเนื้ออย่างแท้จริง (true carnivorous) ซึ่งลักษณะเช่นนี้คล้ายกับการรายงานของ Gabriel และ Lindsay (1984) อ้างถึง Lindsay และ Harris (1980); Bergot (1981); Hilton et al (1983) ซึ่งกล่าวว่าในปลาเทราท์ ซึ่งเป็นปลากินเนื้ออย่างแท้จริง จะไม่มีเอ็นไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอ็นไซม์เซลลูเลส ถ้าเอาอาหารที่มีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบในอาหารให้ปลาเทราท์กิน ปลาจะย่อยเซลลูโลสไม่ได้และมีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติอีกด้วย

4.4 การศึกษา พี.เอช. ที่เหมาะสมในการทำงานของเอ็นไซม์ย่อยอาหารในทางเดินอาหาร ของลูกปลากระพงขาว

4.4.1 ผลการศึกษา พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการทำงานของโคติเนส

จากการศึกษาผลกระทบของ พี.เอช. ต่อความสามารถในการย่อยสลายเสตรทโคตินด้วยวิธี *in vitro* พบว่า พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของปลากระพงขาว ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 4.5-5.0 และในสภาวะที่ พี.เอช. ต่ำมาก เช่น ที่ พี.เอช. 2.0 โคติเนสก็ยังสามารถทำงานได้สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของปฏิกิริยาที่ตรวจพบ ณ พี.เอช. 5 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับปลาอื่นถือเป็นส่วนใหญ่อีกเช่นกัน Lindsay (1985) รายงานว่าเอ็นไซม์โคติเนสในปลาเรนโบว์เทราท์ทำงานได้ดีที่สุดที่ พี.เอช. 6.0-6.5 สำหรับพี.เอช. ต่ำกว่านี้โคติเนสก็ยังสามารถทำงานได้ดี เช่นเดียวกัน Jeuniaux (1966) รายงานว่าแอกติวิตีของโคติเนสในปลา Cod เมื่อใช้โคตินเป็นสับเสตรท จะทำงานได้ดีที่ พี.เอช. ประมาณ 5 กรณีของโคติเนสในแบคทีเรีย *S. griseus* เอ็นไซม์โคติเนส จะทำงานได้ดีที่สุดที่ พี.เอช. ประมาณ 6.3 และจะหยุดการทำงานทันทีเมื่อ พี.เอช. ต่ำกว่า 4.5 ยกเว้นโคติเนสในพวกสัตว์มีกระดูกสันหลังซึ่งยังสามารถทำงานได้ดีที่ พี.เอช. 3 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส Donulat และคณะ (1984) ศึกษาพบว่าเอ็นไซม์โคติเนสในกระเพาะอาหาร ของปลาคอดทำงานได้ดีที่สุดที่ พี.เอช. 4.5-5.1 และในลำไส้อยู่ระหว่าง 5.1-6.5 ซึ่งก็มีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองที่วัดได้ในปลากระพงขาวครั้งนี้เช่นกัน

4.4.2 การศึกษา พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการทำงานของทริปซิน

พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการทำงานของทริปซินในทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาว ที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส มีค่าอยู่ระหว่าง 8-9 ซึ่งใกล้เคียงกับการทำงานของน้ำย่อยภายในลำไส้ของปลาจำพวกกินเนื้อโดยทั่วไปเช่นปลาเทราท์ ซึ่งโดยปกติจะมี พี.เอช. อยู่ระหว่าง 7.6-8.2 และมีการทำงานของเอ็นไซม์ทริปซินเหมาะสมที่สุดอยู่ที่ พี.เอช. 8.2 (Grabner, 1984) ที่ พี.เอช. ต่ำกว่า 6 และสูงกว่า 10 ทริปซิน เกือบไม่สามารถทำงานได้เลย

อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในลูกปลากระพงขาวนี้เป็นการศึกษาแบบ *in vitro* ซึ่งอาจให้ผลแตกต่างไปจากการศึกษาแบบ *in vivo* บ้างก็ได้ ดังเช่น การศึกษาของ Donulat (1984) รายงานว่าเอ็นไซม์โคติเนสที่ทำการศึกษาแบบ *in vivo* มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาได้ดีที่สุดที่ พี.เอช. อยู่ระหว่าง 1.5-6.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่ากระเพาะอาหารของปลาในขณะนั้นมีอาหารอยู่เต็มหรือไม่ นอกจากนี้ยังขึ้นกับประเภทของอาหารที่ปลากินเข้าไป รวมถึงช่วงระยะของการย่อย (stage of digestion) เป็นต้น

4.4.3 การศึกษา พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอ็นไซม์เปปซิน

พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอ็นไซม์เปปซินในผลการทดลองนี้มิได้ศึกษาเอาไว้ แต่สาเหตุที่เลือกใช้ค่า พี.เอช. ที่ 2.0 เนื่องจากเป็นช่วงของ พี.เอช. ที่มีรายงานอยู่ทั่วไปในส่วนกระเพาะอาหารของสัตว์เกือบทุกชนิด

4.5 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีและรูปแบบการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารในทางเดินอาหารของลูกปลาระยะงอกช้ำกับช่วงอายุการเจริญเติบโต

4.5.1 แอกติวิตีของเอนไซม์โคติเนส

จากการศึกษาในลูกปลาระยะงอกช้ำทั้ง 3 กลุ่มทดลองโดยวัดแอกติวิตีของเอ็นไซม์ที่พี.เอช. 5.1 พบว่าเอนไซม์โคติเนสสามารถสังเคราะห์ได้ทั้งในส่วนของกระเพาะอาหาร (หลอดอาหาร-กระเพาะอาหาร) และในส่วนของลำไส้ (ไส้ตั้ง-ทวารหนัก) สามารถตรวจพบได้ตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง (ปลาที่มีอายุได้ 15 วัน) จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสของทางเดินอาหารลูกปลาระยะงอกช้ำ เพื่อแสดงถึงรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในช่วงอายุต่างๆ ของลูกปลา จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของโปรตีน (protein concentration) มีการสังเคราะห์ขึ้นลงตามอายุและชนิดของอาหาร แต่ไม่สามารถจะบอกได้ว่าขึ้นอยู่กับอายุหรือชนิดของอาหารได้อย่างชัดเจน เมื่อศึกษาถึงรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ ในช่วงอายุต่างๆ ของลูกปลาระยะงอกช้ำ จะเห็นได้ว่าแอกติวิตีจำเพาะของเอ็นไซม์โคติเนสในส่วนของกระเพาะอาหารและส่วนของลำไส้จะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกเมื่อลูกปลากินอาร์ทีเมียเพียงอย่างเดียวนาน 14 วัน ช่วงที่ 2 เมื่อลูกปลากินกุ้งเคยเป็นอาหารอย่างเดียวนาน 25 วัน ผลการติดตามแอกติวิตีจำเพาะของเอ็นไซม์โคติเนสในเส้นทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนคือ ส่วนกระเพาะอาหาร, ลำไส้และส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมด เพื่อแสดงถึงรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์พบว่า แอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วน จะเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 2 ช่วง ในช่วงแรก เมื่อปลาได้รับอาร์ทีเมียเป็นอาหารนาน 14 วัน (ปลาอายุ 29 วัน) ในช่วงที่ 2 เมื่อปลากินกุ้งเคยเป็นอาหารนาน 25 วัน (ปลาอายุ 88 วัน) นั่นก็แสดงให้เห็นว่าแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารทั้ง 2 ส่วนคือ ส่วนของกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่ามีลักษณะที่คล้ายคลึงกันทั้ง 3 กลุ่มทดลอง โดยตรวจพบว่าแอกติวิตีสูงสุดของเอ็นไซม์ในการไฮโดรไลซ์โคตินอยู่ในระยะที่ปลากินอาร์ทีเมีย และกุ้งเคยเป็นอาหาร และจากการศึกษาแอกติวิตีต่อปริมาตรของเหลวในทางเดินอาหารของเอ็นไซม์โคติเนสในลูกปลาระยะงอกช้ำ แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเอ็นไซม์ในส่วนของทางเดินอาหารทั้ง กระเพาะอาหาร, ลำไส้ และทางเดินอาหารทั้งหมดจะมีค่าสูงสุดเป็น 2 ช่วง เช่นเดียวกันกับค่าแอกติวิตีจำเพาะ ซึ่งผลการทดลองทั้ง 2 ส่วน นี้เป็นการสนับสนุนว่าแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสสามารถถูกเหนี่ยวนำให้มีแอกติวิตีเพิ่มขึ้นได้ด้วย

องค์ประกอบของอาหารในอาหารที่ใช้เลี้ยงคือ โคติน ซึ่งมีอยู่ในอาร์ทีเมียและกุ้งเคยเป็นส่วนใหญ่ ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีของโคติเนสต่อน้ำหนักทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาวที่อายุต่างๆ กัน จะเห็นได้ว่าน้ำหนักทางเดินอาหารไม่ว่าจะเป็นส่วนของกระเพาะอาหาร, ลำไส้ หรือทางเดินอาหารทั้งหมด จะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ เมื่อลูกปลามีอายุเพิ่มขึ้น แต่ค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ต่อน้ำหนักทางเดินอาหารจะลดลงเมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของการย่อยอาหารจำพวกโคตินจะลดลงเมื่อปลามีอายุมากขึ้น ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะแหล่งในการผลิตเอนไซม์โคติเนสในลำไส้หรือในกระเพาะอาหารมีกลุ่มเซลล์เพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์โคติเนสได้ โดยที่การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักกระเพาะอาหารหรือลำไส้ อาจเกิดจากการสะสมของไขมันหรือการพัฒนา (development) เนื้อเยื่อส่วนอื่นที่ไม่ใช่กลุ่มเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์หรืออาจเป็นเพราะทางเดินอาหารจำเป็นต้องขยายใหญ่ เพื่อเพิ่มพื้นที่ในการเก็บอาหารก็เป็นได้ ผลการทดลองนี้บ่งชี้ได้ว่าเอนไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาวนอกจากจะผลิตได้ในส่วนของกระเพาะอาหารและลำไส้แล้ว ยังอาจแปรผันตามชนิดของอาหารด้วย โดยอาหารที่มีโคตินเป็นองค์ประกอบสามารถเหนี่ยวนำเอนไซม์ชนิดนี้ได้ ในทางเดินอาหารทั้ง 2 ส่วน ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นชัดเจนว่าเอนไซม์โคติเนสในลูกปลากระพงขาววัยอ่อนอายุ 15-120 วัน ไม่แปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอายุ โดยผลการศึกษาที่สอดคล้องกับการทดลองของ Jeuniaux (1961); Donulat และ Kausch (1984); Donulat (1985, 1986); Lindsay (1986) ซึ่งศึกษาในปลา *Scylliorhinus canicula*; ปลาคอดและปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่าเอนไซม์โคติเนส ในปลาดังกล่าว ผลิตมาจากส่วนผนังกระเพาะอาหาร ลำไส้ ลำไส้ติ่ง ฯลฯ นอกจากนี้ อาจได้จากแบคทีเรีย โปรตีน และสิ่งมีชีวิตที่สัตว์นั้นกินเข้าไป สำหรับการทดลองของ Jeuniaux และ Donulat พบว่าปลาที่กินครัสตาเซียเป็นอาหารจะมีการหลั่งเอนไซม์โคติเนสเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาที่กินครัสตาเซียอย่างเดียว พบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์สูงสุดในทุกส่วนของทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในลูกปลากระพงขาวครั้งนี้มีความขัดแย้งกับการศึกษาของ Lindsay (1984) ที่ทำการศึกษาในปลาทะเลและปลาน้ำจืดบางชนิดในเขตทะเลยุโรป (European marine and fresh water fish) ซึ่งพบว่าโคติเนสไม่มีความสัมพันธ์กับการกินอาหารของปลาซึ่งโดยปกติจะประกอบด้วยสารโคตินในอาหารนั้น

เกี่ยวกับการพัฒนารูปแบบของการสังเคราะห์เอนไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลานั้น Lindsay (1985) ได้ทำการศึกษาในลูกปลาเรนโบว์เทราท์ก่อน และหลังฟักเป็นตัว ผลการทดลองพบว่าเอนไซม์โคติเนสสามารถตรวจพบได้ในขณะเมื่อปลาอยู่ในช่วงการเจริญระยะ Yolk sac stage และมีระดับของเอนไซม์สูงสุดในเมื่อปลามีอายุ 50 วัน หลังฟักออกเป็นตัว สำหรับลูกปลากระพงขาวที่ทำการศึกษานี้สามารถตรวจพบเอนไซม์ได้ตั้งแต่เริ่มทำการศึกษาคือปลามีอายุ 15 วันหลังฟักออกเป็นตัว ดังนั้นจึงเชื่อว่าเอนไซม์โคติเนสในลูกปลากระพงขาวน่าจะเพิ่มขึ้นก่อนที่ปลามีอายุ 15 วัน เพราะการเกิดและการพัฒนาของเอนไซม์ควรจะมีควบคู่ไปกับการเกิดอวัยวะและ

ลักษณะทางเนื้อเยื่อของทางเดินอาหารลูกปลาระพงขาววัยอ่อน โดยที่เอ็นไซม์โคติเนสควรจะพบได้ตั้งแต่ปลาอายุ 2 วัน เพราะระยะนี้ถึงสะสมอาหารเริ่มยุบตัวและพบตัว ลำไส้ ท่อทางเดินอาหาร ซึ่งมีลักษณะตรงและสั้นรวมทั้งพบตัวอ่อนเป็นกลุ่มๆ (ชโล สัมสุวรรณและคณะ 2528) สมมุติฐานดังกล่าวนี้น่าจะมีความเป็นไปได้ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะเมื่อปลาอายุเข้าสู่วันที่ 5-6 เอ็นไซม์โคติเนสน่าจะเพิ่มขึ้นแล้วและมีการพัฒนาเพิ่มจนถึงอายุ 15-23 วัน ขึ้นตามลำดับ ซึ่งระดับเอ็นไซม์ควรจะมีการทำงานสูงขึ้น เนื่องจากปลามีการพัฒนาระบบทางเดินอาหารสมบูรณ์เต็มที่เช่นเดียวกับโตเต็มวัย ดังนั้นจึงน่าจะได้มีการศึกษาถึงรูปแบบการพัฒนาและแอกติวิตีของเอ็นไซม์ชนิดนี้ ในระยะที่ปลาเป็นไข่ ฟักออกเป็นตัวจนถึงอายุ 15 วัน ว่ามีรูปแบบของการผลิตเอ็นไซม์เป็นอย่างไร ทั้งนี้เพราะในขณะที่ปลาระพงขาวอยู่ในระยะวัยอ่อน ซึ่งกินโรติเฟอร์เป็นอาหารก็ควรจะมีโคติเนสช่วยย่อยเปลือกของโรติเฟอร์ด้วย จะเห็นได้จากแอกติวิตีจำเพาะของเอ็นไซม์ที่ตรวจพบในช่วงที่ปลาอายุ 22-29 วัน ในลูกปลา กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีค่าสูงมากในขณะที่ปลาในกลุ่มที่ 3 จะให้ค่าแอกติวิตีในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารไม่สูงนัก

อนึ่งเนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถตรวจพบแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสได้ทั้งในส่วนของกระเพาะอาหารและในส่วนของลำไส้ โดยในส่วนกระเพาะอาหารสามารถตรวจพบแอกติวิตีได้สูงสุด สำหรับแหล่งที่ผลิตเอ็นไซม์โคติเนสในลูกปลาระพงขาว ยังไม่สามารถกำหนดได้แน่นอนว่าส่วนใดเป็นแหล่งผลิต เพราะจากการศึกษาของ Donulat (1984) อ้างถึง Okutani (1966) พบว่าโคติเนสในทางเดินอาหารของ *Lateobrama japonicus* ส่วนหนึ่งผลิตมาจากแบคทีเรียในลำไส้ของปลาหรือในอาหารที่ปลากินและอีกส่วนหนึ่งผลิตขึ้นเองจากเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร และ Donulat (1986) อีกเช่นกันที่พบว่าในปลาคอด เอ็นไซม์โคติเนสที่ใช้อยู่อาหารผลิตมาจากเนื้อเยื่อทางเดินอาหารเอง โดยไม่สัมพันธ์กับแบคทีเรียหรือปรสิตในทางเดินอาหารแต่อย่างใด สำหรับเอ็นไซม์โคติเนสในลูกปลาระพงขาวที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ได้แยกเอาเฉพาะผนังกระเพาะอาหาร (gastric mucosa) ของเหลวในทางเดินอาหาร (gut content) ออกจากกันรวมทั้งยังมิได้ศึกษาปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยสลายโคติเนสในทางเดินอาหารของปลาอีกด้วย จึงยังมีอาจสรุปได้ว่า โคติเนสที่พบในทางเดินอาหารของลูกปลาระพงขาวผลิตมาจากส่วนของผนังลำไส้หรือส่วนของของเหลวภายในลำไส้เพียงอย่างเดียว แต่ที่แน่นอนที่สุด การที่สามารถตรวจพบแอกติวิตีของโคติเนสไม่ว่าจะเลี้ยงด้วยอาหารชนิดใดก็ตามในทุกส่วนของทางเดินอาหารย่อมเป็นการยืนยันว่ามีการสังเคราะห์เอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารได้อย่างแน่นอน Donulat (1986) ศึกษาผลของอาหารต่างชนิดต่อการทำงานของเอ็นไซม์โคติเนสในปลาคอดโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งอดอาหาร ผลปรากฏว่าในปลาที่กินครัสตาเซียไม่มีชีวิตอย่างเดียวนั้นมีแอกติวิตีของโคติเนสสูงที่สุดในทุกส่วนของทางเดินอาหาร โดยเฉพาะในส่วนของกระเพาะอาหารจะมีแอกติวิตีสูงสุด พวกที่กินปลาเป็นอาหารอย่างเดียวนั้นมีแอกติวิตีของโคติเนสต่ำรองลงมา ส่วนพวกที่กินเฉพาะเปลือกครัสตาเซีย ซึ่งแม้จะได้รับปริมาณโคติเนสสูงที่สุดแต่กลับมีแอกติวิตีของโคติเนสต่ำสุด สำหรับกลุ่ม

ควบคุมซึ่งอาหารก็สามารถที่จะตรวจพบแอกติวิตีในส่วนช่องทางเดินอาหารต่างๆได้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าโคติเนสในลูกปลาคอดผลิตมาจากเนื้อเยื่อของทางเดินอาหารเองและการสังเคราะห์เอ็นไซม์โคติเนสนั้น นอกจากจะขึ้นกับปริมาณของโคตินในอาหารแล้วยังขึ้นกับความสมดุลย์ของคุณค่าสารอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาคอดอีกด้วย

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดอาหารต่อแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วน (กระเพาะอาหาร, ลำไส้, ทางเดินอาหารทั้งหมด) ของลูกปลากระพงขาว ทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ด้วยวิธีวิเคราะห์หาเรียนรู้อาหารว่าไม่พบความแตกต่างของแอกติวิตีอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งปรากฏการณ์นี้อาจเป็นไปได้ว่าทริทเมนต์ที่ให้ลูกปลาในแต่ละกลุ่มการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน กล่าวคืออาหารที่ให้แก่ลูกปลากระพงขาวมีปริมาณโคตินผสมอยู่ทั้ง 3 การทดลอง ได้แก่ อาร์ทีเมียและกุ้งเคยในปลากะพงขาวกลุ่มทดลองที่ 1 ซึ่งดูเหมือนว่าน่าจะมีปริมาณโคตินมากกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ก็ตาม (เนื่องจากปลากลุ่มนี้กินอาร์ทีเมียและกุ้งเคยอย่างเดียว) แต่ทั้งปลาในกลุ่มที่ 2 และในกลุ่มที่ 3 ต่างก็ได้รับอาหารเสริมที่เป็นอาร์ทีเมียและกุ้งเคยและเป็นระยะๆ เช่นกัน กล่าวคือปลาในกลุ่มที่ 2 ได้อาหารเป็นอาร์ทีเมียและกุ้งเคยตอนกลางวัน ส่วนปลากลุ่มที่ 3 ได้อาหารพวกอาร์ทีเมียและกุ้งเคย 3 ครั้ง/สัปดาห์ ซึ่งปริมาณโคตินที่ได้รับอาจมากพอที่จะมีผลต่อการผลิตเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลาใกล้เคียงกันก็เป็นได้

จากความรู้ที่ได้นี้ดูเหมือนกับให้เราสามารถกำหนดได้ว่าถ้าต้องการให้ลูกปลามีการเจริญเติบโตดีต้องให้อาหารนั้นมีปริมาณโคตินมากพอที่ปลาสามารถจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ ทั้งนี้จากการทดลองของ Aliot อ้างโดย Donulat (1984) ซึ่งศึกษาพบว่าผนังลำไส้ของ Scylliorlinus cenicula สามารถดูดซึม N-acetyl amino sugar ได้ดีกว่ากลูโคสและในการทดลองของนักวิทยาศาสตร์ในกลุ่มเดียวกันนี้ Donulat (1984) ยังพบว่าในปลาคอดที่กินเฉพาะเปลือกของคริสตาเซียอย่างเดียวมีสภาพร่างกายโดยทั่วไป ทั้งระดับไขมันในตับ และระดับน้ำในตับดีกว่าปลาคอดพวกที่ให้อาหาร การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเปลือกของคริสตาเซียบางส่วนถูกย่อยและปลาสามารถจะนำเอาสารอาหาร ที่ได้จากการย่อยนั้นดูดซึมผ่านผนังกระเพาะอาหาร ลำไส้ ไปใช้ประโยชน์และเปลี่ยนเป็นพลังงานได้

จากการศึกษาเพื่อทดสอบความสามารถในการฟื้นสภาพ (recovery) ของปลากะพงขาวกลุ่มทดลองที่ 2 และกลุ่มทดลองที่ 3 โดยให้ลูกปลากลุ่มดังกล่าวกินอาร์ทีเมียผสมอาหารสูตรสำเร็จ หลังจากเลี้ยงไปแล้วนาน 14 วัน พบว่าแอกติวิตีจำเพาะของเอ็นไซม์โคติเนสจะมีค่าสูงเพิ่มขึ้นได้เล็กน้อยเมื่อลูกปลาได้อาหารที่มีโคติน (อาร์ทีเมีย) เพิ่มขึ้นขึ้นเป็นการยืนยันถึงอิทธิพลของโคตินต่อระดับการสังเคราะห์เอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลาอีกด้วย

4.5.2 แอคติวิตีของทริปซิน

จากการศึกษาแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินที่ พี.เอช. 8.2 พบว่าสามารถตรวจสอบได้เฉพาะในทางเดินอาหาร ส่วนของลำไส้ (ไส้ติ่ง-ทวารหนัก) เท่านั้นไม่สามารถตรวจพบแอคติวิตีของทริปซินในส่วนของกระเพาะอาหารเลยในช่วงอายุต่างๆ ของลูกปลากะพงขาว

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของเอนไซม์ทริปซินในทางเดินอาหารลูกปลากะพงขาว เพื่อแสดงถึงรูปแบบของการสังเคราะห์เอนไซม์ในช่วงอายุต่างๆ ของลูกปลา จะเห็นได้ว่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินในลำไส้ จะเพิ่มขึ้นเกือบเป็นสัดส่วน โดยตรงกับอายุของลูกปลาที่เพิ่มขึ้นและเพิ่มตามการสังเคราะห์โปรตีน สำหรับความเข้มข้นของเอนไซม์ทริปซินที่ช่วงการเจริญต่างๆ ของลูกปลากะพงขาว ผลการทดลองพบว่าเมื่อปริมาตรของของเหลว ณ ส่วนต่างๆ ของทางเดินอาหารเพิ่มขึ้นตามอายุ ความเข้มข้นของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นได้เล็กน้อย ในช่วงแรกเมื่อลูกปลาใช้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงเมื่อลูกปลามีอายุมากขึ้นและจึงลดลงช้าๆ ตลอดเวลาจนอายุครบ 120 วัน แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์เอนไซม์ทริปซินในทางเดินอาหารไม่น่าจะถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง เช่นเดียวกันเมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนของลูกปลากะพงขาวที่มีอายุมากขึ้น โดยวัดแอคติวิตีของเอนไซม์เทียบกับน้ำหนักของทางเดินอาหาร จะเห็นได้ว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ทริปซินในทางเดินอาหาร (ลำไส้, ทางเดินอาหารทั้งหมด) จะมีค่าลดลงเมื่อลูกปลามีอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะเช่นเดียวกับกรณีของเอนไซม์โคติเนส ผลการทดลองสรุปได้ว่าสามารถที่จะตรวจพบแอคติวิตีของทริปซินได้ตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง (ปลาอายุ 15 วัน หลังจากฟักออกเป็นตัว) โดยปรากฏชัดเจนว่าแอคติวิตีของทริปซินในส่วนของลำไส้เพิ่มขึ้นตามอายุลูกปลา ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Hofer (1982); Clark และคณะ (1986); Tanaka และคณะ (1972) อ้างโดย Clark และคณะ (1976) ซึ่งรายงานว่าในปลาโรซ ปลาโดเวอร์โซล (Doversole) และปลาคาร์พ จะมีแอคติวิตีของทริปซินเพิ่มขึ้นตามอายุ ซึ่งในปลาคาร์พนั้น แม้จะมีแอคติวิตีของเอนไซม์พัฒนาเพิ่มขึ้นตามอายุแต่ก็เป็นไปได้ช้ามาก โดยเฉพาะเมื่อปลาอยู่ในระยะ fry ถึงระยะ juvenile Hofer และคณะ (1982) ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาในตระกูล *Cyprinidae*, *Percidae* และ *Coregonidae* พบว่าแอคติวิตีของทริปซินขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร จากผลการศึกษาเช่นนี้นักวิจัยกลุ่มนี้จึงให้ข้อเสนอแนะว่าในปลาพวกที่มีกระเพาะอย่างแท้จริงและมีการพัฒนาระบบทางเดินอาหารค่อนข้างเร็ว จะมีการพัฒนารูปแบบของทริปซินตามอายุ ส่วนปลาพวกที่ไม่มีกระเพาะอาหาร แอคติวิตีของทริปซินดูเหมือนว่าจะขึ้นกับชนิดของอาหารมากกว่า ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินในทางเดินอาหารส่วนลำไส้ของลูกปลากะพงขาวครั้งนี้ พบว่าแอคติวิตีของทริปซินเพิ่มขึ้นในลักษณะที่คล้ายคลึงกับรูปแบบของแอคติวิตีที่วัดได้ในส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมด แต่ระดับแอคติวิตีในส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมดน้อยกว่า ทั้งนี้อาจเป็นได้ว่า พี.เอช. ของน้ำย่อยในส่วนกระเพาะซึ่งมีสภาพเป็นกรดมากอาจมีส่วนมารบกวน

หรือทำให้เอ็นไซม์บางส่วนเสียสภาพไปมีผลให้วัดแอกติวิตีของเอ็นไซม์ทริปซินในส่วนนี้วัดได้น้อยกว่าค่าที่ควรจะเป็นก็ได้

จากผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ามีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ทริปซินในทางเดินอาหารลูกปลากระพงขาวอายุ 15-120 วัน เฉพาะในส่วนของลำไส้ของปลาเท่านั้น ให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานของ Hofer และคณะ (1975); Hofer (1981) ซึ่งพบว่าเอ็นไซม์ทริปซินในปลาส่วนใหญ่ผลิตมาจากลำไส้เล็กตอนบนและสังเคราะห์ได้ควบคู่ไปกับอายุของการพัฒนาทางเดินอาหารในลูกปลาโรซวัยอ่อนระยะ larvar จะมีแอกติวิตีสู่ทริของทริปซินเพียง 46 เปอร์เซ็นต์ของแอกติวิตีทั้งหมดที่วัดได้จากส่วนของทางเดินอาหารที่ผลิตได้จากลำไส้เล็กส่วนกลางทั้งหมดเมื่อลูกปลาโตเต็มที่

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับแอกติวิตีของทริปซินด้วยวิธีวิเคราะห์ว่าเรียนซ์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 % พบว่าลูกปลาทั้ง 3 กลุ่มมีแอกติวิตีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยลูกปลาในกลุ่มที่ 1 มีแอกติวิตีสู่ทริสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ปลาในกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแอกติวิตีในลูกปลากระพงขาวไม่ขึ้นต่อชนิดของอาหาร แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Hofer (1984) ที่ทำการศึกษาผลกระทบของอาหารสูตรสำเร็จต่อระบบการย่อยอาหารในลูกปลาวัยอ่อนนั้นว่ายังมีความขัดแย้งกันอยู่เพราะจากการรายงานของ Hofer กล่าวว่าในลูกปลา *White fish (Coregonus sp)* ระยะ larvar กินอาหารสูตรสำเร็จจะมีแอกติวิตีของเอ็นไซม์ทริปซินสูงกว่าในกลุ่มของลูกปลาที่กินอาหารมีชีวิตเกือบ 2 เท่า ซึ่งแอกติวิตีนี้เกือบเท่าในปลาขนาดโตเต็มวัยที่กินอาหารสูตรสำเร็จ เหตุผลประการหนึ่งที่น่าจะทำให้ลูกปลากระพงขาวกลุ่มที่กินอาหารมีชีวิตมีแอกติวิตีสู่ทริสูงที่สุดก็คือ แอกติวิตีสู่ทริส่วนหนึ่งนั้นได้มาจากเอ็นไซม์ทริปซินที่มีอยู่ในอาหารมีชีวิตเอง (ในการทดลองนี้คือ อาร์ทีเมีย กุ้งเคย) โดยเฉพาะในอาร์ทีเมียทั้งที่เพิ่งฟักออกเป็นตัว (newly hatch) และโตเต็มวัย (adult) นั้นปรากฏว่ามีแอกติวิตีของทริปซินอยู่ในระดับสูงมาก (ข้อมูลไม่ได้แสดงไว้ในรายงานนี้) และในขณะที่ทำการทดลองยังพบเศษของอาร์ทีเมียบางส่วน อยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ ฉะนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าแอกติวิตีสู่ทริส่วนหนึ่งของทริปซินในลูกปลากลุ่มที่ 1 นั้นได้มาจากอาหาร สำหรับแอกติวิตีของลูกปลาในกลุ่มทดลองที่ 3 ซึ่งมีระดับสูงใกล้เคียงกับแอกติวิตีในกลุ่มที่ 1 อาจอธิบายปรากฏการณ์นี้ได้คล้ายกันกับผลสรุปของ Hofer (1984) ซึ่งรายงานว่าลูกปลาจำเป็นต้องสังเคราะห์เอ็นไซม์ทริปซินให้มากขึ้น เพื่อจะพัฒนาความสามารถในการย่อยโปรตีนจากอาหารสูตรสำเร็จได้ดีขึ้นเพราะในอาหารสูตรสำเร็จไม่มีเอ็นไซม์ทริปซิน ทำหน้าที่ช่วยย่อยตัวมันเอง (autolysis) นอกจากจะเชื่อว่าเอ็นไซม์ทริปซินสังเคราะห์ขึ้นตามอายุแล้วยังมีผู้เชื่อว่าการสังเคราะห์ทริปซินขึ้นขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารด้วยเช่นกัน ดังเช่นการทดลองของ Kawai และ Ikeda (1972) รายงานว่า ปลาการ์ตูนพวกที่กินโปรตีนน้อย คาร์โบไฮเดรตมากจะมีแอกติวิตีของทริปซินต่ำ และอัตราการเพิ่มแอกติวิตีของทริปซินต่อแอกติวิตีของอไมเลสจะลดลง โดยสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอาหารที่มีแป้งผสมอยู่ เกี่ยวกับ

ผลของแอกติวิตีของเอนไซม์กับการเจริญเติบโตนั้น Hofer (1984) ได้ให้แนวคิดที่ว่าจากการที่ลูกปลาวัยอ่อนกินอาหารสูตรสำเร็จแล้วหลังเอนไซม์มากจนเกือบเท่าปริมาณเอนไซม์ในปลาขนาดใหญ่ อาจเป็นสาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้ลูกปลามีการสูญเสียโปรตีนในร่างการเพิ่มขึ้น สาเหตุอีกประการหนึ่งอาจเนื่องจากอาหารสูตรสำเร็จนั้นย่อยยากกว่าอาหารที่มีชีวิตที่อยู่ในธรรมชาติ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยทริปซินถูกลูกปลาดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้น้อย ทำให้อัตราการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร

เอนไซม์ทริปซินนับเป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนสำคัญที่ทำงานได้ดีในสภาวะเป็นกลางค่อนข้างไปทางด่างเล็กน้อย น่าที่จะได้ทำการศึกษาในปลากระพงขาววัยอ่อนโดยเฉพาะตั้งแต่ช่วงเป็นไข่ ทั้งนี้จากการศึกษาของ Kawai และ Ikeda (1973a) ได้รายงานว่าขณะที่ไข่ของปลากำลังจะฟักออกมาเป็นตัว เอนไซม์ทริปซินจะมีแอกติวิตีสูงขึ้นเพื่อช่วยในการย่อยสลายเปลือกไข่ ซึ่งในลูกปลากระพงขาวก็ควรได้รับการศึกษาเช่นกัน โดยทำการศึกษาในรูปแบบการพัฒนาของเอนไซม์ระยะ larvar อย่างละเอียด ทั้งนี้เพื่อให้สามารถปรับสูตรอาหารและปริมาณโปรตีนได้เหมาะสมกับความต้องการของลูกปลาและชนิดของเอนไซม์

จากการศึกษาติดตามแอกติวิตีของเอนไซม์ทริปซินในลูกปลากระพงขาวในกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ที่ทำการฟื้นสภาพโดยให้อาหารเป็นอาหารสูตรสำเร็จเสริมด้วยอาร์ทีเมียเมียนาน 14 วัน ผลปรากฏให้ผลเห็นเด่นชัดว่าแอกติวิตีของทริปซินยังสูงขึ้นตามอายุ ซึ่งไม่เห็นถึงการฟื้นสภาพของเอนไซม์อย่างชัดเจน จากการรายงานผลการทดลองของ Hofer (1982, 1984) พบว่าเอนไซม์ทริปซินในทางเดินอาหารส่วนท้ายสามารถที่จะฟื้นสภาพได้ ความรู้ที่ได้จากการศึกษาเอนไซม์ทริปซินนี้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารสูตรสำเร็จขึ้นมาโดยให้มีปริมาณโปรตีนอยู่ในระดับสูงพอและอาหารโปรตีนที่ใช้ควรอยู่ในลักษณะที่สามารถย่อยได้ง่าย ซึ่งอาจทำได้โดยการทำ pre-digest อาหารสูตรสำเร็จด้วยเอนไซม์หรือกรดอ่อนบางชนิดเสียก่อน (Rungraungsak และ Utne 1981) วิธีดังกล่าวนี้จะทำให้อาหารสูตรสำเร็จมีลักษณะที่ย่อยได้ง่ายขึ้นคล้ายกับอาหารมีชีวิตที่มีเอนไซม์อยู่ภายในตัวช่วยในการย่อยตัวเอง (autolysate) ในกรณีเช่นนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรสำเร็จเหล่านี้ก็อาจไม่จำเป็นต้องหลังเอนไซม์ออกมามากเกินไปจนก่อให้เกิดการสูญเสียโปรตีนบางส่วนในร่างกายไปเนื่องจากการย่อยสลายของเอนไซม์ที่มีมากเกินไปเหล่านี้ได้

4.5.3 แอกติวิตีของเปปซิน

ผลการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์เปปซินที่ ผี.เอช. 2 พบว่าสามารถตรวจพบแอกติวิตีของเอนไซม์เปปซินในส่วนของกระเพาะอาหาร (หลอดอาหาร-กระเพาะอาหาร) ได้ตั้งแต่ปลาอายุ 15 วัน หลังฟักออกเป็นตัว ในขณะที่แอกติวิตีในทางเดินอาหารส่วนลำไส้ (ไส้ตั้ง-ทวารหนัก) จะตรวจไม่พบในช่วงแรก แต่จะสามารถพบได้เมื่อปลาอายุถึง 29 วัน โดยที่แอกติวิตีของเปปซินที่ตรวจพบในส่วนลำไส้จะมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับแอกติวิตีที่พบในส่วนของกระเพาะอาหาร สำหรับแอกติวิตีจำเพาะของเปปซินในส่วนของทางเดินอาหารทั้งหมด (หลอดอาหาร-ทวารหนัก)

พบว่ามีความใกล้เคียงกับในทางเดินอาหารส่วนของกระเพาะอาหารแต่เพียงส่วนเดียว

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีของเอ็นไซม์เปปซินในทางเดินอาหารลูกปลา กะพงขาว เพื่อแสดงถึงรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในช่วงอายุต่างๆ ของลูกปลา การทดลองในครั้งนี้ ให้ผลใกล้เคียงกับเอ็นไซม์ทริปซินคือการสังเคราะห์เอ็นไซม์บางครั้งอาจจะแปรผันตามการสังเคราะห์โปรตีนได้บ้าง แต่สิ่งหนึ่งที่อาจจะแตกต่างกันคือบางครั้งการสังเคราะห์เอ็นไซม์ก็อาจไม่ได้แปรผันตามความเข้มข้นของโปรตีน ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอ็นไซม์เปปซินในช่วงอายุการเจริญต่างๆ ของลูกปลากะพงขาว เช่นเดียวกับกับค่าแอกติวิตีจำเพาะ โดยเห็นว่ารูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์เปปซินเพิ่มขึ้นได้เล็กน้อยในช่วงแรกที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียคล้ายกับแอกติวิตีจำเพาะของทริปซิน หลังจากนั้นค่าแอกติวิตีต่อปริมาตรของของเหลวในส่วนของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนจะลดลง เช่นเดียวกับที่พบในเอ็นไซม์ทริปซินตลอดช่วงการเพาะเลี้ยงอายุ 120 วันของลูกปลา ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอ็นไซม์เปปซินน่าจะถูกสังเคราะห์ขึ้นได้ในทางเดินอาหาร โดยไม่มีอิทธิพลจากองค์ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกปลากะพงขาว เช่นเดียวกับกับทริปซิน สำหรับประสิทธิภาพของการสังเคราะห์เปปซินคือค่าแอกติวิตีต่อน้ำหนักทางเดินอาหารจะมีความลดลงเมื่อลูกปลามีอายุมากขึ้นคล้ายกับทริปซินอีกเช่นกัน จากการทดลองเป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของการใช้เอ็นไซม์ย่อยโปรตีนในปลากะพงขาวอีกด้วย

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าเอ็นไซม์เปปซินในทางเดินอาหาร ของลูกปลากะพงขาวอายุ 15-120 วัน สามารถสังเคราะห์ได้ทั้งในส่วนกระเพาะอาหารเป็นส่วนใหญ่และลำไส้เล็กน้อย โดยมีรูปแบบของการสังเคราะห์ค่อนข้างเป็นอิสระไม่น่าจะแปรผันตามชนิดของอาหาร แต่จะมีการสังเคราะห์ด้วยค่าคงที่ โดยเฉพาะในค่าที่แสดงด้วยแอกติวิตีจำเพาะ จะเห็นว่าเมื่อปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้น แอกติวิตีของเปปซินจะ ไม่มีการผันแปรตามการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนแต่อย่างใด

สำหรับเปปซินในส่วนของลำไส้ ซึ่งพบได้น้อยมากนั้นอาจมีสาเหตุมาจากบางส่วนของเอ็นไซม์เปปซิน ซึ่งพบส่วนใหญ่เป็นการทำงานของเอ็นไซม์ในกระเพาะอาหารยังสามารถทำงานได้บ้างเมื่อถูกเคลื่อนย้ายเข้ามาอยู่ในลำไส้เล็กส่วนต้น หรืออาจเป็นไปได้ว่าในลำไส้เล็กส่วนต้น (รวมไส้ติ่ง) ในลูกปลากะพงขาวมีต่อมผลิตเอ็นไซม์เปปซินอยู่บ้างทั้งนี้มีรายงานการศึกษาของ Hofer (1979, 1982); Rungrangsak และ Utne (1981); Torrison (1984) ซึ่งศึกษาปลาในตระกูล Cyprinidae และศึกษาในปลาแอตแลนติกแซลมอน. เรนโบว์เทร้าท์ พบว่าเอ็นไซม์เปปซินในปลาตระกูล Cyprinidae สูงสุดในส่วนที่เป็นของเหลวภายในลำไส้ โดยอยู่ในบริเวณลำไส้ส่วนต้น ส่วนในบริเวณทวารหนักการทำงานของเอ็นไซม์จะลดลง แต่สำหรับในปลาแอตแลนติกแซลมอน และเรนโบว์เทร้าท์ ซึ่งเป็นปลากินเนื้อ เช่นเดียวกับปลากะพงขาวนั้น แอกติวิตีของเอ็นไซม์เปปซินพบได้ทั้งส่วนกระเพาะ ไส้ติ่ง ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ โดยในส่วนของลำไส้ใหญ่จะมีแอกติวิตีต่ำที่สุด

จากการศึกษาทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบแอกติวิตีของ เอนไซม์ เปปซิน ในลูกปลากระพงขาว ทั้ง 3 กลุ่ม ในทางเดินอาหาร 3 ส่วน ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเหตุผลหนึ่งที่เป็นเช่นนี้คือ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างทริทเมมที่มีน้อย แต่อย่างไรก็ตามรูปแบบการผลิตเอนไซม์ เปปซินในลูกปลากระพงขาวที่ค่อนข้างคงที่นี้คล้ายคลึงกับการทดลองของ Hofer (1982) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ เปปซินในปลาโรซระยะ juvenile และ โตเต็มวัยโดยให้กินหนอนและหอยเป็นอาหาร เขาพบว่าระดับแอกติวิตีของเอนไซม์ค่อนข้างคงที่มาก แต่ผลการทดลองนี้กลับขัดแย้งกับการศึกษาของ Torrissen และ Utne (1984a); Torrissen และ Ole (1985) ที่ทำการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ เปปซินในทางเดินอาหารของปลาแอตแลนติกแซลมอนระยะ fry พบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระยะที่เริ่มให้อาหาร (start-feeding period) และยังพบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์ในปลาที่เริ่มขึ้นสู่ระยะ เจริญพันธุ์มีแอกติวิตีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญมากกว่าปลาที่ยังไม่เข้าสู่ระยะ เจริญพันธุ์ (mature) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาเพศเมีย ซึ่งแสดงว่าเพศมีผลต่อแอกติวิตีของเอนไซม์ เปปซิน และแอกติวิตีนี้ก็ไม่เกี่ยวข้องกับขนาดของปลาแต่อย่างใด ไม่ว่าปลานั้นจะอยู่ในระยะ เจริญพันธุ์หรือไม่ก็ตามและสำหรับการศึกษาแอกติวิตีของปลาแอตแลนติกแซลมอนอายุ 3 ปี พบว่าแอกติวิตีเปลี่ยนแปลงไปตามขบวนการ เจริญพันธุ์เช่นกัน (maturation process) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่ปลาเข้าสู่ระยะ เจริญพันธุ์ระยะแรก (early maturation) พบว่ามีแอกติวิตีสูงที่สุด และจะลดลงเมื่อปลาคืบหน้าระยะการ เจริญพันธุ์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงระยะ เจริญพันธุ์เต็มที่ (adult)

ผลการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ เปปซินในลูกปลากระพงขาวทั้ง 3 กลุ่มการทดลองอาจสรุปได้ว่าแอกติวิตีของเปปซินไม่น่าจะถูกเหนี่ยวนำด้วยชนิดของอาหาร อย่างไรก็ตามมีรายงานของนักวิจัยหลายท่านพบว่าเอนไซม์ เปปซินน่าจะถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยชนิดของอาหารเช่นกัน (Kawai และ Ikeda, 1972) จากผลศึกษาการตอบสนองของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาการ์พวัยอ่อนต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดของอาหารที่มีระดับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน ได้รายงานไว้ในช่วงหนึ่งสัปดาห์แรกของการเจริญเติบโตเอนไซม์ เปปซินจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของอาหาร และเมื่อเลี้ยงปลาผ่านไป 10 วัน ให้เนื้อปลาเป็นอาหาร แอกติวิตีของเปปซิน จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นหรือลดลงอย่างเด่นชัดมากนัก

จากการทดลองเพื่อติดตามรูปแบบการสังเคราะห์เอนไซม์ เปปซินในลูกปลากระพงขาวนี้ พบว่าอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเป็นได้ว่าลักษณะการสังเคราะห์เอนไซม์จะไม่ขึ้นกับชนิดของอาหารและอายุของลูกปลากระพงขาวเลยปริมาณเอนไซม์ที่ถูกสังเคราะห์จะมีค่าคงที่ไม่ว่าลูกปลาจะมีอายุหรือน้ำหนักมากน้อยเพียงใดก็ตาม

จากความรู้ที่ได้ในการศึกษาเปปซินแอกติวิตีนั้นเชื่อว่าถ้าจะมีการผลิตอาหารสูตรสำเร็จขึ้นมาเพื่อใช้เลี้ยงลูกปลากระพงขาวควรอย่างยิ่งที่จะเป็นอาหารซึ่งมีปริมาณโปรตีนอยู่ในระดับสูงเมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งระดับโปรตีนที่สูงนั้นย่อมเหมาะแก่ความต้องการของปลาจำพวกปลากินสัตว์

มาก และโปรตีนนั้นควรได้จากสัตว์มากกว่าได้จากพืช เพราะในปลากินสัตว์มีเอ็นไซม์ย่อยโปรตีน เท่านั้นที่จะย่อยโปรตีนแล้วนำไปใช้ประโยชน์ได้ เหตุผลที่สนับสนุนให้เห็นชัดว่าโปรตีนช่วยให้มีการเจริญเติบโต ได้จากรายงานการทดลองของ Kawai และ Ikeda (1972) ซึ่งศึกษาอัตราการเจริญเติบโตในลูกปลาคาร์พที่กินอาหาร ซึ่งมีระดับโปรตีนแตกต่างกันและมีแป้งเป็นส่วนผสมสมคงที่ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของปลาสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในอาหาร โดยลักษณะที่ความสัมพันธ์นี้คล้ายกับเอ็นไซม์เปปซินกล่าวคือ ถ้ามีปริมาณโปรตีนมากแอกติวิตีของเปปซินก็มาก และอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้นด้วย

4.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาล

จากผลการตรวจสอบทางสภาวะถึงคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลแสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างจากสภาพที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนโดยทั่วๆ ไปมากนัก เมื่อพิจารณาถึงปริมาณการละลายของออกซิเจนในน้ำเลี้ยงปลาแล้วพบว่าอยู่ในสภาพที่ดีไม่มีปัญหาต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนแต่อย่างใด ทั้งนี้จากการศึกษาถึงการบริโภคออกซิเจนของปลาระยะฟักตัวอ่อนในระบบน้ำปิด-น้ำนิ่ง ของจารุวัฒน์ นภิตะภักดิ์ และสมนึก กบิลรัมย์ (2529) โดยเก็บข้อมูลจากลูกปลา 45 ตัวอย่าง ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 2.8-34.8 เซนติเมตร และน้ำหนัก 0.22-725.00 กรัม ซึ่งมีอัตราการบริโภคออกซิเจน 0.506-72.345 มิลลิกรัม/เซนติเมตร และระดับการบริโภคออกซิเจนจำเพาะ 2.291-0.1 มิลลิกรัม/เซนติเมตร อนุกรมระหว่างการทดลอง 25.8-29.1 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นชัดเจนว่าปริมาณออกซิเจนในบ่อที่ใช้อนุบาลลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนของการทดลองครั้งนี้ไม่น่าจะมีปัญหาและผลกระทบต่อลักษณะการเพาะเลี้ยงและการเจริญของลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนแต่อย่างใด

4.7 บทสรุป

เมื่ออนุบาลลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนที่มีอายุตั้งแต่ 15 ถึง 120 วัน ด้วยอาหารต่างชนิดกัน คือ กลุ่มที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิตตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง กลุ่มที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรสำเร็จตอนกลางวันสลับกับอาหารมีชีวิตตอนกลางคืน และกลุ่มที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรสำเร็จตลอดกลางวันและเสริมด้วยอาหารมีชีวิต 3 ครั้ง/สัปดาห์แล้ว นำลูกปลามาศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพและรูปแบบการเจริญเติบโต ชนิดของเอ็นไซม์ย่อยอาหาร ความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีของเอ็นไซม์กับช่วงอายุของการเจริญเติบโตรวมถึงศึกษาเปรียบเทียบลักษณะรูปแบบของการผลิตเอ็นไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลาระยะฟักตัวอ่อนในช่วงอายุต่าง ๆ กันเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิด ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

1. อัตราการเจริญเติบโตของปลากระพงขาวทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ด้านน้ำหนักตัวหรือความยาวลำตัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยลูกปลากระพงขาวในกลุ่มที่ 1 กินอาหารมีชีวิตซึ่งประกอบด้วยโรติเฟอร์อาร์ทีเมีย กุ้งเคย และเนื้อปลาข้างเหลืองสับตามลำดับให้ผลทางด้านศักยภาพและรูปแบบการเจริญเติบโตที่สุทธรองลงมาได้แก่ลูกปลากระพงขาวในกลุ่มที่ 2 กินอาหารสูตรสำเร็จสลับกับอาหารธรรมชาติ ส่วนอาหารสูตรสำเร็จเสริมด้วยอาหารมีชีวิต 3 ครั้ง/สัปดาห์ ซึ่งใช้เลี้ยงลูกปลากระพงขาวในกลุ่มที่ 3 ให้ผลทางด้านอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด
2. ลูกปลากระพงขาวสามารถสังเคราะห์เอ็นไซม์ย่อยอาหารได้อย่างน้อย 3 ชนิด คือ โคติเนสทริปซินเปปซิน ตรวจพบได้ตั้งแต่เริ่มทำการศึกษาคือปลาเมื่ออายุ 15 วันหลังฟักออกเป็นตัว แต่ไม่สามารถสังเคราะห์เอ็นไซม์อมายเลสซึ่งเป็นเอ็นไซม์ย่อยแป้งได้เลยในทุกส่วนต่างๆ ของทางเดินอาหาร
3. เมื่อทำการศึกษา พี.เอช. ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาวด้วยวิธี *in vitro* เมื่อใช้โคตินเป็นสับเสตรที่อุณหภูมิ 27° ซ. มีค่าอยู่ระหว่าง 5-6 และในสภาพที่ พี.เอช. ต่ำมากก เช่นที่ พี.เอช. 2 โคติเนสก็ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาได้สูงถึงเกือบ 50 % ของปฏิกิริยาที่ตรวจพบ แต่เมื่อ พี.เอช. เพิ่มขึ้นถึง 8 โคติเนสจะสูญเสียคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาไปโดยสิ้นเชิง
4. พี.เอช. ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาเพื่อย่อยสับเสตรท BAPNA ของเอ็นไซม์ทริปซินที่อุณหภูมิ 29° ซ. จะมี พี.เอช. ค่อนข้างไปทางด้านระหว่าง 8-9 ไม่สามารถตรวจพบทริปซินได้เมื่อ พี.เอช. สูงกว่า 10 และต่ำกว่า 4
5. สามารถตรวจพบแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสได้ทั้งในส่วนของกระเพาะอาหาร (หลอดอาหาร-กระเพาะอาหาร) และในส่วนของลำไส้ (ไส้ตั้ง-ทวารหนัก) ตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง (ปลาอายุได้ 15 วัน หลังฟักออกเป็นตัว) โดยที่รูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในช่วงอายุต่างๆ สามารถถูกเหนี่ยวนำให้มีแอกติวิตีเพิ่มขึ้นได้ด้วยองค์ประกอบของโคตินซึ่งมีอยู่ในอาหารได้แก่ อาร์ทีเมีย และกุ้งเคยเป็นส่วนใหญ่ไม่ได้สังเคราะห์เพิ่มขึ้นตามอายุและการเจริญเติบโตของลูกปลา
6. แอกติวิตีของโคติเนสในทางเดินอาหารของลูกปลากระพงขาวที่ช่วงอายุต่างๆ จะเป็นปฏิภาคกลับกับน้ำหนักของทางเดินอาหาร ไม่ว่าจะเป็นในส่วนกระเพาะอาหาร, ลำไส้ หรือทางเดินอาหารทั้งหมดมีอัตราส่วนของค่าแอกติวิตีต่อน้ำหนักทางเดินอาหารลดลงแสดงว่าประสิทธิภาพของการย่อยอาหารจำพวกโคตินเมื่อเทียบกับน้ำหนักทางเดินอาหารจะลดลงเมื่อปลาเมื่ออายุมากขึ้น
7. จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของชนิดอาหารต่อแอกติวิตีของเอ็นไซม์โคติเนสในทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วน (กระเพาะอาหาร ลำไส้ ทางเดินอาหารทั้งหมด) ของลูกปลากระพงขาวทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ด้วยวิธีวิเคราะห์ว่าเรียนซ์ปรากฏว่าไม่พบความแตกต่างของแอกติวิตีอย่างมีนัยสำคัญ

8. ไม่สามารถตรวจพบแอกติวิตีของเอ็นไซม์ทริปซินในส่วนกระเพาะอาหารของลูกปลา กะพงขาวเลย พบแต่เฉพาะในส่วนของลำไส้เท่านั้น โดยสามารถที่จะตรวจพบแอกติวิตีของทริปซิน ได้ตั้งแต่เริ่มทำการทดลองและพบว่าแอกติวิตีจำเพาะของเอ็นไซม์ทริปซินในลำไส้จะเพิ่มขึ้นเกือบ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับอายุของลูกปลาที่เพิ่มขึ้นและเพิ่มตามปริมาณการสังเคราะห์โปรตีน

9. การสังเคราะห์เอ็นไซม์ทริปซินในทางเดินอาหารไม่น่าจะถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยองค์ ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยง

10. ประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนของลูกปลากะพงขาวที่มีอายุมากขึ้น โดยวัดแอกติวิตี ของเอ็นไซม์เทียบกับน้ำหนักทางเดินอาหารพบว่าแอกติวิตีมีค่าลดลงเมื่อปลาที่มีอายุเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับกรณีของโคติเนส

11. เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับแอกติวิตีทริปซินด้วยวิธีวิเคราะห์ว่าเรียนซ์พบว่าลูกปลา ทั้ง 3 กลุ่มมีแอกติวิตีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยลูกปลาในกลุ่มที่ 1 มีแอกติวิตีสูงสุดรองลงมาได้แก่ลูกปลาในกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ

12. การศึกษาเปปซินซึ่งเป็นเอ็นไซม์ย่อยโปรตีนอีกชนิดหนึ่งให้ผลคล้ายคลึงกับสัตว์มี กระดุกหลังหลังทั่วไป คือตรวจพบแอกติวิตีของเอ็นไซม์ในส่วนของกระเพาะอาหาร ในขณะที่แอกติวิตี ของเปปซินที่วัดได้ในส่วนของลำไส้มีค่าน้อยมาก และสามารถตรวจพบแอกติวิตีได้ตั้งแต่ปลาอายุ 15 วันเช่นกัน

13. รูปแบบการสังเคราะห์เปปซินน่าจะถูกสังเคราะห์ขึ้นได้โดยไม่มีอิทธิพลจากองค์ ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยงเช่นเดียวกับทริปซิน

14. สำหรับประสิทธิภาพของการย่อยโปรตีนของเปปซินคือค่าแอกติวิตีของเอ็นไซม์ต่อ น้ำหนักทางเดินอาหารก็จะมีค่าลดลงเมื่อปลาที่มีอายุมากขึ้นเช่นเดียวกับที่พบในทริปซิน จากการศึกษา ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบแอกติวิตีของเอ็นไซม์เปปซินในลูกปลากะพงขาวทั้ง 3 กลุ่ม ในทางเดิน อาหารส่วนลำไส้และทางเดินอาหารทั้งหมด ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแอกติวิตี ในส่วนของกระเพาะอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4.8 ข้อเสนอแนะ

ในการสร้างอาหารสูตรสำเร็จที่เหมาะสมเพื่อใช้เลี้ยงปลานั้น ปัจจุบันถือว่ามีความสำคัญ อย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประเภทนี้มาก เพราะอาหารสูตรสำเร็จสามารถที่จะปรับองค์ประกอบของโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ วิตามิน ฯลฯ ให้เหมาะสมกับชนิดของปลาได้ดีกว่าอาหารมีชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นการกำจัดโรคแบคทีเรีย ไวรัส หรือปรสิตบางชนิดที่อาจติดมากับอาหารมีชีวิตเหล่านั้นได้ด้วย และจากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอาหารสูตรสำเร็จควรเข้ามามีบทบาทแทนอาหารมีชีวิตสำหรับการเพาะเลี้ยงลูกปลากะพงขาวได้แล้ว ซึ่งการใช้อาหาร

สูตรสำเร็จที่สร้างขึ้นมานี้เชื่อได้แน่นอนว่าสามารถใช้อุบลาลูกปลากะพงขาวได้จริง เพราะลูกปลาที่กินอาหารสูตรสำเร็จสามารถมีอัตราการเจริญเติบโตได้ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพด้อยกว่าอาหารมีชีวิตอยู่บ้างก็ตาม

วิธีการผลิตอาหารสูตรสำเร็จนั้นมียุทธศาสตร์ประกอบ 2 ประการที่ต้องพิจารณาเป็นสำคัญคือ การปรับองค์ประกอบของสารอาหารและการเลือกวัตถุดิบมาทำอาหาร เพราะการนำเอาวัตถุดิบราคาถูกและมีอยู่มากมายในประเทศไทยของเรามาจัดแปลงด้วยกรรมวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อใช้ในการทำอาหารสูตรสำเร็จยังเป็นเรื่องที่ต้องหยิบยกมาพิจารณา ทั้งนี้ควรคำนึงถึงต้นทุนการผลิตด้วย ยกตัวอย่างเช่น ประเทศไทยเราเป็นประเทศเกษตรกรรม มีผลิตภัณฑ์ประเภทแบ่งเป็นจำนวนมาก สิ่งที่ต้องพิจารณาเป็นสำคัญคือ ทำอย่างไรจึงจะสามารถใช้แบ่งที่มีอยู่มากมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการทำอาหารสูตรสำเร็จเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ได้มากที่สุด ในสัตว์น้ำบางประเภท โดยเฉพาะปลากินพืช การใช้อาหารจำพวกแบ่งเป็นส่วนผสมในอาหารร่วมกับโปรตีนในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ปลา มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้น แต่สำหรับพวกปลากินเนื้ออย่างแท้จริงเช่นในปลากะพงขาว การใช้แบ่งเป็นส่วนผสมในอาหารสูตรสำเร็จย่อมเป็นไปได้ยาก เพราะปลากะพงขาวไม่มีเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแบ่ง ฉะนั้นการนำเอาแบ่งไปเป็นส่วนผสมในอาหารให้ลูกปลากะพงขาวกินก็จะเป็นการสูญเสียประโยชน์ไปโดยใช่เหตุ หรือถ้าจะมีการเปลี่ยนแบ่งให้อยู่ในรูปอื่น เช่น กลูโคส โดยการใช้อเอ็นไซม์อมาเลสหรือกลูโคสอมาเลสมาทำการเปลี่ยนแบ่งให้เป็นน้ำตาลเสียก่อน หากสามารถมีแหล่งเอ็นไซม์เหล่านี้ราคาถูกและคุ้มทุนก็อาจจะเป็นไปได้ที่จะใช้แบ่งเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต

อย่างไรก็ตามแน่นอนที่สุดคือ ในอาหารสูตรสำเร็จที่ใช้เลี้ยงลูกปลากะพงขาวจำเป็นต้องมีโคตินเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ เพราะหากไม่มีโคตินแล้วลูกปลากะพงขาวจะไม่มีแหล่งของคาร์โบไฮเดรตเพื่อใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึมอันเป็นแหล่งของพลังงานหลักของสัตว์มีกระดูกสันหลังโดยทั่วไป อีกประการหนึ่งปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในอาหารสูตรสำเร็จก็มีความจำเป็นอย่างมากที่จะมีผลต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของลูกปลากะพงขาว เป็นที่น่าสังเกตว่าในการวิจัยนี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์แอกติวิตีของเอ็นไซม์ในการย่อยไขมัน ซึ่งน่าจะเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในอาหารอีกชนิดหนึ่งด้วย

อนึ่งแม้ว่าการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะได้กระทำในปลาชนิดอื่น ๆ ก็ตาม แต่ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ก็พอจะเป็นบรรทัดฐานที่ดีในการพิจารณาสร้างสูตรอาหารสำเร็จกับลูกปลาชนิดอื่นที่อยู่ในตระกูลเดียวกันและใกล้เคียงกันนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และน่าจะถือเป็นความจำเป็นอย่างยิ่งของนักวิชาการทางโภชนศาสตร์ของปลาที่ควรจะต้องทำการศึกษาถึงชนิดและรูปแบบการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในปลาชนิดต่างๆ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจก่อนที่จะมีการพัฒนาสูตรอาหารซึ่งจะให้ผลสำเร็จของการเพาะเลี้ยงต่อไป

เหตุผลอีกประการหนึ่งนอกเหนือจากการติดตามความสามารถในการย่อยอาหารของลูกปลา โดยติดตามชนิดและรูปแบบของการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในทางเดินอาหารของลูกปลาแล้ว ยังมีปัจจัย

ที่มีความสำคัญอย่างมากต่อการเพาะเลี้ยงลูกปลาโดยใช้อาหารสูตรสำเร็จก็คือ ความสามารถในการย่อยและการดูดซึมผลิตภัณฑ์หลังจากการย่อยแล้ว ผลการทดลองที่ได้ศึกษาในการวิจัยนี้บางส่วนพบว่าเมื่อทำการผ่าตัดกระเพาะอาหารและตรวจดูลักษณะของอาหารที่ให้แก่ลูกปลา ภายหลังจากกินอาหารไปแล้ว 20 นาที พบว่าลูกปลาที่กินอาหารธรรมชาติ คืออาร์ทีเมียจะถูกย่อยจนและในขณะที่อาหารสูตรสำเร็จกลับอยู่ในสภาวะถูกย่อยได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าสภาวะการย่อยอาหารจริงๆ ในธรรมชาติ (*in vivo*) น่าจะได้รับการพิจารณาพร้อมด้วย นอกจากนี้สรีรสภาพของลูกปลาขณะทำการทดลองคือขนาดของเม็ดอาหารที่เหมาะสมกับปากของลูกปลาขณะงวอดรวมถึงลักษณะและขั้นตอนของการให้อาหาร อัตราการจมน้ำของอาหาร กลิ่น รส ฯลฯ ล้วนแต่เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญทั้งสิ้น ดังนั้นจะสังเกตได้จากผลการทดลองในการวิจัยนี้เช่นกัน ที่พบว่าในระยะแรกของการให้ลูกปลากินอาหารสูตรสำเร็จนั้น ลูกปลาจะไม่สนใจอาหารสูตรสำเร็จที่ให้เลย แต่เมื่อฝึกให้ลูกปลาเกิดความคุ้นเคยต่ออาหารและวิธีการให้ตลอดจนรสชาติของอาหารสูตรสำเร็จแล้ว ลูกปลาส่วนใหญ่จะไม่ลังเลที่จะเข้ามากินอาหารที่ให้เลย