รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาวที่มีวัตถุดิบพืชทดแทนปลาป่น

Suitable Form and Storage Conditions of Tuna Visceral Hydrolysate as Feeding Stimulant in Plant Based Asian Seabass Diet.

ผศ.ดร.ชุติมา ตันติกิตติ

ภาควิชาวาริชศาสตร์

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต หาดใหญ่

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2558 รหัสโครงการ NAT 5807815

รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาวที่มีวัตถุดิบพืชทดแทนปลาป่น

Suitable Form and Storage Conditions of Tuna Visceral Hydrolysate as Feeding Stimulant in Plant Based Asian Seabass Diet

ผศ.ดร.ชุติมา ตันติกิตติ

ภาควิชาวาริชศาสตร์

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต หาดใหญ่

สารบัญ

หน้า

สารบัญ .....(3)
สารบัญตาราง .....(4)
สารบัญภาพ .....(6)
กิตติกรรมประกาศ.....(7)
บทคัดย่อ .....(8)
บทที่ 1 บทนำ 1
บทที่ 2 การทดลองที่ 1.....19
2.1 บทคัดย่อ.....19
2.2 บทนำ.....20
2.3 วัตถุประสงค์.....21
2.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง 21
2.5 ผลการทดลอง.....30
2.6 วิจารณ์ผลการทดลอง 43
2.7 สรุปผลการทดลอง 47
บทที่ 3 การทดลองที่ 2.....48
3.1 บทคัดย่อ.....48
3.2 บทนำ.....49
3.3 วัตถุประสงค์.....50
3.5 ผลการทดลอง.....57
3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง 65
3.7 สรุปผลการทดลอง 69
บทที่ 4 สรุปผลการศึกษา.....70
เอกสารอ้างอิง.....71
ภาคผนวก 80

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในการทดลองที่ 1 (AS-FED BASIS)...27
ตารางที่ 2 องค์ประกอบเคมีของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) (ฐานน้ำหนักแห้ง) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 33
ตารางที่ 3 ค่า PH AW และ NSI ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 34
ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 38
ตารางที่ 5 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย และปริมาณอาหารที่กินของปลากะพงขาวในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0, 4 และ 8 สัปดาห์ 41
ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม SGR FCR และ อัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่เลี้ยงในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และD-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0, 4 และ 8 สัปดาห์.....42
ตารางที่ 7 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมี (กรัม/ 100 กรัมอาหาร, As-fed basis) ในการทดลองที่ 2 ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง 53
ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอดตายของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 58
ตารางที่ 9 ปริมาณอาหารที่กิน FCR PER และ PPV ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 60
ตารางที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 63

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 11 กิจกรรมของลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 64

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 อวัยวะที่ใช้ย่อยอาหารของปลากะพงขาว....4
ภาพที่ 2 หลักการการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีน....4
ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตทูน่ากระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง....9
ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์....10
ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน....13
ภาพที่ 6 รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการผลิต....23
ภาพที่ 7 สรุปแผนการทดลองที่ 1....29
ภาพที่ 8 ค่า TVB-N ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง(D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-test (ตัวอักษรพิมม์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมม์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์....37
ภาพที่ 9 ค่า TBARS ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-Test (ตัวอักษรพิมม์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมม์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์....37
ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน (ยูนิต/มิลลิลิตร) ในกระเพาะปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นเวลา 8 สัปดาห์....63

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2558 รหัส NAT 5807815 เรื่องรูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาวที่มีวัตถุดิบพืชทดแทนปลาป่น ขอขอบพระคุณบริษัท เจริญโภคกัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานผลิตอาหารสัตว์น้ำบ้านพรุ บริษัทไทยยูเนียน ฟีดมิลล์ จำกัด บริษัทโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด (มหาชน) และ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสงขลา ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบอาหาร เครื่องในปลาทูน่า และลูกพันธุ์ปลากะพงขาว ตามลำดับ ขอขอบพระคุณภาควิชาสัตว์ศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณสุจิตร ชลดำรงกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยสัตว์น้ำกิจการ ศุภมาตย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่สำนักงานภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกคน ในการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ พบว่าระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ความชื้นของ D-TVH เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงความชื้นในตัวอย่าง C-TVH สำหรับปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) และการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) D-TVH มีระดับ TVB-N เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป ขณะที่ TBARS มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 และลดต่ำลงในเวลาต่อมา ค่าสีของตัวอย่างทั้งสองรูปแบบพบการลดลงของความสว่าง (L*) ขณะที่ค่าที่แสดงความเป็นสีแดง (a*) และสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ ที่มีการเก็บรักษา 3 ช่วงเวลา (0 4 และ 8 สัปดาห์) เสริมในอาหารที่ไม่มีปลาป่นที่ระดับ 5 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 2.19±0.02 กรัมต่อตัว ที่ความหนาแน่น 8 ตัวต่อตู้ (บรรจุน้ำจืดขนาด 100 ลิตร) โดยให้อาหารจนปลาอิ่มเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีระดับต่ำสุดในสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปลาที่กินอาหารที่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้งหมด และสูตรอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นส่วนประกอบของอาหาร ($p>0.05$) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบ และช่วงเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต แต่ไม่มีผลต่อการนำไปใช้เป็นสารกระตุ้นการกิน สำหรับการเลือกใช้รูปแบบของเครื่องในทูน่าไฮโดรไลเสต ควรเลือกใช้เครื่องในทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งเมื่อต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 สัปดาห์เนื่องจากตัวอย่าง C-TVH มีการลดลงของระดับโปรตีนในตัวอย่างเครื่องในทูน่าไฮโดรไลเสต โดยมีการเสื่อมคุณภาพของ C-TVH สูงกว่า D-TVH

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและโปรตีน รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด) เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น และเสริมด้วย D-TVH ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 2.60±0.02 กรัมต่อตัว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ชุดควบคุมมีปลาป่นเป็นส่วนประกอบ 15.03 เปอร์เซ็นต์

(สูตรที่ 1) ลดปริมาณปลาป่นโดยทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับ 33, 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของปลาป่นในอาหารสูตรที่ 2 , 3 และ 4 ตามลำดับ สูตรที่ 5 คือสูตรอ้างอิงซึ่ง มีเนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักและเสริมด้วย D-TVH พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มมีระดับสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 2 และสูตรอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่กินอาหารเสริมด้วย D-TVH ขณะที่ปลาในชุดควบคุมมีปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันในระดับต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในส่วนของกิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน สูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินสูงที่สุด ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในไส้ติ่ง (ยูนิต/มิลลิลิตร) มีแนวโน้มลดลงตามปริมาณของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่เพิ่มสูงขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัคคาไลน์ฟอสฟาเตส (ยูนิต/มิลลิลิตร) ในบริเวณลำไส้ไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง แต่แตกต่างกันในไส้ติ่งของปลา โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองสูงกว่าปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษา TVH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โดยรูปแบบแห้งมีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์รูปแบบหนืดที่มีการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แต่รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตไม่มีผลต่อการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร โดยปลากะพงขาวสามารถใช้อาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ เมื่อมีการเสริม D-TVH เป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร

ABSTRACT

The study consisted of 2 experiments. Experiment 1, the effects of forms and storage time on chemical and physical quality of tuna viscera hydrolysates (TVH) that produced in two forms, concentrate (C-TVH) and dry (D-TVH) products, and stored at ambient temperature for eight weeks were studied. The results showed that protein and lipid contents decreased significantly with the storage time ($p<0.05$). The moisture content of D-TVH increased in 4-week storage samples, but that of C-TVH did not changed. On the contrary, the levels of total volatile bases nitrogen volatile bases (TVB-N) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the C-TVH samples increased after 2 weeks during the storage time ($p<0.05$). D-TVH had increased TVB-N after 6 weeks and increased TBARS to the highest level at 4 weeks then, the levels decreased. As for the changes of color, the lightness (L*) decreased with the storage time while the redness (a*) and yellowness (b*) increased ($p<0.05$). The hydrolysate products (C-TVH and D-TVH) that stored at different durations (0, 4 and 8 weeks) were supplemented in the diets at 5 grams per kilogram of fish meal free diets. Asian seabass with the individual initial weight of 2.60±0.02 grams/fish were stocked at a density of 8 fish per 100 L aquarium, and the fish were hand-fed to apparent satiation for 4 weeks. Feed intake, average final weight, percentage weight gain and specific growth rate of the control group were significantly the lowest ($p<0.05$). The feed consumption and growth performance parameters of fish fed diets supplemented with hydrolysate products and those of the reference group were not statistically different ($p>0.05$). The results indicated that the storage time of TVH products did not have any effect on feed intake and both TVH products could be used as a feeding stimulant in Asian seabass diet. However, the protein quality decreased over storage time in C-TVH product in comparison with that of the D-TVH. Therefore, the suitable form of TVH product for dietary supplementation should be in the dry form when stored at ambient temperature (22-28 C°) for 8 weeks.

Experiment 2 was conducted to investigate growth, feed and protein utilization and activity of digestive enzymes in Asian seabass fed diets containing meat meal and soybean products (solvent extracted soybean meal and soybean protein) as the alternative protein sorces to fish meal with the D-TVH supplementation at 5% of diet. The experimental design was completely randomized design (CRD) composing of five treatments with four replications. The control diet (diet 1) contained fish meal at 15.03% of diet which was replaced with soybean products by 5.01%, 10.03 and 15.03 for diets 2, 3 and 4, respectively. Diet 5 was the reference

diet that contained meat meal as a sole source of protein and supplemented with D-TVH. Twelve fish with an average intial weight of 2.60±0.02 grams per fish were stocked into each aquarium and fed with respective experimental diets for 8 weeks. At the end of the feeding trial, feed intake, final weight, and percentage weight gain were significantly the highest in the groups fed diet 2 and the reference diet ($p<0.05$), but not statistically different from those fed D-TVH supplemented diets. The control group showed significantly ($p<0.05$) the lowest feed intake, final weight, weight gain and specific growth rate (SGR). Feed and protein utilization efficiency of the fish fed D-TVH supplemented diets were significantly higher than those fed the control diet ($p<0.05$). Level of pepsin activity in the control fish that fed soybean free diet was the highest. Trypsin activity levels (unit/mL) in the pyloric caeca exhibited decreasing trend as the soybean product inclusion levels were increased. Activity (unit/mL) of leucine-aminopeptidase and alkaline phosphatase in the fish intestine was not statistically different ($p>0.05$) among treatments but those in the pyloric caeca was significantly different in that the activity levels of the two enzymes were higher than those in the control group ($p<0.05$).

The present sudy demonstrated that the TVH forms and storage time affected the quality of the products in that the dry form was more stable than the concentrated form showing lower quality changes after storing at ambient temperature for 8 weeks. However, the TVH forms showed a similar feeding improvement effect when supplemented as a feeding attractant in the diets. The alternative protein sources, soybean products and meat meal, could be used to replace fish meal in diets with the supplementation of D-TVH for Asian seabass.

บทที่ 1
บทนำ

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) เป็นปลาน้ำกร่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตไว เนื้อมีรสชาติดี ปัจจุบันการเลี้ยงปลาชนิดนี้มีการขยายตัวมากขึ้น ทั้งการเลี้ยงในกระชังและบ่อดินในเขตน้ำจืด น้ำกร่อย และชายฝั่งทะเลในรูปแบบกึ่งพัฒนา และพัฒนา จากความต้องการทางตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงภายหลังจึงนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปแทนที่อาหารสด ซึ่งในการผลิตอาหารสำเร็จรูปนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีมีกรดอะมิโนที่เหมาะสมครบถ้วน เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น อีกทั้งมีความน่ากินต่อสัตว์น้ำ แต่ราคาของปลาป่นในปัจจุบันขยับตัวสูงขึ้นส่งผลต่อการราคาของต้นทุนค่าอาหารที่เพิ่มขึ้น จึงได้มีความพยายามในการหาแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนปลาป่น

ถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำชนิดต่างๆ เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น และมีปริมาณเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำหลายๆ ชนิด กากถั่วเหลืองที่ผลิตจากโรงงานสกัดน้ำมันได้รับความนิยม และมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์ กากถั่วเหลืองแม้จะมีโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ แต่ยังมีปัจจัยจำกัดที่ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ได้อย่างเต็มที่ Chuapoehuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่า การใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารจะลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Tantikitti และคณะ (2005) ได้รายงานระดับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงขาว หากทดแทนสูงขึ้นกว่านี้ปลาจะมีการกินอาหารน้อยลงส่งผลต่อเจริญเติบโต การใช้โปรตีนทดแทนจากกากถั่วเหลืองในปริมาณสูงส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของกรดกรดอะมิโนบางตัว โดยเฉพาะเมทไธโอนีนซึ่งพบในปริมาณต่ำในวัตถุดิบโปรตีนจากพืช เพื่อลดปัญหาการขาดกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นจึงมีการผลิตกรดอะมิโนในรูปของสารสังเคราะห์เพื่อใช้เติมเต็มในส่วนของกรดอะมิโนที่ขาด ปัญหาอีกประการของการนำถั่วเหลืองมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลัก พบว่าอาหารที่ผลิตขึ้นโดยใช้วัตถุดิบพืชไม่สามารถดึงดูดให้ปลาเข้าไปกินอาหารได้เทียบเท่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาป่น ปัญหานี้นำไปสู่การศึกษาถึงสารที่สามารถดึงดูดการกินอาหารให้กับสัตว์น้ำ โปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัตถุดิบเศษเหลือจากอุตสาหกรรมสัตว์น้ำเป็นตัวเลือกที่ดีที่จะนำมาใช้ในการผลิตเป็นสารกระตุ้นการกิน เมื่ออาหารที่ผลิตมีการใช้วัตถุดิบทดแทนจากพืชในระดับสูง

โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรซีสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ เร่งปฏิกิริยาโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง สามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ได้ โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากวัตถุดิบปลามีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโตและดึงดูดการกินอาหารในสัตว์น้ำ เครื่องในปลาทูน่าจัดเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตอาหารทะเลมีความน่าสนใจในการนำมาใช้ผลิตไฮโดรไลเสต เนื่องจากวัตถุดิบเครื่องในมีปริมาณโปรตีนที่สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (อัจฉริยา, 2542) มีการศึกษาพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนโปรตีนปลาป่น (สุภาพร, 2549) และสามารถดึงดูดการกินอาหารในกุ้งขาวได้ (อานัส, 2551) ขณะที่การศึกษาของ Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถใช้ไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในปลากะพงขาวได้ดี แม้จะมีการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการนำไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในสัตว์น้ำ แต่รูปแบบของไฮโดรไลเสต และผลการเก็บรักษาต่อคุณภาพของไฮโดรไลเสตยังมีข้อมูลอยู่เพียงเล็กน้อย จึงเป็นแนวทางเหมาะสมที่ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถใช้ไฮโดรไลเสตที่ผลิตขึ้นมาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

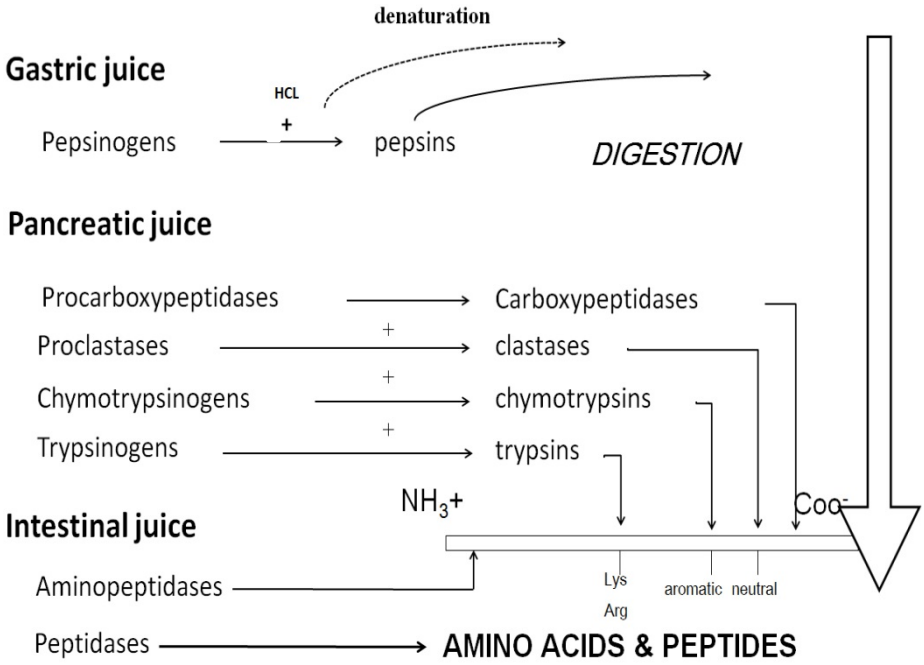
พฤติกรรมการกินอาหารของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวมีอวัยวะที่ไวต่อการรับกลิ่นที่เรียกว่าเคโมรีเซพเตอร์(Chemoreceptor) ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในการหาอาหาร แม้ว่าสารนั้นจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย อวัยวะที่ใช้ในการรับกลิ่นของปลาอยู่บริเวณตรงกลางของหัวในส่วน Paired nares และ Olfactory pits ในขณะที่อวัยวะรับรสจะแพร่กระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจากตุ่มรับรสของปลาไม่ได้อยู่ตรงกลางภายในช่องปากเหมือนสัตว์บกที่มีกระดูกสันหลัง แต่จะพบในปากและส่วนต่างๆ รอบๆ ตัวปลา ตุ่มรับรสที่พบภายในตัวปลาได้แก่บริเวณ ลิ้น และเหงือก ส่วนตุ่มรับรสภายนอกจะมีด้วยกันหลายตำแหน่ง เช่น บริเวณเหนือริมฝีปาก หนวด และพื้นผิวบริเวณหัวของปลา (Gerking, 1994) ปลากะพงขาวต้องการอาหารที่ให้โปรตีนในระดับสูง โดยเฉพาะในช่วงวัยอ่อน และลดลงเมื่อโตขึ้นเป็นปลาเต็มวัย ความต้องการโปรตีนของปลายังขึ้นอยู่กับลักษณะและคุณภาพโปรตีน ปลาจะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีกรดอะมิโนครบถ้วนทั้งปริมาณและคุณภาพ โดยระดับที่เหมาะสมของโปรตีนในปลากะพงขนาดเล็กอยู่ที่ระดับ 45-50 เปอร์เซ็นต์ (Cuzon, 1988 อ้างโดย Glencross, 2006) สำหรับปริมาณของไขมันซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ปลากะพงขนาดเล็กต้องการไขมันในระดับ 15 และ 18 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่มีระดับโปรตีนอยู่ที่ 50 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่

เมื่อปลามีขนาดใหญ่ขึ้น 9-62 กรัม พบว่าไขมันในอาหารที่ระดับ 9.3 และ 12.9 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างกัน ในขณะที่ปลากะพงขาวมีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตได้ไม่ดีนัก ระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหารปลากะพงขาวขนาดเล็กไม่ควรเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อไขมันอยู่ที่ระดับ 6-18 เปอร์เซ็นต์ (Catacutan and Coloso, 1998) สำหรับวิตามินที่สำคัญต่อปลากะพงขาว ได้แก่ ไพริดอกซีน กรดแพนโททีนิก ไรโบฟลาวิน อินโนซิทอล วิตามินซี ไธอามีน และวิตามินอี (Glencross, 2006) ในส่วนของแร่ธาตุ ปลากะพงขาวต้องการปริมาณแร่ธาตุแปรเปลี่ยนตามชนิดและวัตถุดิบที่ใช้ อาหารส่วนใหญ่มีปริมาณแร่ธาตุที่ค่อนข้างเพียงพอกับความต้องการของปลาอยู่แล้ว โดยแร่ธาตุที่ปลาไม่ควรขาดได้แก่ ประกอบด้วย แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส

อวัยวะภายในที่ใช้ย่อยอาหารของปลากะพงขาว (ภาพที่ 1) จัดเป็นระบบที่มีความสำคัญที่จะช่วยในการนำสารอาหารเข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากกระบวนการย่อยมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา อาหารที่ปลากินเข้าไปจะถูกย่อยให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง เพื่อจะสามารถดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ เข้าสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต และกระบวนการต่างๆที่สำคัญต่อไป ปลากะพงขาวจัดอยู่ในกลุ่มปลากินเนื้อ มีกระเพาะอาหารเป็นรูปตัววาย ลำไส้มีลักษณะตรงและสั้น กว่าลำไส้ในกลุ่มปลากินพืช ดังนั้นเมื่อปลากินอาหารฟันจะทำหน้าที่บดทำให้ขนาดของอาหารเล็กลง จากนั้นอาหารจะเดินทางเข้าสู่หลอดอาหารเพื่อผ่านต่อไปยังกระเพาะอาหารและลำไส้ สองอวัยวะที่กล่าวถึงจัดเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญในการย่อย และดูดซึมอาหาร โดยมีเอนไซม์หรือน้ำย่อยเป็นส่วนสำคัญ โดยการทำงานของเอนไซม์ (ภาพที่ 2) ทันทีที่อาหารผ่านเข้าสู่กระเพาะจะมีการหลั่งกรดเกลือเพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปปซิโนเจนให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์ชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์โปรติเอสที่มีหน้าที่หลักในการย่อยโปรตีน หลังจากนั้นโปรตีนโมเลกุลจะถูกย่อยให้กลายเป็นเปปไทด์สายสั้นๆ ก่อนจะถูกนำไปย่อยต่อที่บริเวณลำไส้ โดยมีตับอ่อนเป็นตัวผลิตเอนไซม์ ได้แก่ ทริปซิโนเจน และไคโมทริปซิโนเจน ที่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์เอนเตอโรไคเนส ให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์ทริปซิน และทำหน้าที่ย่อยสายเปปไทด์ให้สั้นลงจนอยู่ในรูปเปปโตนจากนั้นเปปโตนจะถูกเอนไซม์ในกลุ่มอะมิโนเปปติเดสย่อยให้กลายเป็นโพลีเปปไทด์ และไดเปปไทด์ จนสุดท้ายได้เป็นกรดอะมิโน ซึ่งจัดเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดเพื่อปลาจะดูดซึมกรดอะมิโนไปใช้งานต่อไป สำหรับเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยไขมันได้แก่เอนไซม์ไลเปสซึ่งผลิตมาจากผนังลำไส้และตับอ่อนทำหน้าที่ย่อยไตรกลีเซอไรด์ให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลงจนอยู่ในรูปกรดไขมันอิสระ ในขณะที่แอลฟาอะไมเลสที่ผลิตได้จากผนังของกระเพาะผนังลำไส้และตับอ่อน จะย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นกลูโคสเพื่อดูดซึมไปใช้เป็นแหล่งพลังงานต่อไป (Bassompierre,1997)

ภาพที่ 1 อวัยวะที่ใช้ย่อยอาหารของปลากะพงขาว



ภาพที่ 2 หลักการการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีน

ที่มา: Bassompierre (1997)

แหล่งโปรตีนในการผลิตอาหารปลากะพงขาว

จากความต้องการทางตลาดที่เพิ่มสูงขึ้นของปลากะพงขาว การเลี้ยงภายหลังจึงนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสด ซึ่งในการผลิตอาหารสำเร็จรูปนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เนื่องจากปลาป่นจัดเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน โดยเฉพาะ ไลซีน เมทไธโอนีน และทริปโตเฟน ที่จัดเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายต้องการและสร้างไม่ได้ อีกทั้งยังเป็นแหล่งที่ดีของกลุ่มวิตามินบีรวม โดยเฉพาะวิตามินบี 12 วิตามินบี 2 และโคลีน นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของแคลเซียม และฟอสฟอรัส เป็นวัตถุดิบอาหารที่เพิ่มความอยากกินอาหารของสัตว์ได้ดี (Samocha *et al.,* 2004) ปัจจุบันปลาป่นคุณภาพดีนั้นมีราคาแพง เนื่องจากปริมาณการผลิตที่ไม่แน่นอน รวมทั้งมีการคาดการณ์ถึงอนาคตของปลาป่นที่จะยิ่งลดน้อยลงจากการนำทรัพยากรสัตว์น้ำจากทะเลขึ้นมาใช้ประโยชน์มากเกินขีดจำกัดการผลิต รวมถึงปัญหาที่เกิดจากความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ ส่งผลให้มีความพยายามในการหาแหล่งโปรตีนสำรองเพื่อนำมาใช้เป็นทางเลือกทดแทนปลาป่น ปัจจุบันแหล่งโปรตีนทดแทนที่มีองค์ประกอบทางโภชนาการสามารถนำมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด โดยทั่วไปวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการเป็นวัตถุดิบโปรตีนในอาหารไม่ควรมีโปรตีนต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ โดยพบได้ทั้งแหล่งโปรตีนที่ได้ทั้งจากพืช และสัตว์

1. แหล่งโปรตีนจากสัตว์

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์บกรวมทั้งเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตของสัตว์ทะเล จัดเป็นโปรตีนทางเลือกที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนผลิตอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากมีโปรตีนคุณภาพสูง แต่ราคาต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับราคาของปลาป่นที่เพิ่มสูงขึ้น แหล่งวัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์ที่ถูกนำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ เนื้อป่น เนื้อและกระดูกป่น ไก่ป่น เลือดป่น ขนไก่ป่น และ เครื่องในปลาทูน่าป่น เป็นต้น (Millamena, 2002; Williams *et al*., 2003; Chotikachinda, 2014)

เนื้อป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเศษเนื้อ เอ็น พังผืด ของโรงงานผลิตเนื้อสัตว์ใหญ่นำมาผลิตเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ เนื้อป่นมีส่วนของกระดูกผสมอยู่น้อย ทำให้มีฟอสฟอรัสประมาณ 4.4 เปอร์เซ็นต์ และมีแคลเซียมอยู่ไม่เกินครึ่งของฟอสฟอรัสที่มีอยู่ ในขณะที่เนื้อและกระดูกป่น จะมีเศษเนื้ออยู่น้อยแต่มีกระดูกมาก โปรตีนมักพบน้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ฟอสฟอรัสจะสูงตามปริมาณของเศษกระดูกที่ผสมอยู่ในเนื้อวัตถุดิบ มีการศึกษาถึงการนำเนื้อป่นมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำ โดย Williams และคณะ (2003)

พบว่าสามารถนำเนื้อป่นที่มีโปรตีนที่ระดับ 52 เปอร์เซ็นต์ นำมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว ขณะเดียวกันไก่ป่นก็เป็นอีกวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ในอาหารปลากินเนื้อ วรพรรณ (2555) ได้ศึกษาระดับการใช้เศษไก่ป่นแทนปลาป่นที่เหมาะสมกับอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากะพงขาว พบว่าเศษไก่ป่นสามารถทดแทนปลาป่นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาทดลองขนาด 1.5 นิ้ว และสามารถใช้เศษไก่ป่นแทนปลาป่นได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาทดลองขนาด 3 นิ้ว เช่นเดียวกับปลากินเนื้อชนิดอื่นๆ Millamena (2002) ได้ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยเนื้อป่นผสมเลือดป่นในอัตรา 4:1 ในอาหารปลาเก๋าจุดน้ำตาล พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นผสมเลือดป่นทดแทนปลาป่นได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา ขณะที่ Shapawi และคณะ (2007) ได้ศึกษาระดับของการใช้ไก่ป่นทดแทนปลาป่นในอาหารปลาเก๋า พบว่าระดับที่เหมาะสมของไก่ป่นในการทดแทนปลาป่นได้ที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ให้การเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกิน และการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างจากปลาที่กินอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีน สำหรับในปลากะพงขาว Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถนำไก่ป่นมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาวได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเสริมสารกระตุ้นการกินอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตลงในอาหาร ปัจจุบันมีการนำวัตถุดิบจากสัตว์บก เช่น เนื้อป่น และ ไก่ป่น มาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า เนื้อป่นแม้จะมีโปรตีนสูงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน แต่คุณภาพของเนื้อป่น หรือเนื้อและกระดูกป่น ก็ยังด้อยกว่าปลาป่นในส่วนของกรดอะมิโน เนื่องจากมีระดับของกรดอะมิโน ไลซีน และเมทไธโอนีนต่ำ ดังนั้นเมื่อมีการนำเนื้อป่นมาใช้ผลิตอาหารต้องคำนึงถึงระดับของกรดอะมิโนในอาหารให้ครบถ้วนตามที่สัตว์น้ำต้องการ และอาจมีการเสริมสารกระตุ้นการกินเพื่อเพิ่มความน่ากินให้อาหารเพิ่มลงไปเพื่อเพิ่มการยอมรับอาหารของปลา

2. แหล่งโปรตีนจากพืช

พืชที่นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลามีด้วยกันหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน วัตถุดิบพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน คือ กากถั่วเหลือง เรฟซีดป่น ข้าวโพดป่น และ ลูปินป่น เป็นต้น

กากถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีแนวโน้มในการผลิตที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากราคาย่อมเยาว์เมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่นหรือวัตถุดิบจากสัตว์อื่น ๆ วัตถุดิบที่ผลิตจากถั่วเหลืองมีระดับของโปรตีนที่สูง มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นใกล้เคียงกับปลาป่น ในอุตสาหกรรมการผลิตถั่วเหลืองมีหลายรูปแบบที่ถูกนำมาใช้ เช่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน โปรตีนถั่วเหลืองสกัด รวมถึงถั่ว

หมัก โดยวัตถุดิบส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันถั่วเหลือง เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบพืชต่างชนิดที่มีระดับของโปรตีนสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากากถั่วเหลืองมีปริมาณมากเพียงพอกับความต้องการของตลาด และยังมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนดีกว่าแหล่งโปรตีนจากพืชชนิดอื่นๆ ขณะที่ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีเหมาะแก่การนำมาใช้ผลิตอาหาร เนื่องจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันจะผ่านกระบวนการผลิตโดยใช้ความร้อนสูงทำให้สามารถยับยั้งสารต้านโภชนาการจำพวกทริปซินได้เกือบทั้งหมด ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัด ถั่วเหลืองจะถูกนำไปสกัดคาร์โบไฮเดรตออกเพื่อเพิ่มระดับของโปรตีนให้สูงขึ้น แต่ทั้งนี้ไขมันที่อยู่ในโปรตีนถั่วเหลืองสกัดจะลดลงจากขั้นตอนการผลิต โดยโปรตีนถั่วเหลืองสกัดจะมีโปรตีนตั้งแต่ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถั่วหมักเป็นการนำกากถั่วมาหมักกับจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก โดยแบคทีเรียจะทำการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรต ในกากถั่วให้เป็นกรดแลคติก ทำให้เพิ่มความสามารถในการย่อยของสัตว์ และลดสารต้านโภชนาการในกากถั่ว รวมทั้งฤทธิ์ของกรดแลคติก ยังช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคอีกด้วย เพียงแต่พลังงานในถั่วหมักจะไม่สูงเมื่อเทียบกับโปรตีนถั่วเหลือง และสารพิษในถั่วหมักไม่ถูกทำลายจากการหมักจึงไม่ได้รับความนิยม (พันทิพา, 2539)

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาเพื่อจะนำผลผลิตจากถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนการใช้ปลาป่นเพิ่มมากขึ้น Mae และ Gregorial (2004) ได้ทำการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในปลากะพง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในปริมาณมากขึ้นจะมีการสะสมไขมันในร่างกายลดลง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นที่ระดับ 48 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไขมันต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ Tantikitti และคณะ (2005) ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวโดยใช้อาหารทดลองที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ต่างกัน พบว่าการใช้กากถั่วเหลืองที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว สำหรับปลากะพงที่ได้รับอาหารทดลองที่มีระดับของกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นจากนี้ พบว่ามีน้ำหนักสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงตามเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของกากถั่วเหลือง

Ai และ Xie (2006) ได้ทำการศึกษาระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปลาเซาเทิร์นแคทฟิช พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน มีค่าการใช้สารอาหารในร่างกาย (Specific dynamic action, SDA) ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 52 และ 65 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน แต่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 26 เปอร์เซ็นต์โปรตีน มีค่า

การใช้สารอาหารในร่างกายไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน นอกจากนี้ยังมีอีกหลายการศึกษาที่แสดงความเป็นไปได้ที่จะทดแทนปลาป่นเกือบทั้งหมดด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลาหลายชนิด เช่น ปลากะพงขาวขนาด 0.93 กรัม สามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 17 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออาหารมีปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์เป็นองค์ประกอบ (จูอะดี และมะลิ, 2538) ปลาแรด ขนาด 2.52 และ 178 กรัม สามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออาหารมีปลาป่น 20 และ 33 เปอร์เซ็นต์เป็นองค์ประกอบ (ชุติพงค์, 2540)

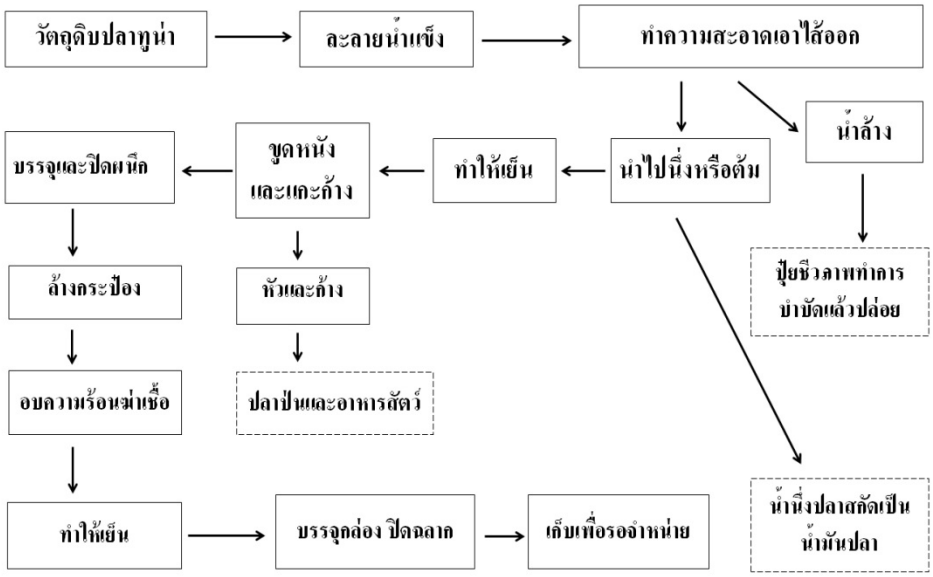
แม้กากถั่วเหลืองจะมีคุณค่าโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในสัตว์น้ำ แต่ Chuapoehuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตลดลงและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงด้วย เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมีปัจจัยต่างๆ ทั้งความไม่สมดุลของกรดอะมิโน ในผลผลิตจากถั่วเหลืองทุกชนิดจะมีกรดอะมิโนเมทไธโอนินในปริมาณน้อย ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ในกระบวนการการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงทำให้กรดอะมิโนไลซีนลดลง อีกทั้งในถั่วเหลืองดิบยังมีเอนไซม์ยูรีเอสและสารต้านโภชนาการหลายชนิด และในอาหารที่ใช้โปรตีนทดแทนจากถั่วเหลืองในปริมาณสูงก็จะมีส่วนลดความน่ากินในอาหารลงไป จึงควรมีการเติมสารกระตุ้นการกินอาหารเพื่อเพิ่มความน่ากินให้แก่อาหารลงไปด้วย

โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า

ในภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้อุตสาหกรรมการแปรรูปทูน่ากระป๋องมีความสำคัญอย่างมาก ปัจจุบันประเทศไทยส่งออกปลาทูน่ากระป๋องมากเป็นอันดับต้นๆ ของโลก มีกำลังการผลิตทูน่ากระป๋องเพื่อใช้ส่งออกในปี 2559 สูงถึง 620,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่าถึง 74,166 ล้านบาท (สถาบันอาหาร, 2559) นอกจากจะเป็นผู้ผลิตและส่งออกปลาทูน่ากระป๋องรายใหญ่ของโลกแล้ว ประเทศไทยยังเป็นผู้นำเข้าวัตถุดิบปลาทูน่ารายใหญ่ของโลกด้วย เนื่องจากอุตสาหกรรมปลาทูน่าของไทยมีวัตถุดิบที่จำกัดลง จำเป็นต้องพึ่งการนำเข้าปลาทูน่าสดและแช่แข็งจากต่างประเทศถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบทั้งหมด ปลาทูน่าที่ใช้ในการผลิตปลาทูน่ากระป๋องนำเข้าจากประเทศแถบมหาสมุทรแปซิฟิก รองลงมาคือประเทศแถบมหาสมุทรอินเดีย โดยเป็นการนำเข้าปลาทูน่าสายพันธุ์ท้องแถบมากที่สุด (สถาบันอาหาร, 2559)

ในกระบวนการแปรรูปทูน่าและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง (ภาพที่ 3) จะมีแค่ส่วนของเนื้อขาวเท่านั้นที่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ ในขณะที่ตั้งแต่การนำทูน่าแช่แข็งเข้าสู่กระบวนการผลิต จะเกิดวัตถุดิบเศษเหลือ 2 ประเภท คือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง ได้แก่ หัว เครื่องในปลา กระดูก หนัง

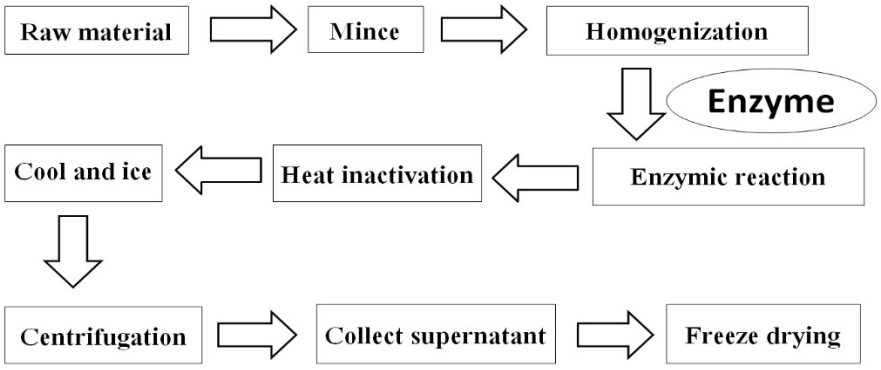
และเศษเนื้อดำ สำหรับวัสดุที่เป็นของเหลว ได้แก่ น้ำเลือด และน้ำนึ่งปลา อัจฉริยา (2542) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ พบว่าส่วนหัวปลาทูน่ามีองค์ประกอบหลักคือโปรตีน ไขมัน และเถ้า (น้ำหนักแห้ง) เท่ากับ 51.54, 22.08 และ 24.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนเครื่องในมีโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 76.68, 9.58 และ 11.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิภาวรรณ (2544) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอครีบเหลือง พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 74.02, 5.10 และ 5.57 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ปัจจุบันมีการนำเศษเหลือจากกระบวนการผลิตทูน่ากระป๋องมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต โดยนิยมใช้เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งปลาแซลมอนและเอนไซม์ทางการค้า เช่น นิวเทรต อัลลาเลส และฟาร์เวอไซม์ เป็นต้น เพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรไลเสต (Guérard *et al*., 2001; Chotikachinda, 2014)



ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตทูน่ากระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง
ที่มา: สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป (2551)

โปรตีนไฮโดรไลเสตเกิดจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงเป็นสายเปปไทด์สั้นๆ โดยการย่อยสลายด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ในกลุ่มโปรตีเอส กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์ (ภาพที่ 4) เริ่มจากนำวัตถุดิบมาบดให้ละเอียดและเติมน้ำลงไป ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ลงไป เพื่อทำการย่อยในสภาวะที่เหมาะสมพร้อมกับการ

เขย่าหรือกวน แล้วยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนและทำให้เย็น จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง และเก็บสารละลายส่วนใสก่อนนำไปอบแห้ง (Kristinsson and Rasco, 2000)



ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์

ที่มา : Kristinsson and Rasco (2000)

ระยะแรกโปรตีนไฮโดรไลเสตถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องทดลอง ต่อมาเมื่อทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน และวิตามินในปริมาณที่สูง จึงได้มีการนำมาทดลองใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในระยะวัยอ่อน เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตส่วนใหญ่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาจึงมีการศึกษาถึงการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในปลาหลายๆ ชนิด เช่น Cahu และคณะ (1999) นำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เลี้ยงปลากะพงยุโรปวัยอ่อน (*Dicentrachus labrax*) และพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตทดแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ให้การเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับชุดควบคุมซึ่งใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีน อีกทั้งยังพบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารเสริมเป็นไฮโดรไลเสตมีอัตราการรอดตายสูงกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม สุภาพร (2549) ได้ทำการศึกษาโดยนำโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว พบว่าเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 86.65 เปอร์เซ็นต์ และการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ให้การเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงกว่าการทดแทนด้วยระดับอื่นๆ

ในส่วนของการนำมาใช้เป็นสารดึงดูดที่มีคุณสมบัติในการดึงดูดการกินอาหาร จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนไฮโดรไลเสต พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลา

ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในปริมาณที่สูง มีศักยภาพในนำไปเป็นการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์ โดยอานัส และชุติมา (2551) ได้ทำการผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม พบว่ากุ้งมีพฤติกรรมการเข้าหาอาหารและกินอาหารในปริมาณที่สูงกว่าอาหารที่ไม่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสต และ ชุติมา และไพรัตน์ (2552) ได้ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในกุ้งขาวโดยใช้ฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่น พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต 4 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารได้ดี สำหรับการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาทดสอบการดึงดูดการกินอาหารในปลา วันชัย (2554) รายงานการผลิตและใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและสารสกัดจากปลา ซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารสัตว์มาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในปลากดเหลือง พบว่าวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต และระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ใช้เคลือบเม็ดอาหาร มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลากดเหลือง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณอาหารที่กินและการเจริญเติบโตของปลาที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหัวกุ้งกุลาดำ จากน้ำนึ่งปลาทูน่า และอาหารที่ไม่มีการผสมสารดึงดูด นอกจากนี้ Chotikachinda (2014) ได้ผลิตอาหารโดยมีไก่ป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักเพื่อใช้เลี้ยงปลากะพงขาว โดยเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร พบว่าการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตลงในอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารปกติที่ไม่มีการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

การเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสต

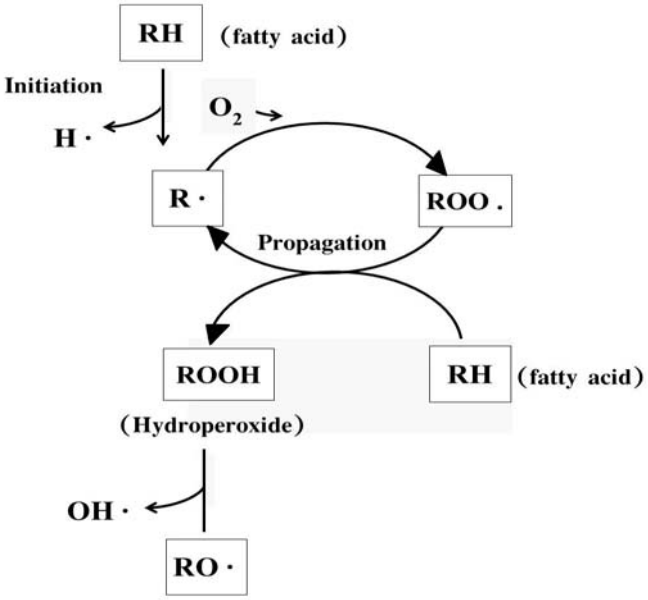
1. การเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของวัตถุดิบโปรตีน

แม้จะมีการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการนำไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในสัตว์น้ำ แต่รูปแบบของไฮโดรไลเสต และผลการเก็บรักษาต่อคุณภาพของไฮโดรไลเสตยังมีข้อมูลอยู่เพียงเล็กน้อย เนื่องจากการเสื่อมเสียคุณภาพของวัตถุดิบเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ทั้งจากการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีในอาหารหรือปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบ (Mitchell and Henick, 1966) เมื่อเซลล์จุลินทรีย์มีการเจริญ มีการใช้สารอาหาร และเกิดเป็นสารประกอบต่างๆ หรือเกิดจากเอนไซม์ที่สร้างและหลั่งออกมานอกเซลล์ของจุลินทรีย์หลังจากเซลล์ตายแล้ว หากจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญ เช่น มีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ มีน้ำเพียงพอ และมีอุณหภูมิที่พอเหมาะ การเน่าเสียจากการเจริญของจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ของจุลินทรีย์จะทำให้เกิดลักษณะที่

เปลี่ยนแปลงไป เช่น กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และ การเกิดแก๊ส เป็นต้น โดยทั่วไปการเน่าเสียจากการเจริญของจุลินทรีย์จะเกิดได้รวดเร็วกว่าการเน่าเสียจากเอนไซม์ ที่หลั่งออกมาหลังจากเซลล์จุลินทรีย์ตายแล้ว ดังนั้นหากมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก็มีผลทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้เร็วขึ้น ในขณะที่การเสื่อมสภาพเกิดจากเอนไซม์ ซึ่งจัดเป็นโปรตีนที่พบในสิ่งที่มีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งที่มีชีวิต เช่น การสลายโมเลกุลของสารอาหารที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลง รวมทั้งเร่งการสังเคราะห์สารต่างๆภายในเซลล์ เมื่อพืชและสัตว์ถูกเก็บเกี่ยวหรือฆ่าเพื่อนำเนื้อสัตว์มาใช้เป็นอาหาร เอนไซม์ที่ยังคงทำหน้าที่อยู่จะเป็นการเร่งการสลายโมเลกุลของอาหาร เช่น เร่งให้ผลไม้สุก สีเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ทำให้ผลไม้มีรสหวาน และ มีเนื้อนิ่มลง

การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ ระดับของอุณหภูมิและระยะเวลาของการเก็บรักษา ปริมาณและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีอยู่ในวัตถุดิบ ในขณะที่วัตถุดิบเริ่มเสีย โปรตีนจะถูกสลายเป็นเปปไทด์ กรดอะมิโนอิสระ เอมีน แอมโมเนียที่ระเหยได้ทั้งหมด และเอมีนที่ระเหยได้ทั้งหมด นอกจากนั้นยังเกิดกระบวนการดีคาร์บอกซีเลชันของกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ ฮีสทีดีน ไลซีน อะจีนีน และไทโรซีน ให้กลายเป็นฮีสทามีน พรูทรีซีน และไทรามีน ในวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นแหล่งโปรตีน พบการเสื่อมสภาพได้ในปลาหลังจากที่ถูกจับและตาย ในระยะเวลานั้นจะเกิดกระบวนการย่อยตัวเองทำให้ปลาเริ่มเน่าเสีย ขณะเดียวกันแบคทีเรียที่ติดมากับเหงือกจะเริ่มเจริญและแบ่งตัวหลังการย่อยตัวเอง แบคทีเรียที่ทำให้ปลาเน่าเสีย ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ทนต่อความเย็นได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส แต่ทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง - 5 องศาเซลเซียส การวัดเมแทบอไลต์ที่เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆ ในเมแทบอลิซึมของสารอาหารที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จากการกระทำของแบคทีเรียพวกนี้ เช่น การหาปริมาณรวมของด่างที่ระเหยได้ (Total volatile bases nitrogen, TVB-N) และไตรเมทิลอะมีน (Trimethylamine) นอกจากนี้ค่าแอมโมเนียไนโตรเจน (NH3) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรียซึ่งก็เป็นองค์ประกอบในค่า TVB-N ค่าแอมโมเนียจึงเป็นอีกดัชนีที่บ่งบอกการเสื่อมในสัตว์น้ำได้ (สุทธวัฒน์, 2548) ค่า TVB-N สามารถใช้เป็นดัชนีบอกความสดของปลาได้ โดยปลาที่มีค่า TVB-N ต่ำกว่า 20 mgN/100g กรัม ถือว่ามีความสด และหากมีค่าถึง 40 mgN/100g จัดเป็นปลาที่เสื่อมคุณภาพไม่เหมาะสมต่อการบริโภค อย่างไรก็ตาม นอกจากระดับของฮีสทามีนที่เกิดจากจากกรดอะมิโนฮีสติดีนที่ถูกดีคาร์บอกซิเลสจะแสดงถึงความสดของปลาได้แล้ว ยังแสดงถึงความเป็นพิษในตัวปลาได้ด้วย โดยกลุ่มปลาที่พบสารนี้ได้มากคือ ปลาโอ และ ปลาทูน่า

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (ภาพที่ 5) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาออกซิเดชัน และรีดักชันจะเกิดคู่กัน สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเรียกว่า ตัวรีดิวซ์ และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดส์ ปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องกัน เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไประหว่างออกซิเจนกับไขมันซึ่งหมายถึงไตรกลีเซอไรด์ ที่มีกรดไขมันชนิดชนิดไม่อิ่มตัวที่ ตำแหน่งพันธะคู่ ทำให้เกิดสารที่ให้กลิ่นและรสที่ผิดปกติ เรียกว่า กลิ่นหืน (Lundberg, 1966) ซึ่งเป็นกลิ่นผิดปกติของไขมันหรือน้ำมัน เป็นการเสื่อมเสียของอาหาร เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี



ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน
ที่มา Hamilton (1994)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ประกอบด้วย ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ปริมาณออกซิเจน พื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจน อุณหภูมิ แสง และแร่ธาตุหรือโลหะหนัก จากการศึกษาพบว่า กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยที่กรดไขมันที่มีพันธะคู่จะเกิดปฏิกิริยาข้างต้นได้รวดเร็วกว่า ในขณะที่กรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระจะถูก

ออกซิไดส์ได้ง่ายกว่ากรดไขมันที่อยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์ อุณหภูมิสูงจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ ในขณะที่แร่ธาตุหรือโลหะจำพวก โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีส ซึ่งเป็นองค์ประกอบของอาหารโดยธรรมชาติ เช่น เหล็กในไมโอโกลบิน หรือโลหะและแร่ธาตุที่ปนเปื้อนจากดิน หรือจากอุปกรณ์ในขั้นตอนการแปรรูป พบว่าโลหะแม้เพียงเล็กน้อยแค่ 0.1-5 ส่วนในล้านส่วน ก็สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Allen and Hamilton, 1994)

วัตถุดิบจากปลามีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณสูง จึงสามารถเกิดกระบวนการออโตออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเมื่อไขมันและน้ำมันสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เกิดเป็นสารประกอบเพอร์ออกไซด์ได้ง่าย โดยเฉพาะในวัตถุดิบที่มีความชื้นและไขมันสูง เช่น เครื่องในของสัตว์น้ำ เมื่อเกิดการเน่าเสียก็จะส่งผลทำให้สูญเสียกรดไขมันที่จำเป็นและสารอาหารที่จำเป็นชนิดอื่น และมีผลต่อความผิดปกติและการเกิดโรคในสัตว์น้ำได้ (Lall, 2000) สำหรับการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพจากไขมันค่า Peroxide value (PV) และ Thiobabituric acid reactive substances (TBARS) เป็นค่าที่บอกถึงระดับการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากสัตว์น้ำที่มีปริมาณไขมันสูง การเก็บไว้ในระยะเวลานานอาจมีผลทำให้การเสื่อมของคุณภาพได้ โดยเฉพาะถ้ามีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดกลิ่นหืนของไขมันได้ โดยสามารถตรวจสอบด้วยวิธีการทางเคมีได้ เช่น การตรวจสอบปริมาณ TBARS และการหาค่า PV เมื่อไขมันที่ถูกออกซิไดซ์จนเกิดกลิ่นหืน สามารถวัดผลผลิตที่เกิดในช่วงหลังของการเกิด การออกซิเดชันของไขมันโดยตรวจวิเคราะห์ในรูปของสารมาโลนาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบต่อเนื่องระหว่าง PV และ TBARS จากสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไปเป็นสารประกอบจำพวกอัลดีไฮด์ ทั้งนี้เพราะสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เสถียร จะสลายตัวทำให้ได้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง เช่น คีโตน อัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของไขมันโดยเกิดเป็นกลิ่นเหม็นหืน (Gray *et al*., 1994) ขณะที่ฤทัยรัตน์ (2547) รายงานถึงการตรวจวัดค่า TBA ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากหัวและเครื่องในปลาทรายแดง ซึ่งมีการสกัดไขมันในขั้นตอนการผลิตออกในบางตัวอย่าง พบว่า ค่า TBA สอดคล้องกับไขมันและเถ้าที่อยู่ในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสต เนื่องจากไขมันปลามีความไม่อิ่มตัวสูงจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันได้ง่าย ในขณะที่โลหะในส่วนของเถ้าเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นตัวอย่างที่มีไขมันและเถ้ามากจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงได้เร็วที่สุด โดยปัญหาเหล่านี้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพ ทำให้ให้คุณค่าทางสารอาหารในวัตถุดิบลดลง เมื่อนำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์กินอาหารน้อยลง และส่งผลให้สัตว์โตช้า และระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Calabotta and Shermer, 1985; Esterbauer *et al*., 1991; Gunstone, 1996)

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเป็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงภายนอกที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าหรือโดยใช้เครื่องมือวัด การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพส่วนใหญ่มักจะเกี่ยวข้องกับวัตถุดิบและกระบวนการผลิต เนื่องจากสีมีบทบาทสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงความเปลี่ยนแปลงของคุณภาพทางกายภาพ เดิมทีสีของอาหารมักเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร และการเก็บรักษาอาหาร เนื่องมาจากความร้อน เอนไซม์ การเปลี่ยนแปลง ค่าความเป็นกรดด่าง สารเคมี ออกซิเจน และแสง นอกจากนี้ยังเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ ระหว่างองค์ประกอบของวัตถุดิบเอง เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งจัดเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เกิดจากน้ำตาลและโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหารเมื่อได้รับความร้อน สำหรับเปลี่ยนแปลงสีของสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำที่สำคัญ ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อปลาระหว่างการเก็บรักษา โดยไมโอโกลบินจะเปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบินให้สีน้ำตาล การสูญเสียสภาพของไมโอโกลบิน ปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับไขมันมักพบในปลาที่มีปริมาณไขมันสูง และ ปฏิกิริยาสีน้ำตาลซึ่งมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ ที่เข้ามาเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น 2,5-diketogluconic acid แล้วทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือโปรตีนเกิดเป็นสารสีน้ำตาล Hoyle และ Merritt (1994) พบว่าการเกิดสีน้ำตาลของโปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเกิดจากการใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการต้ม ย่อยสลายและทำแห้ง เมื่อทำการเก็บรักษาโปรตีนปลาไฮโดรไลเสตโดยการบรรจุถุงโพลีเอทิลีน ภายใต้สภาวะสุญญากาศเป็นเวลานาน 3 เดือน พบว่า ค่า L* ลดลง แต่ค่า a* และ b* เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ ในขณะที่ สุปราณี (2539) ทำการเปรียบเทียบค่าสีในโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปผงซึ่งไม่ผ่านการสกัดไขมัน พบว่าการสกัดไขมันออกจากหัวและไส้ของปลาก่อนนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสตจะช่วยทำให้ค่า L* หรือค่าที่บ่งบอกถึงความสว่างของสีเพิ่มขึ้น และพบว่า b* หรือค่าความเป็นสีเหลืองลดลง

คุณสมบัติเชิงหน้าที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของโปรตีนที่อยู่ในตัววัตถุดิบ เช่น ชนิดและปริมาณการจัดเรียงของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ ความยาวและรูปร่างของสายเปปไทด์ สัดส่วนระหว่างความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำ และความสามารถของโมเลกุลโปรตีนในการทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ (Damodaran, 1996) ความสามารถในการละลายของโปรตีนจัดเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญ ในการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในสัตว์น้ำ ทั้งนี้เนื่องจากการละลายของกรดอะมิโนอิสระในวัตถุดิบโปรตีน จะเป็นตัวกระตุ้นให้สัตว์น้ำมุ่งเข้าหาอาหาร ในการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการละลายน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเสตพบว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลาย ความเป็นกรด-ด่าง และชนิดของเอนไซม์ในการย่อยสลาย Quaglia และOrban (1987) ได้ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาซาร์ดีนด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ปาเปน พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการ

ย่อยสลายมีความสามารถในการละลายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนถูกย่อยสลายทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและจำนวนหมู่ที่มีขั้วเพิ่มมากขึ้น ซึ่งหมู่ที่มีขั้วเหล่านี้สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำได้ดีขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตจึงมีความสามารถในการละลายได้ดีขึ้น ในขณะที่คุณสมบัติในการอุ้มน้ำแสดงถึงความสามารถของโปรตีนในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ในโครงสร้าง การย่อยสลายโปรตีนจะทำให้จำนวนหมู่ที่มีขั้วมากขึ้น เช่น หมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโน มากขึ้นทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ได้ดีขึ้น สำหรับคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมัน ปัจจุบันได้มีนักวิจัยหลายท่านศึกษาวิจัยพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลามีความสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตอาจทำหน้าที่เป็นสารจับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือเป็นสารจับอนุมูลอิสระ ความสามารถของโปรตีนไฮโดรไลเสตในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันขึ้นอยู่กับ ชนิด รูปแบบ จำนวน และการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ ความยาวของสายเปปไทด์ ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ สภาวะการย่อยสลาย และระดับการย่อยสลาย เป็นต้น (Hattori *et al*., 1998)

2. การรักษาคุณภาพของวัตถุดิบโปรตีน

รูปแบบที่เหมาะสม และการลดปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบจึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยมีแนวทางในการลดการเสื่อมของวัตถุดิบใหญ่ๆด้วยกัน 2 รูปแบบ คือ การลดความชื้นหรือน้ำอิสระออกไปจากวัตถุดิบ จนมีน้ำเหลือไม่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งการทำให้อยู่ในรูปแบบแห้ง โดยพบว่าเมื่อความชื้นหรือน้ำอิสระในอาหารเหลือน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ หรือการทำให้วัตถุดิบมีความเข้มข้นขึ้น เช่น การผลิตนมผงจะมีขั้นตอนการทำน้ำนมให้เข้มข้น เพื่อเพิ่มปริมาณของแข็งในน้ำนมสด จากเดิมประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ให้อยู่ในรูปเข้มข้นก่อนที่จะทำให้อยู่ในรูปแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย การแยกน้ำบางส่วนออกจากอาหารเหลวที่มีปริมาณน้ำมาก ทำให้มีส่วนที่เป็นของแข็งมากขึ้น อาหารมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จะช่วยให้เกิดการถนอมอาหารและยืดอายุการเก็บรักษา ส่งผลให้อาหารมีค่า Water attivity ลดต่ำลง ซึ่งจะควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (รุ่งนภา และ ไพศาล, 2545) เนื่องจากวัตถุดิบโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาหลังการผลิตจะมีความชื้นสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ มีรายงานการทำแห้งของโปรตีนไฮโดรไลเสตด้วยวิธีต่างๆ เช่น การทำให้อยู่ในรูปหนืด การอบแห้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นต้น ล้วนแต่ช่วยลดการเสื่อมคุณภาพของวัตถุดิบลง โดย Mahesh และคณะ (1993)

พบว่าวัตถุดิบไฮโดรไลเสตที่ใช้กรรมวิธีทำแห้งที่ต่างกันจะให้สีของตัวผลิตภัณฑ์ที่ต่างกัน โดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผงที่มีสีขาวครีม ส่วนการทำแห้งแบบสุญญากาศทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผงที่มีสีน้ำตาล นอกจากนี้อานัส (2551) ที่ผลิตไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า เพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารสำหรับกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei)* พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผลิตแห้งแบบผสมแป้งไม่ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งแตกต่างจากการใช้ไฮโดรไลเสตแบบรูปเหลว

ในขณะที่อากาศเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับวัตถุดิบ การลดการสัมผัสของวัตถุดิบกับอากาศจึงเป็นแนวทางที่จะลดการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบได้ดี ตัวอย่างการลดการสัมผัสอากาศในวัตถุดิบ เช่น การบรรจุวัตถุดิบโปรตีนด้วยระบบสุญญากาศ ซึ่งเป็นการบรรจุที่มีการดูดอากาศในบรรจุภัณฑ์ออกไปก่อนปิดผนึกหรือปิดฝา ทำให้ภายในมีภาวะเป็นสุญญากาศหรือกระบวนการบรรจุที่เป็นผลทำให้มีระดับออกซิเจนภายในภาชนะบรรจุปิดสนิทมีปริมาณลดลงกว่าปกติ ซึ่งการที่ไม่มีออกซิเจนจะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญ ซึ่งมักเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร อีกทั้งช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร จึงลดการเกิดการเหม็นหืนและการเปลี่ยนสีทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษา รูปแบบการบรรจุแบบสุญญากาศที่นิยมนำมาใช้ คือ บรรจุตัวอย่างลงในถุงและใช้การหดตัวของถุงเพื่อดึงอากาศออก ก่อนปิดผนึกโดยความร้อน หรือใช้ลวดรัดปลายทั้งสองเพื่อป้องกันการกลับเข้ามาของอากาศ ถุงนี้นิยมนำมาใช้ในการบรรจุแบบสุญญากาศมักทำจากฟิล์มพลาสติก ที่สามารถหดตัวได้ เช่น โพลีเอททีลีน หรือไนลอน ถึงแม้การบรรจุในรูปแบบสุญญากาศจะช่วยในการถนอมวัตถุดิบด้วยการลดปริมาณออกซิเจนที่จะเข้ามาสัมผัสกับวัตถุดิบ แต่ในขณะเดียวกันอาจเอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน โดยเฉพาะ แบคทีเรียชนิด *Clostridium botulinum* ซึ่งสามารถผลิตสารพิษที่มีชื่อว่าโบทูลิซึม แบคทีเรียชนิดนี้จะเจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย และทำให้เกิดโรคมักเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน โดย *C. botulinum* บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิห้องเย็น แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคืออุณหภูมิห้อง ซึ่งสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้จากการควบคุมวัตถุดิบให้มีค่า aw ต่ำกว่า 0.86 และ pH ต่ำกว่า 4.6 ในขณะที่การใส่สารกำจัดออกซิเจนลงในบรรจุภัณฑ์ร่วมกับวัตถุดิบ ก็เป็นอีกทางเลือกในการลดปริมาณการสัมผัสของออกซิเจนกับตัวอย่าง สารกำจัดออกซิเจนมีสมบัติสามารถดูดซับออกซิเจนได้ อาจเรียกว่า Oxygen absorberโดยตัวเองทำปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง ชนิดที่นิยมใช้เป็นการค้า ได้แก่ ผงไอรอนออกไซด์ ซึ่งเป็น ธาตุเหล็ก หรือสารประกอบธาตุเหล็ก โดยไม่ได้ใช้ผสมลงไปในอาหารโดยตรง แต่อาจบรรจุในซองเล็กแล้วใส่ไว้ภายในบรรจุภัณฑ์ชั้นใน หรือผสมในเนื้อพลาสติกที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ เช่น

โพลีเอททีลีน เพื่อช่วยในการดูดซับออกซิเจนภายในบรรจุภัณฑ์ เหมาะสำหรับใช้ในบรรจุภัณฑ์สำหรับวัตถุดิบที่มีรูปแห้ง

จากข้อมูลของเสื่อมสภาพในวัตถุดิบ รวมถึงรูปแบบที่เหมาะสมที่จะลดการเกิดการเสื่อมของคุณภาพ และยืดอายุการเก็บรักษาวัตถุดิบให้คงสภาพเช่นเดียวกับหลังการผลิต จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมที่ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผลิตขึ้นมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

แนวทางการวิจัย

1 วัตถุประสงค์ ประกอบด้วย

1.1 เพื่อศึกษาหารูปแบบของการเก็บผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในปลากะพงขาวที่ใช้เนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีน

1.2 เพื่อศึกษาคุณภาพของไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าภายหลังการเก็บรักษาที่เวลาต่างกัน

1.3เพื่อศึกษาระดับที่เหมาะสมของการแทนที่ปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลากะพงขาวที่มีการเสริมเมทไธโอนีนและใช้ไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าเป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร

2. แผนการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ประกอบด้วย

2.1 รูปแบบและระยะเวลาการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าต่อคุณภาพและการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาว *(Lates calcarifer* Bloch)

2.2 การศึกษาระดับการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่เหมาะสมโดยใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

บทที่ 2
การทดลองที่ 1

รูปแบบและระยะเวลาการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าต่อคุณภาพและการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

2.1 บทคัดย่อ

ผลของการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ พบว่าระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ความชื้นของ D-TVH เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงความชื้นในตัวอย่าง C-TVH สำหรับปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) และการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) พบว่า ตัวอย่าง C-TVH มีค่าทั้งสองเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่ D-TVH มีค่า TVB-N เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป และมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 และลดต่ำลงในเวลาต่อมา ค่าสีของตัวอย่างทั้งสองรูปแบบแสดงการลดลงของความสว่าง (L*) ขณะที่ค่าที่แสดงความเป็นสีแดง (a*) และเหลือง (b*) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีในนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตามระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ (C-TVH และD-TVH) ที่เก็บรักษา 3 ช่วงเวลา (0, 4 และ 8 สัปดาห์) เสริมลงในอาหาร (ไม่มีปลาป่น) ที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม นำไปเลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย 2.19±0.02 กรัมต่อตัว ที่ความหนาแน่น 8 ตัวต่อตู้ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวสุดท้ายเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปลาที่กินสูตรควบคุมซึ่งไม่มีส่วนผสมของปลาป่นมีระดับต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลาที่กินอาหารสูตรที่ไม่มีปลาป่นแต่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ และสูตรอ้างอิงที่มีส่วนผสมของปลาป่น ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกพารามิเตอร์ ($p>0.05$) ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต แต่ไม่มีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของลูกปลากะพงขาว พบว่าโปรตีนใน D-TVH มีการลดลงและเสื่อมคุณภาพขององค์ประกอบทางเคมี การเน่าเสีย และการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน น้อยกว่า C-TVH ดังนั้นควรใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแห้งเมื่อต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (22-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

2.2 บทนำ

โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรซีสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส ในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี มีกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง เหมาะแก่การนำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนทางเลือกทดแทนแหล่งโปรตีนราคาแพงที่ใช้กันในปัจจุบัน (Kolkovski and Tandler, 2001) โปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถผลิตได้จากทั้งพืชและสัตว์ เพื่อเพิ่มระดับของโปรตีนในวัตถุดิบให้มีระดับกรดอะมิโนที่สูงขึ้น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสถูกนำมาใช้เพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับวัตถุดิบที่เป็นเศษเหลือจากภาคอุตสาหกรรม ในปัจจุบันประเทศไทยส่งออกปลาทูน่ากระป๋องมากเป็นอันดับต้นๆ ของโลก มีการเพิ่มขึ้นของภาคอุตสาหกรรมและโรงงานผลิต เกิดเป็นเศษเหลือในส่วนของอวัยวะของปลาที่ไม่ใช้ในการผลิต เครื่องในปลาทูน่าจึงเป็นของเหลือที่มีความเหมาะสมในการนำมาศึกษา เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง เมื่อผลิตเป็นเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตจะเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบ จนสามารถนำมาใช้ทดแทนแหล่งโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโต อีกทั้งช่วยดึงดูดการกินอาหารในสัตว์น้ำได้ดี (Lee *et al.,* 2004) งานวิจัยต่างๆ ชี้ให้เห็นว่าสามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในปลาทูน่ามาใช้ในอาหารสัตว์น้ำได้ดี (วันชัย, 2554; Cahu *et al*., 1999) การนำมาใช้ในปลากะพงขาวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในระบบการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวมีความพยายามลดการใช้ปลาป่นที่มีราคาสูง โดยการทดแทนด้วยวัตถุดิบโปรตีนอื่นๆ ทั้งจากพืชและสัตว์บก แต่ผลการทดแทนแหล่งโปรตีนกลับลดทอนความน่ากินของอาหารลง การนำวัตถุดิบโปรตีนต่างๆ มาทดแทนปลาป่นจึงใช้ได้เพียงปริมาณที่จำกัด Chotikachinda (2014) รายงานถึงการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในปลากะพงขาว พบว่าให้ผลที่ดีต่อการเพิ่มการกินอาหารของปลา เมื่อใช้ร่วมกับอาหารใช้วิตถุดิบโปรตีนจากไก่ป่นและกากถั่วเหลือง แม้จะพบว่าเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมีความสามารถที่ดีในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน หรือเป็นสารกระตุ้นการกิน แต่ในภาคอุตสาหกรรมการผลิตจริง นอกจากคุณสมบัติในการนำมาใช้ยังต้องคำนึงถึงรูปแบบที่เหมาะสมของตัววัตถุดิบ และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่จะสามารถนำมาใช้งานได้ดี เนื่องจากวัตถุดิบโปรตีนมักมีการเสื่อมเสียและลดลงของคุณภาพไปตามเวลา การเสื่อมเสียมีสาเหตุได้จากหลายสาเหตุ ทั้ง การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บ และปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นจากตัวของวัตถุดิบเอง การเสื่อมสภาพมีรายงานในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้จากส่วนหัวและไส้ปลาทรายแดง เมื่อพิจารณาจากปริมาณไขมันที่มีอยู่ในส่วนหัวและไส้ปลา พบว่าปริมาณไขมันที่สูงมีผลต่อสีและคุณภาพโปรตีนไฮโดรไลเสตภายหลังการเก็บ (ปราณี, 2539 อ้างโดย รุ่ง

อรุณ, 2545) เพื่อให้สามารถนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษานี้จึงเป็นการหารูปแบบเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้งาน โดยคำนึงถึงผลของอายุการเก็บรักษาอุณหภูมิห้อง ที่จัดเป็นอุณหภูมิทั่วไปที่เกษตรกรมักจะนำมาใช้เก็บรักษาวัตถุดิบต่างๆ รวมถึงความสามารถในการทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินเมื่อผ่านการเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ เพื่อให้เกิดองค์ความรู้ต่อการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำต่อไป

2.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษารูปแบบและเวลาในการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อคุณภาพของไฮโดรไลเสต และการนำไปใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้เศษเหลือของเนื้อและอวัยวะต่างๆ จากอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อโค

2.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

2.4.1 การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

1) การเตรียมเครื่องในปลาทูน่า

เครื่องในปลาทูน่า (*Katsuwonus pelamis*)ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด ผ่านการล้างก่อนนำมาสับและบดให้ละเอียด บรรจุลงในถุงพลาสติกถุงละ 300 กรัม นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอผลิตเป็นเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อไป ตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่านำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า (AOAC, 1995)

2) เอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตคือ อัลคาเลส (Alcalase® 2.4L) ซึ่งผลิตจากจุลินทรีย์ *Bacillus licheniformis* (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark)

3) การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ผลิตตามวิธีของ Benjakul และ Morrissey (1997) ที่อ้างโดย Chotikachinda (2014) โดยนำเครื่องในปลาทูน่า 300 กรัม ปั่นละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องปั่นละเอียดเนื้อเยื่อ (Braun MR 400 HC, Kronberg, Germany) เป็นเวลา 1 นาที เติมน้ำกลั่น

ในอัตราส่วนเครื่องใน:น้ำกลั่น เท่ากับ 1:2 (w/v) ทำการปรับค่า pH ให้เท่ากับ 8 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ บ่มเครื่องในที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (GFL 1083, Burgwedel, Germany) พร้อมเขย่าที่ความเร็วคงที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ก่อนเติมเอนไซม์อัลคาเลส 1.64 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ซึ่งเป็นระดับการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมเพื่อใช้ผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตให้มีการย่อยสลายที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ (Chotikachinda, 2014) หลังเติมเอนไซม์นำเครื่องในไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิพร้อมเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสอีกครั้งเพื่อทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,400 g เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียสเพื่อรอนำไปผลิตเป็นเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบต่างๆ ต่อไป

ระดับการย่อยสลาย (DH) วิเคราะห์ค่าตามวิธีของ Benjakul และ Morrissey (1997) โดยทำการเจือจางตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าด้วยน้ำกลั่น (125ไมโครลิตร) ผสมกับ 0.2125โมลาร์ฟอตเฟสบัปเฟอร์ (pH 8.2) ปริมาณ 2 มิลลิลิตร เติม 0.01 เปอร์เซ็นต์ TNBS ปิดฝาหลอดและผสมสารละลายเข้าด้วยกัน นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 0.1โมลาร์ โซเดียมซัลไฟล์ 2 มิลลิลิตร ผสมสารละลายเข้าด้วยกันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร คำนวณค่า DH ตามสูตรเพื่อนำค่าการดูดกลืนแสง ที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของลูซีน

$$DH = [(L_t-L_o)/(L_{max}-L_o)]x100$$

โดยที่ L_t ตัวอย่างที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยาที่ย่อยด้วยเอนไซม์ 1 ชั่วโมง

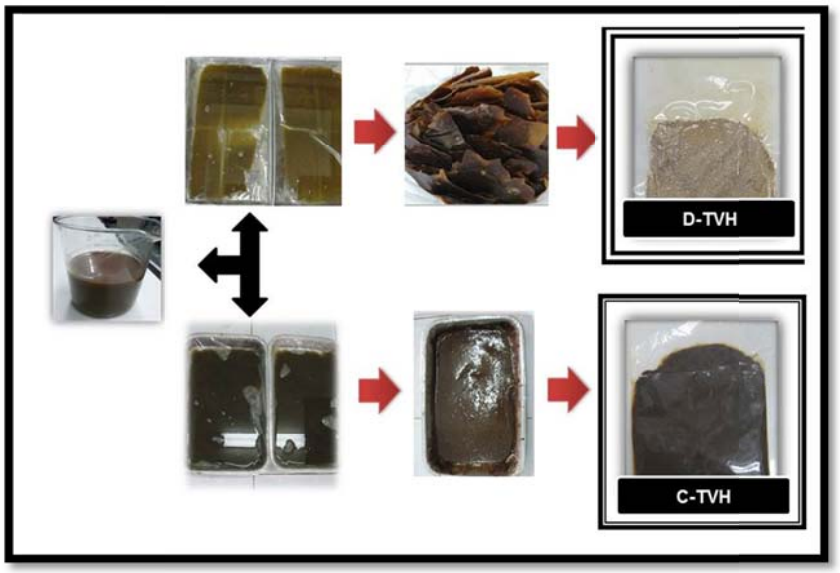
L_o ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วยเอนไซม์

L_{max} ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วย 6 M HCl 24 ชั่วโมง

4) การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบต่างๆ

รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการผลิตแสดงดังภาพที่ 6 โดยการผลิตในรูปแบบหนืด (C-TVH) นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปของเหลวมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อทำการระเหยน้ำออกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังผ่านการอบเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ได้ จะมีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำไปบรรจุลงในถุงโพลีเอททีลีนที่ปิดผนึกด้วยระบบสุญญากาศเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่การผลิตเครื่องในปลา

ทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้ง(D-TVH) ดัดแปลงตามวิธีของ อานัส (2551) โดยทำการหาน้ำหนักแห้งของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปของเหลวตามวิธีของ AOAC (1995) เติมแป้งสาลีลงในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตตามปริมาณน้ำหนักแห้งในอัตราส่วน เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อแป้งสาลี 80:20 (w/w) นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตและแป้งสาลีมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้งสนิท จากนั้นจึงนำไปบรรจุลงในถุงโพลีเอททีลีนที่ปิดผนึกด้วยระบบสุญญากาศเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 6 รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการผลิต

2.4.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ

นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ต่างๆ โดย ประกอบด้วย องค์ประกอบทางเคมี วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโต (Water activity; aw) วิเคราะห์ค่าการละลายของไนโตรเจน (Nitrogen solubility index; NSI) วิเคราะห์ค่าการเกิดออกซิเดชันในไขมัน (Thiobarbituric acid reactive substances; TBARS) วิเคราะห์ปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (Total volatile bases nitrogen; TVB-N) และวัดค่าสี

1) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีของ AOAC (1995) เพื่อหาส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป

2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่า pH มักขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบ โดยมีผลต่ออายุการเก็บรักษาและความปลอดภัย โดยค่า pH จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนที่แตกตัวทำให้มีความรุนแรงของกรดหรือความสามารถในการลดค่า pH ได้แตกต่างกัน เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH ที่ต่างกัน หากวัตถุดิบมีค่าเป็นกรดต่ำอาจก่อให้เกิดโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จะเติบโตได้ ขั้นตอนการตรวจสอบ pH วิเคราะห์โดยวิธีของ Benjakul และคณะ (1997)

3) ปริมาณน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ (aw)

ค่าน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเจริญของจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้วัตถุดิบเกิดการเน่าเสีย ในทางปฏิบัติการวัดค่า aw คือ การวัดความชื้นสัมพัทธ์ที่สมดุลโดยใช้เครื่องวัดค่า aw วัดค่าโดยทำการบรรจุตัวอย่างในภาชนะเล็กๆ สอดภาชนะนั้นไว้ในช่องที่ปิดกั้นตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมภายนอก หัววัดภายในช่องจะทำหน้าที่วัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อยู่เหนือตัวอย่าง หลังจากทิ้งไว้ระยะหนึ่งจนการวัดความชื้นสัมพัทธ์ให้ค่าคงที่ แสดงผลค่า aw อยู่ในช่วง 0 ถึง 1.0

4) ค่าการละลายของไนโตรเจน (NSI, เปอร์เซ็นต์)

การวิเคราะห์หาค่าการละลายของไนโตรเจนดัดแปลงตามวิธีศึกษาของ Morr และคณะ (1985) เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารโดยส่วนใหญ่คือน้ำ โปรตีนที่สามารถยึดจับน้ำหรือละลายน้ำได้จึงสามารถรวมตัวเข้ากับอาหารและแสดงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ได้ โปรตีนที่นำมาใช้ประโยชน์เชิงหน้าที่จึงควรจะมีความสามารถในการละลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินของสัตว์ที่มีน้ำเป็นตัวกลาง ขั้นตอนการวิเคราะห์ NSI โดยนำตัวอย่างมาละลายในสารละลายเกลือ จากนั้นทำการหมุนเหวี่ยงแยกเพื่อศึกษาการละลายของไนโตรเจนในน้ำ ก่อนนำสารละลายส่วนใสที่ผ่านการกรองไปวิเคราะห์หาไนโตรเจนทั้งหมดอีกครั้ง

5) ปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N, mgN/100g)

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1995) เนื่องจากแบคทีเรียที่ทำให้ปลาเกิดการเน่าเสียอยู่ในพวกไฟโตโทรฟิคแบคทีเรีย การวัดเมตาบอลิกที่เกิดจากการกระทำของแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยการหาปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจึงเป็นดัชนีที่บ่งบอกการเสื่อมเสียในสัตว์น้ำหรือวัตถุดิบสัตว์น้ำได้ ขั้นตอนการหาวิเคราะห์โดยชั่งตัวอย่างนำมาผสมกับ MgO และน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออน จากนั้นนำไปกลั่นในหลอดโปรตีน โดยใช้กรดบอริกเป็นสารดักจับไนโตรเจนที่ระเหย ก่อนนำสารที่ได้มาไทเตรตหาปริมาณของไนโตรเจน

6) ระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (TBARS, mgMAD/kg)

ดัดแปลงตามวิธีของ Buege และ Aust (1978) เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นการเสื่อมเสียที่พบได้บ่อยๆ ในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ นำไปสู่การเกิดกลิ่นหืนในวัตถุดิบ สามารถตรวจวัดการเกิดได้ด้วยการวัดค่าการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน เปรียบเทียบผลที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Malondialdehyde

7) ค่าสี

การเปลี่ยนแปลงของสี ค่าสีเป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่มักถูกนำมาใช้อธิบายถึงการเปลี่ยนสภาพไปของวัตถุดิบ นิยมวัดด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab ในระบบ Commission international del´eclairage แสดงผลเป็น L* a* และ b* ซึ่งมีหน่วยการแบ่งค่าสีเป็นช่วงสี โดย L* คือ ค่าที่บอกความสว่าง (สีดำ = -L* และ สีขาว = +L*) a* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีแดง และ เขียว (ค่า a+ คือ สีแดง และ ค่า a- คือ สีเขียว) และ b* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีเหลือง และ น้ำเงิน (ค่า b+ คือ สีเหลือง และ ค่า b- คือ สีน้ำเงิน)

2.4.3 การนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาว

1) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) โดยแบ่งอาหารทดลองเป็น 8 ชุดการทดลอง ได้แก่ สูตรควบคุม สูตรที่ประกอบด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตแบบหนืดที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 4 และ 8 สัปดาห์ เป็นสูตรที่ 2-4 ตามลำดับ สูตรที่ประกอบด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตแบบแห้งที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 4 และ 8 และสูตรอ้างอิงที่มีปลาป่น 15 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร

2) การเตรียมปลาทดลอง

รวบรวมปลากะพงขาวที่มีน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม/ตัว จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 6 สงขลา จำนวน 2,000 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 1 ตัน จำนวน 3 ถัง ปรับความเค็มในน้ำที่ใช้เลี้ยงจนเป็นน้ำจืดโดยให้ออกซิเจนตลอดเวลา ให้อาหารสำเร็จรูปที่ผลิตขึ้นเองสำหรับอนุบาล เพื่อฝึกให้ปลาเคยชินกับอาหารที่มีลักษณะใกล้เคียงกับอาหารทดลอง อนุบาลลูกปลาจนได้ขนาด ประมาณ 1-2 กรัม/ตัว คัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงใส่ตู้ทดลองขนาดบรรจุน้ำ 40 ลิตร จำนวน 32 ตู้ ฝึกปลาให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมในตู้ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน จำนวน 8 ตัว/ตู้ บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นก่อนเริ่มต้นการทดลอง

3) การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองมีทั้งหมด 8 สูตรดังในตารางที่ 1 โดยมีผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนและไขมันที่ใกล้เคียงกันเท่ากับ 45 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้เนื้อปั่นที่ผลิตจากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อโค และวัตถุดิบจากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนหลัก โดยเสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง(D-TVH) ด้วยวิธีการผสมลงในอาหารในระหว่างขั้นตอนการผลิตที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร เนื่องจาก D-TVH มีส่วนผสมของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อแป้งสาลีที่ระดับ 80:20 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ใช้ D-TVH จึงต้องตัดส่วนของแป้งสาลีในอาหารออกตามระดับแป้งสาลีที่ผสมลงใน D-TVH ที่ระดับ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่ผลิตมีการเสริมกรดอะมิโนดีแอล-เมทไธโอนีนตามความต้องการของปลากะพงขาวที่ระดับ 2.20 เปอร์เซ็นต์โปรตีน (Millamena *et al*., 1994 อ้างโดย Glencross, 2006)

ผสมวัตถุดิบทั้งหมดให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร เติมน้ำมันในระหว่างผสมวัตถุดิบต่างๆ ลงในเครื่องผสมอาหาร เติมน้ำสะอาดลงไป 25-30 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร จากนั้นทำการอัดเม็ดให้มีขนาดเหมาะกับขนาดปากของปลาที่หน้าแว่น 0.2 และ 0.5 มิลลิเมตร ก่อนนำอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง นำอาหารที่ได้ไปร่อนบรรจุลงในถุงพลาสติก วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (AOAC, 1995) ก่อนนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในการทดลองที่ 1 (As-fed basis)

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร (กรัม/ 100 กรัมอาหาร)							
	1 ควบคุม	2	3	4	5	6	7	8 อ้างอิง
ปลาป่น	-	-	-	-	-	-	-	15.09
เนื้อป่น	61.23	55.81	55.81	55.81	55.81	55.81	55.81	53.13
กากถั่วเหลือง	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	2.09	-
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	-
แป้งสาลี	16.00	16.00	16.00	16.00	14.75	14.75	14.75	16.00
แกลบ	3.39	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	6.04
น้ำมันถั่วเหลือง	3.76	4.32	4.32	4.32	4.32	4.32	4.32	2.93
วิตามิน และ แร่ธาตุรวม[1]	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60
ซีเอ็มซี	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
ดีแอล เมทไธโอนีน	0.28	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.21
C-TVH[2]	-	5	5	5	-	-	-	-
D-TVH[3]	-	-	-	-	6.25	6.25	6.25	-
องค์ประกอบทางเคมี (%)								
โปรตีน	44.52	44.62	44.02	44.94	45.02	44.22	44.58	44.13
ไขมัน	11.63	11.45	11.21	11.76	12.10	11.39	11.67	11.49
เถ้า	16.88	16.30	15.99	15.88	16.19	16.05	16.70	17.98
ความชื้น	8.21	8.41	9.76	7.47	7.98	9.92	7.09	7.70

[1]วิตามิน (0.6 %) ประกอบด้วย Thiamin HCI 60, Riboflavin 100, Pyridoxine HCI 40, Folic acid 15, Calcium pantothenate100, Inositol 2000, Biotin 6, Vitamin B_{12} 0.1, Menadione 50, Tocopherol acetate 100,Vitamin AD_3 (500 IU of A+100 IU of D_3/mg) 8, Choline chloride 5000, Ascorbic acid 500 (มก/กก. อาหาร) และ แร่ธาตุรวม (4.0%) ประกอบด้วย $CaHPO_4$ 8, NaH_2PO_4. $2H_2O$ 15, KH_2PO_4 10, KCl 5 (ก./กก.อาหาร)

[2]เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปหนืดที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

[3]เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแห้งที่มีเครื่องในปลาทูน่าในรูปแห้งต่อแป้งสาลี (80:20) ที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

2) การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้อาหาร

ให้อาหารปลาตามชุดการทดลอง วันละ 2 มื้อ คือ 09.00 และ 18.00 นาฬิกา โดยสัปดาห์แรกกำหนดอัตราการให้อาหารทดลองที่ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน หลังจากให้อาหาร 20 นาทีทำการเก็บอาหารที่เหลือมาอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และทำการชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือดังกล่าวเพื่อคำนวณหาปริมาณอาหารที่ปลากิน จากนั้นตั้งแต่สัปดาห์ที่สองเป็นต้นไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองให้อาหารแบบกินจนอิ่ม (satiation) บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลากินทุกวันตลอดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการชั่งน้ำหนักสุดท้ายของปลาทุกตัวในทุกชุดการทดลองเพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าดังนี้

อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นเลี้ยง (ตัว)}} \times 100$$

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม (เปอร์เซ็นต์)

$$= \left(\frac{\text{น้ำหนักหลังทดลอง (กรัม/ตัว)} - \text{น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)}}\right) \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นทดลอง})}{\text{จำนวนวันทดลองที่เลี้ยงปลา}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)}}$$

น้ำหนักอาหารที่ปลากิน

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม)}}{\text{จำนวนปลา (ตัว)}}$$

2.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จากสรุปแผนการทดลองที่ 1 (ภาพที่ 7) นำข้อมูลการวัดคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ ภายหลังการเก็บรักษา ข้อมูลการเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วย อัตราการรอดตาย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่ปลากิน นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยแล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย Tukey's HSD test และ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 7 สรุปแผนการทดลองที่ 1

2.5 ผลการทดลอง

2.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผ่านการผลิตเป็น 2 รูปแบบคือ รูปหนืด (C-TVH) และรูปแห้ง (D-TVH) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า C-TVH มีโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นในฐานน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 83.67 ± 0.23, 4.56 ± 0.03, 13.83 ± 0.47 และ39.55 ± 0.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน D-TVH เท่ากับ 73.15 ± 0.51, 4.66 ± 0.24, 11.94 ± 0.25 และ 18.09 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนของคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์ใช้ในการเติบโต (aw) และค่าการละลายของไนโตเจน (NSI) ของตัวอย่าง C-TVH เท่ากับ 6.82 ± 0.03, 0.72 ± 0.00 และ 98.28 ± 0.04 ตามลำดับ เช่นเดียวกับตัวอย่าง D-TVH เท่ากับ 6.47 ± 0.01, 0.32 ± 0.02 และ 96.32 ± 0.41 ตามลำดับ

ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) บนฐานน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง C-TVH เท่ากับ 190.27 ± 3.27 mgN/100g ค่าการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) เท่ากับ 234.66 ± 10.98 mg/kg ในขณะที่ D-TVH มีค่า TVB-N บนฐานน้ำหนักแห้งเท่ากับ 198.48 ± 4.15 mgN/100g ค่า TBARS เท่ากับ 216.01 ± 11.96 mg/kg เมื่อนำตัวอย่างทั้ง 2 รูปแบบไปหาค่าสีที่แสดงผลในระบบ CIE แสดงค่าในรูปของ L, a* และ b* ตัวอย่าง C-TVH แสดงผล เท่ากับ 22.56 ± 0.11, 8.33 ± 0.23 และ 18.44 ± 0.62 ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH แสดงผล เท่ากับ 63.51 ± 0.04, 4.46 ± 0.02 และ 23.05 ± 0.52 ตามลำดับ หลังจากได้ผลการวิเคราะห์ในสัปดาห์ที่ 0 นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้งสองรูปแบบบรรจุลงในถุงโพลีเอททีลีนผนึกด้วยระบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22 ถึง 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในระหว่างการเก็บรักษา นำตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาวิเคราะห์ผลทุกพารามิเตอร์ข้างต้นในทุกๆ 2 สัปดาห์ จนไปสิ้นสุดที่สัปดาห์ที่ 8 ได้ผลการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1) องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนของ C-TVH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษา ตัวอย่าง C-TVH มีโปรตีนเริ่มต้นหลังการผลิตที่ 83.67 ± 0.23 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนลดลงต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 8 เท่ากับ 78.75 ± 0.14 เปอร์เซ็นต์

ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นหลังจากผลิตเท่ากับ 73.15 ± 0.51 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนมีการลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และยังลดต่ำลงไปจนสัปดาห์ที่ 8 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ปริมาณไขมันมีแนวโน้มการลดลงเช่นเดียวกับปริมาณโปรตีน เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบมีค่าของไขมันลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีปริมาณของไขมันเริ่มต้นหลังการผลิตที่ 4.56 ± 0.26 เปอร์เซ็นต์ เกิดการลดลงของไขมันต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 6 เท่ากับ 3.17 ± 0.12 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีปริมาณของไขมันเริ่มต้นหลังการผลิตที่ 4.66 ± 0.24 เปอร์เซ็นต์ เกิดการลดลงของไขมันในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 3.81 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการลดลงของค่าไขมันไปจนสิ้นสุดการเก็บรักษา สำหรับปริมาณความชื้นพบว่าตัวอย่าง C-TVH ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความชื้นตลอดช่วงเวลาการเก็บรักษา ในขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีความชื้นเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากความชื้นหลังการผลิต เท่ากับ 18.09 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 เป็น 18.86 ± 0.14 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติปริมาณเถ้าในตัวอย่างทั้ง 2 รูปแบบเมื่อเวลาในการเก็บรักษาผ่านไป

2) ผลการเปลี่ยนแปลงของไอออน (pH)

ค่า pH แสดงดังตารางที่ 3 พบว่าในตัวอย่าง C-TVH หลังผลิตเท่ากับ 6.82 ± 0.03 ภายหลังการเก็บรักษาในถุงโพลีเอททีลีนด้วยระบบสุญญากาศ ค่า pH ในตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) วัด pH ได้ที่ระดับ 7.07 ± 0.04 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ไปจนสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ D-TVH ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH

3) ค่าปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์ใช้ในการเติบโต (aw)

ค่า aw แสดงดังตารางที่ 3 ตัวอย่าง C-TVH ภายหลังการผลิต เท่ากับ 0.718 ± 0.00 เมื่อผ่านการเก็บรักษาโดยถุงโพลีเอททีลีนในระบบสุญญากาศภายใต้อุณหภูมิห้อง พบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นค่า aw จะลดลงอย่างช้าๆ จนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 8 วัดค่า aw ได้เท่ากับ 0.708 ± 0.00 ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีค่า aw ภายหลังการผลิตที่ระดับ 0.317 ± 0.02 และมีค่า aw เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) วัดได้เท่ากับ 0.347 ± 0.01

4) ปริมาณการละลายของไนโตรเจน (NSI)

ค่า NSI แสดงดังในตารางที่ 3 ตัวอย่าง C-TVH ภายหลังการผลิตวัดค่า NSI เท่ากับ 98.28 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาผ่านไป NSI ที่วัดได้จาก C-TVH มีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยวัดค่า NSI ได้เท่ากับ 97.97 ± 0.11 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ตัวอย่าง D-TVH ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า NSI เกิดขึ้นภายหลังการเก็บรักษา

ตารางที่ 2 องค์ประกอบเคมีของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH)(ฐานน้ำหนักแห้ง) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

		องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)			
	เวลา (สัปดาห์)	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น
C-TVH	0	83.67 ± 0.23^{a}	4.56 ± 0.26^{a}	13.83 ± 0.47^{ns}	39.55 ± 0.44^{ns}
	2	81.74 ± 0.22^{b}	4.40 ± 0.24^{ab}	13.71 ± 0.48^{ns}	38.98 ± 0.18^{ns}
	4	80.18 ± 0.19^{c}	3.92 ± 0.36^{b}	13.48 ± 0.41^{ns}	39.01 ± 0.32^{ns}
	6	80.55 ± 0.46^{c}	3.17 ± 0.12^{c}	13.87 ± 0.74^{ns}	39.55 ± 0.20^{ns}
	8	78.75 ± 0.14^{d}	3.35 ± 0.22^{c}	13.68 ± 0.91^{ns}	39.29 ± 0.22^{ns}
D-TVH	0	73.15 ± 0.51^{a}	4.66 ± 0.24^{a}	11.94 ± 0.25^{ns}	18.09 ± 0.05^{a}
	2	72.68 ± 0.29^{ab}	4.59 ± 0.52^{ab}	11.63 ± 0.43^{ns}	18.12 ± 0.13^{a}
	4	72.26 ± 0.35^{b}	3.81 ± 0.15^{b}	11.82 ± 0.62^{ns}	18.79 ± 0.51^{ab}
	6	72.32 ± 0.52^{b}	3.80 ± 0.23^{b}	11.88 ± 0.43^{ns}	18.86 ± 0.14^{b}
	8	71.79 ± 0.11^{b}	3.77 ± 0.22^{b}	11.75 ± 0.30^{ns}	18.97 ± 0.18^{b}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

ตารางที่ 3 ค่า pH aw และ NSI ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

พารามิเตอร์	ระยะเวลาในการเก็บรักษา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
ค่า pH					
C-TVH	6.82 ± 0.03^{a}	7.07 ± 0.04^{b}	6.67 ± 0.02^{b}	7.00 ± 0.03^{b}	6.69 ± 0.01^{b}
D-TVH	6.47 ± 0.01^{ns}	6.49 ± 0.02^{ns}	6.47 ± 0.01^{ns}	6.46 ± 0.01^{ns}	6.47 ± 0.01^{ns}
ค่า aw					
C-TVH	0.72 ± 0.00^{a}	0.72 ± 0.00^{a}	0.72 ± 0.00^{a}	0.71 ± 0.00^{ab}	0.71 ± 0.00^{b}
D-TVH	0.32 ± 0.02^{b}	0.32 ± 0.01^{b}	0.32 ± 0.01^{ab}	0.35 ± 0.01^{a}	0.33 ± 0.01^{ab}
ค่า NSI[2] (เปอร์เซ็นต์)					
C-TVH	98.28 ± 0.04^{a}	98.30 ± 0.08^{a}	97.97 ± 0.11^{b}	97.86 ± 0.45^{b}	97.81 ± 0.01^{b}
D-TVH	96.32 ± 0.41^{ns}	96.55 ± 0.13^{ns}	96.36 ± 0.32^{ns}	95.85 ± 0.09^{ns}	95.76 ± 0.26^{ns}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 2 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยแนวแถวที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

[2]NSI (เปอร์เซ็นต์) = (ไนโตรเจนในสารละลาย (เปอร์เซ็นต์)/ไนโตรเจนในตัวอย่างทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์))x100

5) ปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N)

ค่า TVB-N ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แสดงดังภาพที่ 8 ตัวอย่าง C-TVH มีปริมาณ TVB-N หลังการผลิตเท่ากับ 190.27 ± 3.25 mgN/100g พบว่าค่า TVB-N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษา และเพิ่มสูงสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 อยู่ที่ระดับ 234.37 ± 3.95 mgN/100g หลังจากนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า TVB-N ไปจนสิ้นสุดการเก็บรักษา ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีปริมาณของ TVB-N หลังการผลิตเท่ากับ 198.48 ± 4.15 mgN/100g เมื่อเวลาผ่านไปพบว่ามีการเพิ่มสูงขึ้นของค่า TVB-N อย่างช้าๆ จนถึงสัปดาห์ที่ 8 ค่า TVB-N เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่า TVB-N อยู่ที่ 213.25 ± 1.50 mgN/100g เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า TVB-N ด้วยการเปรียบเทียบรายคู่ระหว่างรูปแบบและช่วงเวลาพบว่า ปริมาณ TVB-N เกิดความแตกต่างทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป พบว่า D-TVH มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TVB-N ต่ำกว่า C-TVH

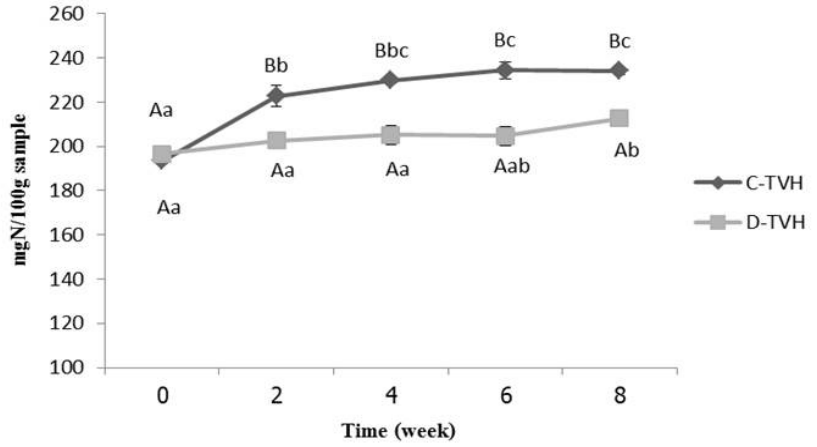
6) การเกิดออกซิเดชันของไขมัน (TBARS)

ค่า TVB-N ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แสดงดังภาพที่ 9 พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีค่า TBARS หลังการผลิตเท่ากับ 234.66 ± 10.98 mgMAD/kg และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 ที่มีค่า TBARS สูงที่สุดเท่ากับ 381.08 ± 7.32 mgMAD/kg หลังจากนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่า TBARS ไปจนสิ้นสุดการเก็บรักษาในสัปดาห์ที่ 8 สำหรับ D-TVH มีค่า TBARS หลังการผลิตเท่ากับ 216.01 ± 11.96 mgMAD/kg และมีค่า TBARS เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนเพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งมีค่า TBARS เท่ากับ 353.52 ± 7.9 mgMAD/kg หลังจากนั้นค่า TBARS ค่อยๆ ลดลงในสัปดาห์ที่ 6 และมีแนวโน้มจะลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า TBARS ด้วยการเปรียบเทียบรายคู่ระหว่างรูปแบบและช่วงเวลาพบว่า ปริมาณ TBARS เกิดความแตกต่างทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป พบว่า D-TVH มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TBARS ต่ำกว่า C-TVH ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บที่ปริมาณ TBARS ที่เกิดใน D-TVH มีปริมาณสูงกว่า C-TVH

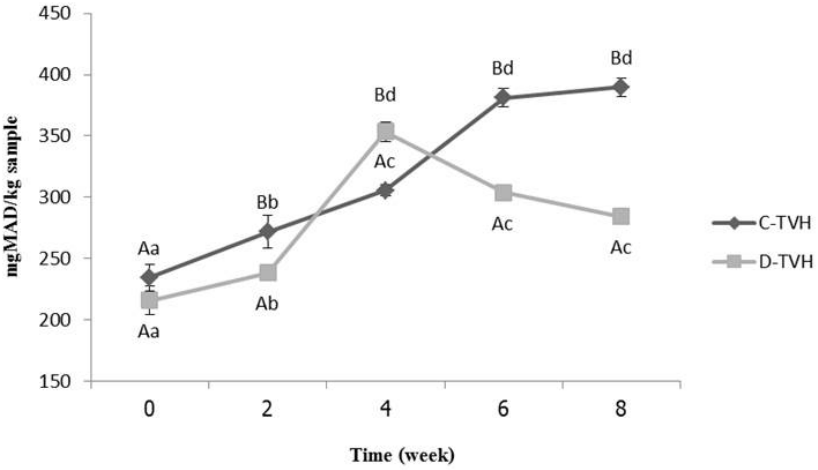
7) ค่าสี

ค่าสีในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ ภายหลังการเก็บรักษาแสดงดังตารางที่ 4 หลังทำการวัดค่าสีตัวอย่างในระบบ CEL ซึ่งแสดงผลเป็นค่า L*(ค่าความสว่าง) a*(ค่าความเป็นสีแดง) และb*(ค่าความเป็นสีเหลือง) พบว่า C-TVH หลังการผลิตมีค่า L* เท่ากับ 22.56 ± 0.11 เกิด

การลดลงของค่า L* ตลอดช่วงเวลาที่เก็บรักษา ในสัปดาห์ที่ 4 มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่า L* ลดต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 8 อยู่ที่ระดับ 20.68 ± 0.08 ในขณะที่ค่า a* และ b* หลังการผลิตคือ 8.33 ± 0.23 และ 18.44 ± 0.62 ตามลำดับ ตัวอย่าง C-TVH ที่เก็บรักษามีลักษณะของสีแดงและสีเหลืองในเนื้อตัวอย่างเพิ่มขึ้น ค่า a* เพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีค่า a* เพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 ที่ระดับ 9.99 ± 0.36 ขณะที่ค่า b* เพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 ที่ระดับ 21.74 ± 0.00 เช่นเดียวการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในตัวอย่าง D-TVH พบว่าค่า L* หลังการผลิต เท่ากับ 63.51 ± 0.04 เกิดการลดลงของค่า L* ในสัปดาห์ที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีค่า L* ลดต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 8 อยู่ที่ระดับ 59.20 ± 0.04 ในขณะที่ค่า a* และ b* ในตัวอย่าง D-TVH มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป โดยค่า a* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 ที่ระดับ 8.71 ± 0.13 และค่า b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 ที่ระดับ 29.84 ± 0.23



ภาพที่ 8 ค่า TVB-N ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-test (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 9 ค่า TBARS ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-Test (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

	Color		
	Light > x <Dark	Red> x <Green	Yellow> x < Blue
รูปแบบ (เวลา/สัปดาห์)	L*	a*	b*
C-TVH (0)	22.56 ± 0.11[a]	8.33 ± 0.23[c]	18.44 ± 0.62[c]
C-TVH (2)	22.40 ± 0.14[a]	8.43 ± 0.32[c]	19.64 ± 0.31[b]
C-TVH (4)	22.82 ± 0.53[b]	9.14 ± 0.20[b]	19.35 ± 0.11[b]
C-TVH (6)	21.63 ± 0.09[b]	9.99 ± 0.39[a]	19.42 ± 0.20[b]
C-TVH (8)	20.68 ± 0.08[c]	9.95 ± 0.29[a]	21.74 ± 0.00[a]
D-TVH (0)	63.51 ± 0.04[a]	4.46 ± 0.02[d]	23.05 ± 0.52[c]
D-TVH (2)	63.59 ± 0.03[a]	5.65 ± 0.05[d]	23.52 ± 0.09[c]
D-TVH (4)	61.81 ± 0.20[b]	7.24 ± 0.28[c]	25.84 ± 0.30[b]
D-TVH (6)	61.33 ± 0.28[b]	8.52 ± 0.05[b]	29.84 ± 0.23[a]
D-TVH (8)	59.20 ± 0.04[c]	8.71 ± 0.13[a]	29.45 ± 0.25[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] L*แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ L+ (ดำ) L- 100 (ขาว)

[3] a* ที่เพิ่มแสดงค่าความเป็นสีแดงที่เพิ่มขึ้น และค่า a*ที่ลดลงแสดงค่าความเป็นสีเขียวที่เพิ่มขึ้น

[4] b* ที่เพิ่มแสดงค่าความเป็นสีเหลืองที่เพิ่มขึ้น และ ค่า b*ที่ลดลงแสดงค่าความเป็นสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น

2.5.2 ผลของรูปแบบและระยะเวลาในการเก็บรักษา TVH ต่อความสามารถในการเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาว

1) องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองแสดงดังตารางที่ 1 พบว่า อาหารทดลองทั้งหมดมีค่าโปรตีนที่วิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 44.02 - 42.02 เปอร์เซ็นต์ ค่าไขมันอยู่ในช่วง 11.21 - 12.10 เปอร์เซ็นต์ เถ้าอยู่ในช่วง 15.99 - 17.98 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นในอาหารอยู่ในช่วง 7.09 - 8.41 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับกับปริมาณของโปรตีน และไขมัน ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 45 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2) ปริมาณการกินอาหาร และการเจริญเติบโต

ปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักสุดท้ายของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยไฮโดรไลเสต (TVH) 2 รูปแบบคือ รูปหนืด (C-TVH) และรูปแห้ง (D-TVH) ผ่านการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องเป็นเวลาที่ต่างกัน(0 4 และ 8 สัปดาห์) ปริมาณอาหารที่ปลากินและน้ำหนักสุดท้ายของปลา แสดงดังตารางที่ 5 พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย TVH และสูตรอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นส่วนประกอบ มีปริมาณการกินอาหารตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองในระยะเวลา 4 สัปดาห์ สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีปลาป่นและไม่มีการเสริม TVH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 ที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ มีปริมาณการกินที่สูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 11.12 ± 0.13 กรัมต่อตัว โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับ TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นวัตถุดิบ ($p>0.05$) ขณะที่น้ำหนักสุดท้ายของปลาสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่กิน โดยปลาทดลองมีน้ำหนักสุดท้ายในชุดปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิง สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ให้น้ำหนักสุดท้ายสูงสุด เท่ากับ 14.90 ± 0.25 กรัมต่อตัว แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นวัตถุดิบ ($p>0.05$)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 6 พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิงสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันสูงที่สุด เท่ากับ 583.20 ± 16.02 เปอร์เซ็นต์ และ 6.86 ± 0.08

เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นวัตถุดิบ ($p>0.05$) ในขณะที่สูตรควบคุมมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะน้อยที่สุด เท่ากับ 347.28 ± 4.56 เปอร์เซ็นต์ และ 5.34 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ ในส่วนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิงมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ ให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด เท่ากับ 0.87 ± 0.03 แต่ไม่พบความแตกต่างนี้ระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นวัตถุดิบ ($p>0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงสุด เท่ากับ 1.05 ± 0.04 ในขณะที่อัตราการรอดตายของปลาเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกชุดการทดลอง

ตารางที่ 5 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย และปริมาณอาหารที่กินของปลากะพงขาวในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0, 4 และ 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น	น้ำหนักสุดท้าย	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	
	(กรัม/ตัว)	(กรัม/ตัว)	รวม 1 สัปดาห์	รวม 4 สัปดาห์
1 (ชุดควบคุม)	2.19 ± 0.01^{ns}	9.77 ± 0.86^{b}	1.32 ± 0.05^{b}	7.99 ± 0.92^{b}
2 (C-TVH-0)	2.19 ± 0.02^{ns}	14.16 ± 0.45^{a}	1.51 ± 0.04^{a}	10.62 ± 0.29^{a}
3 (C-TVH-4)	2.18 ± 0.01^{ns}	14.03 ± 0.73^{a}	1.47 ± 0.10^{a}	10.65 ± 0.68^{a}
4 (C-TVH-8)	2.19 ± 0.01^{ns}	13.98 ± 1.92^{a}	1.51 ± 0.01^{a}	10.96 ± 1.32^{a}
5 (D-TVH-0)	2.19 ± 0.01^{ns}	14.90 ± 0.25^{a}	1.62 ± 0.03^{a}	11.12 ± 0.13^{a}
6 (D-TVH-4)	2.19 ± 0.01^{ns}	14.23 ± 0.70^{a}	1.51 ± 0.14^{a}	11.09 ± 0.59^{a}
7 (D-TVH-8)	2.19 ± 0.02^{ns}	13.29 ± 1.17^{a}	1.43 ± 0.06^{a}	10.21 ± 0.97^{a}
8 (ชุดอ้างอิง)	2.23 ± 0.03^{ns}	13.77 ± 0.95^{a}	1.47 ± 0.07^{a}	10.40 ± 0.46^{a}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม SGR FCR และ อัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่เลี้ยงในระยะเวลา 4 สัปดาห์[1] ด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และD-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0, 4 และ 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
1 (ชุดควบคุม)	347.28 ± 41.56^{b}	5.34 ± 0.34^{b}	1.05 ± 0.04^{b}	100^{ns}
2 (C-TVH-0)	546.75 ± 25.89^{a}	6.66 ± 0.14^{a}	0.89 ± 0.06^{a}	100^{ns}
3 (C-TVH-4)	542.52 ± 32.90^{a}	6.64 ± 0.19^{a}	0.90 ± 0.01^{a}	100^{ns}
4 (C-TVH-8)	540.26 ± 88.57^{a}	6.61 ± 0.50^{a}	0.94 ± 0.09^{a}	100^{ns}
5 (D-TVH-0)	583.20 ± 16.02^{a}	6.86 ± 0.08^{a}	0.87 ± 0.03^{a}	100^{ns}
6 (D-TVH-4)	550.33 ± 32.40^{a}	6.68 ± 0.18^{a}	0.92 ± 0.02^{a}	100^{ns}
7 (D-TVH-8)	505.81 ± 47.43^{a}	6.43 ± 0.27^{a}	0.92 ± 0.01^{a}	100^{ns}
8 (ชุดอ้างอิง)	517.59 ± 37.87^{a}	6.50 ± 0.22^{a}	0.90 ± 0.04^{a}	100^{ns}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

2.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต (TVH) รูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) พบว่าปริมาณโปรตีนของ C-TVH เท่ากับ 83.67 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ สุภาพร (2549) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือจากโรงงานเพื่อใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 86.65 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ D-TVH มีปริมาณโปรตีนและเถ้าต่ำกว่า C-TVH เนื่องจากในตัวอย่าง D-TVH มีแป้งสาลีผสมอยู่ในเนื้อของตัวอย่างถึง 20 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทำให้เป็นวัตถุดิบแห้ง ซึ่งมีความชื้นเพียง 18.09 เปอร์เซ็นต์ และมี ค่า aw เท่ากับ 0.317 ซึ่งจัดเป็นวัตถุดิบแห้ง เนื่องจากมีค่า aw น้อยกว่า 0.6 ซึ่งเป็นระดับต่ำสุดของค่า aw ที่จัดอยู่ในรูปวัตถุดิบแห้ง ส่วนตัวอย่าง C-TVH ที่มีความชื้นสูงที่ระดับ 39.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่า aw อยู่ที่ 0.718 จัดเป็นวัตถุดิบกึ่งแห้ง เมื่อพิจารณา aw ของ TVH ทั้ง 2 รูปแบบ พบว่า aw อยู่ในระดับต่ำกว่าจุดที่จุลินทรีย์จะสามารถนำความชื้นมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ เช่น การศึกษาของ รุ่งนภา และไพศาล (2545) รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์ *C. botulinum* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า aw ต่ำกว่า 0.85 ขณะที่พบว่าค่า TVB-N และค่า TBARS ของตัวอย่างทั้งสองรูปแบบมีค่าสูง เนื่องจากไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดเกิดจากการย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโนในกล้ามเนื้อปลาโดยจุลินทรีย์จากกระบวนการออโตไลซีส พบว่าเครื่องในสัตว์เป็นส่วนที่เกิดกระบวนการออโตไลซีสได้เร็วเนื่องจากมีความชื้น และง่ายต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งก่อให้เกิดการเน่าเสียส่งผลให้ค่าไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดในตัวอย่างมีค่าสูง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพของวัตถุดิบได้อย่างรวดเร็ว

หลังจากเก็บรักษา TVH เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โปรตีนในตัวอย่างของทั้ง 2 รูปแบบมีปริมาณลดลง สอดคล้องกับรายงานของ ฤทัยรัตน์ (2547) ที่ผลิตไฮโดรไลเสตจากหัวและไส้ของปลาทรายแดงในรูปแบบแห้ง ภายหลังการเก็บรักษาพบว่าโปรตีนในไฮโดรไลเสตมีปริมาณโปรตีนลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งการลดลงของโปรตีนอาจเกิดจากการสลายของกรดอะมิโนอิสระโดยการเก็บเป็นเวลานานในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงจะเร่งการสลายของกลุ่มอะมิโน (March *et al.,* 1961) พบว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีนเนื่องจากสารที่เกิดจากการออกซิไดซ์ของไขมัน เช่น มาลอนอัลดีไฮด์ (MAD) สามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่ที่มีความจำเพาะต่อกัน เช่น หมู่ซัลฟ์ไฮดริลของกรดอะมิโนซีสเตอีน (cysteine-SH) หมู่อะมิโนของไลซีน (lysine-NH_2) และปลายด้านอะมิโนของกรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) ทำให้โปรตีนมีการจับตัวเป็นโมเลกุลที่ใหญ่ขึ้น ทำให้ความไม่ชอบน้ำบนผิวของโมเลกุลโปรตีนเพิ่มมากขึ้น มีผลให้การละลายของไนโตรเจนลดน้อยลงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่า ตัวอย่าง C-TVH มีค่า TBARS เพิ่มสูงขึ้นตามเวลาที่เก็บรักษา มีค่า NSI ลดลงสอดคล้องกับปริมาณการออกซิเดชันในไขมันที่เพิ่มขึ้น (

Kussi *et al*., 1975; Esterbauer *et al*.,1991; Takiguchi, 1992; Luo and Hultin, 1986; Rafsgaard *et al*., 2000)

รูปแบบ และระยะในการเก็บรักษา TVH พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการละลายของไนโตรเจนกับการทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกิน ค่า NSI ในตัวอย่างทั้ง 2 รูปแบบมีค่าการละลายสูงว่าร้อยละ 95 ขึ้นไปในทุกช่วงเวลาเก็บรักษา ผลที่ได้บ่งชี้ถึงความสามารถในการนำไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในปลากะพงขาวที่มีอวัยวะในการรับกลิ่นโดยผ่านตัวกลางคือน้ำ ยิ่งไนโตรเจนมีการละลายได้ดีปลาจะรับกลิ่นและว่ายเข้ามากินอาหารได้ดีขึ้น.ในขณะที่ค่า TBARS ซึ่งเป็นค่าที่ใช้วัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอิสระที่อยู่ในไขมันที่ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะมีความสัมพันธ์กับค่า aw พบว่าในตัวอย่างที่มีค่า aw ระหว่าง 0.20 - 0.40 อัตราการเกิดการออกซิเดชันจะต่ำ ในขณะที่ตัวอย่างที่มีค่า aw อยู่ระหว่าง 0.40 - 0.75 จะมีอัตราการเกิดการออกซิเดชันอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าตัวอย่าง C-TVH ที่ เกิดการออกซิเดชันของไขมันสูงกว่าตัวอย่าง D-TVH ที่มีค่า aw ต่ำกว่า เนื่องมาจากปริมาณน้ำในวัตถุดิบมีผลทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์และออกซิเจน ส่งผลต่อการเกิดการออกซิเดชัน (Nawar, 1996) ในตัวอย่าง D-TVH แม้จะมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ช้ากว่าเนื่อง C-TVH จากปริมาณของค่า aw ที่ค่อนข้างต่ำ แต่ก็ยังคงเกิดการออกซิเดชันขึ้นได้ เนื่องจากเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตยังคงมีไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงเป็นองค์ประกอบ ขณะที่ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดซึ่งเป็นตัวชี้วัดความเน่าเสียและการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ (Arason, 1994) พบว่าตัวอย่าง TVH ที่ผลิตขึ้นทั้ง 2 รูปแบบ มีปริมาณ TVB-N หลังการผลิตอยู่ในช่วง 190 - 240 mg N/100g ค่า TVB-N ที่เกิดขึ้นสูงในวัตถุดิบเกิดจากส่วนของเครื่องในปลาที่เกิดกระบวนการออโตไลซีสได้รวดเร็วง่ายต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ภายหลังการเก็บรักษา พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีปริมาณของ TVB-N เพิ่มสูงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับตัวอย่าง D-TVH แสดงให้เห็นถึงว่าระดับความชื้นในวัตถุดิบมีผลความเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ และส่งผลต่อค่า TVB-N ที่เพิ่มสูงมากขึ้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งแสดงในลักษณะของสีที่เปลี่ยนแปลง โดยตัวอย่าง C-TVH มีค่าความสว่าง (L*) สูงกว่าตัวอย่าง D-TVH และเมื่อระยะเวลาผ่านไปพบว่าค่าความสว่างของ D-TVH ลดลงตามระยะเวลาที่เก็บมากกว่า C-TVH ในขณะที่ค่า a* และ b* ซึ่งแสดงความเป็นสีแดงและสีเหลืองของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ ฤทัยรัตน์ (2547) ที่ผลิตไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาทรายแดงและเก็บรักษาในรูปแบบแห้ง เกิดการลดลงของค่าความสว่าง และมีการเพิ่มขึ้นของสีแดงและสีเหลืองในตัวอย่างที่เก็บเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดย Ranken (1994) ได้รายงานว่าการเกิดสีคล้ำใน

เนื้อสัตว์ที่ผ่านการเก็บรักษา เนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันกับไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์เปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบินที่เป็นสีน้ำตาล ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสตจากการศึกษาครั้งนี้ผ่านความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส และมีการแยกส่วนของไขมันออกไปในขั้นตอนการผลิต ก่อนเก็บรักษาอยู่ในอุณหภูมิ 22 - 28 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงทางของสีในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลเสตจึงควรเกิดขึ้นต่ำ เช่นเดียวกับ Bragadottir และคณะ (2004) รายงานถึงปริมาณของการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในปลาป่นที่รับได้ไม่ควรเกิน 4 - 5 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ D-TVH ที่เกิดการออกซิเดชันของไขมันต่ำกว่า C-TVH กลับพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีสูงถึง 5 - 7 ทั้งนี้เกิดจากตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ในการเก็บรักษาตัวอย่างในรูป D-TVH เกิดการจับตัวกันของเนื้อผลิตภัณฑ์ทำให้ต้องทำการบดซ้ำอีกครั้งก่อนนำเข้าสู่กระบวนการวัดค่าสี การกระจายตัวและขนาดของเนื้อของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนไปจึงอาจส่งผลกับการตรวจวัดค่าสี ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงที่กว้างขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ C-TVH ที่มีการเปลี่ยนของสีเพียง 1 - 3

ปริมาณการกินอาหารของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ ที่มีการเก็บรักษา 3 ช่วงเวลา (0 4 และ 8 สัปดาห์) และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่น มีปริมาณอาหารที่กินสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โดยปลากะพงขาวมีอัตราการกินอาหารอยู่ในช่วง 4-7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน (คำนวณจากปริมาณอาหารที่กินทุกวัน) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chotikachinda (2014) ซึ่งพบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ระดับ 1-4 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร มีปริมาณการกินสูงกว่าชุดควบคุมเมื่อใช้ไก่ป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เช่นเดียวกับการศึกษาของ อานัส และชุติมา (2551) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตมีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารในกุ้งก้ามกรามส่งผลให้กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตมีปริมาณอาหารที่กินสูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตเกิดจากการย่อยสลายกลุ่มของโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงจนเกิดเป็นกรดอะมิโนอิสระ Lee และคณะ (2004) รายงานถึงกรดอะมิโนที่พบได้มากในเครื่องในปลาทูน่าซึ่งประกอบด้วย ไกลซีน อะลานีน ลูซีน กรดแอสพาร์ติก และกรดกลูตามิค เมื่อนำมาย่อยให้อยู่ในรูปไฮโดรไลเสต ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่มีความสามารถในการเป็นสารกระตุ้นการกินก็ยิ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ D'Abramo และคณะ (1997) ที่พบว่าสารที่มีส่วนประกอบของไนโตรเจน และโมเลกุลมีขนาดเล็กหรือมีน้ำหนักน้อยกว่า 1,000 ดัลตัน สามารถทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินได้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ สุภาพร (2549) พบว่าเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมีปริมาณของ กรดกลูตามิกสูงสุด รองลงมาคือ อาร์จีนีน ลูซีน และกรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ กรดอะมิโนอิสระเหล่านี้เป็นสารโมเลกุลเล็กที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก และเมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ก็จะส่งเสริมการสลายโปรตีนทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระที่เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ Chotikachinda (2014) รายงานถึงระดับของกรดอะมิโนอิสระ

ในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ลงไปในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต ซึ่งระดับการย่อยสลายที่สูงก็ยิ่งเพิ่มความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวได้ดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ที่ใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ระดับการย่อยสลายที่ 60 เปอร์เซ็นต์

ในการศึกษานี้มีการใช้เนื้อป่นที่ได้จากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อโคเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารโดยไม่มีปลาป่นในอาหาร ผลการเจริญเติบโตพบว่าเมื่อมีการเสริมอาหารด้วย TVH การเจริญเติบโตของปลาไม่ได้รับผลกระทบจากการใช้เนื้อป่น ผลการนำเนื้อป่นมาใช้สอดคล้องกับศึกษาในปลาชนิดต่างๆ เช่น ในปลาเก๋าลายจุด ที่สามารถใช้เนื้อป่นผสมเลือดป่นได้สูงสุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Millamena, 2002) ในขณะที่พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นทั้งโปรตีน 60 และ 52 เปอร์เซ็นต์ ในฟาร์มเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ได้โดยการกินและเจริญเติบโตของปลาไม่แตกต่างจากอาหารทั่วไปที่ใช้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวที่ประกอบด้วยปลาป่นในปริมาณสูง (Williams *et al.*, 2003) จากการศึกษาปลากะพงขาว พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ SGR ของปลามีค่าสูงกว่าปลาในสูตรควบคุม สอดคล้องกับรายงานของ Berge and Storebakken (1996) ซึ่งพบว่าปลาแซลมอนที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาที่ระดับ 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มีการกินอาหารได้ดี มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและ SGR สูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรเสต ในขณะที่ค่า FCR ของกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย TVH มีการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำเพียง 0.89-0.94 ใกล้เคียงกับ Chotikachinda (2014) รายงานถึงค่า FCR ในปลากะพงขาวที่ได้รับเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในระดับที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนอิสระปริมาณมากในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต สามารถดึงดูดให้ปลากะพงขาวยอมรับอาหารที่ใช้วัตถุดิบทดแทนปลาป่นได้ดี เช่นเดียวกับการศึกษาของ Khosravi และคณะ (2015) ที่เลี้ยงปลาทรายแดงด้วยอาหารที่ลดปลาป่นและทดแทนด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลือง เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากปลานิล พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตมีการกินอาหารและการเจริญเติบโตในทุกพารามิเตอร์สูงกว่าปลาที่ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสต

2.7 สรุปผลการทดลอง

ช่วงเวลาในการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้งรูปแห้ง (C-TVH) และรูปหนืด (D-TVH) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โดยตัวอย่าง D-TVH มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพภายหลังการเก็บรักษาน้อยกว่าตัวอย่าง C-TVH แต่ยังพบปัญหาเกี่ยวกับการนำมาใช้งานเนื่องจากเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้นกลับพบการจับตัวของเนื้อผลิตภัณฑ์ เพื่อลดปัญหาการดูดความชื้นกลับเข้าสู่เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตอาจทำการเพิ่มแป้งสาลีในขั้นตอนการผลิตให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปแห้ง และอาจลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาเพื่อรักษาคุณภาพทางเคมีให้เปลี่ยนแปลงน้อยลง สำหรับการนำเครื่องในปลาทูน่าทั้ง 2 รูปแบบที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ มาเสริมในอาหารและเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ารูปแบบและเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาว

บทที่ 3
การทดลองที่ 2

การศึกษาระดับการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่เหมาะสมโดยใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและกิจกรรมของเอนไซม์ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

3.1 บทคัดย่อ

ศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและโปรตีน และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและโปรตีนถั่วเหลืองสกัด) เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น และเสริมด้วย D-TVH ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 2.60±0.02 กรัมต่อตัวในตู้เลี้ยงที่บรรจุน้ำจืดขนาด 100 ลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ อาหารชุดควบคุมมีปลาป่นเป็นส่วนประกอบ 15.03 เปอร์เซ็นต์ อาหารสูตรที่ 2 3 และ 4 มีการลดปริมาณปลาป่นลงที่ระดับ 33 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับรวมทั้งเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองทดแทนลงไป และสูตรที่ 5 คือสูตรอ้างอิงที่มีเนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักและเสริมด้วย D-TVH พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และสูตรอ้างอิงมีปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่กินอาหารเสริมด้วย D-TVH ขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระดับต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในส่วนของกิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน พบว่า สูตรควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินสูงที่สุด ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินจากไส้ติ่ง (ยูนิต/มิลลิลิตร) มีแนวโน้มลดลงตามปริมาณของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่เพิ่มสูงขึ้น กิจกรรมในลำไส้ของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสและอัคคาไลน์ฟอสฟาเตสไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง แต่มีความแตกต่างกันในไส้ติ่งของปลาระหว่างชุดการทดลอง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปลากะพงขาว

สามารถใช้อาหารที่มีเนื้อปั่นและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเสริม D-TVH เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร

3.2 บทนำ

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) เป็นปลาน้ำกร่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตไว เนื้อมีรสชาติดี ปัจจุบันการเลี้ยงปลาชนิดนี้มีการขยายตัวมากขึ้น ทั้งการเลี้ยงในกระชัง บ่อดินในเขตน้ำจืด น้ำกร่อย และชายฝั่งทะเล จากความต้องการทางตลาดที่เพิ่มสูงขึ้นการเลี้ยงภายหลังจึงนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสด อาหารสำเร็จรูปนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี มีกรดอะมิโนที่เหมาะสมครบถ้วน เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น อีกทั้งมีความน่ากินต่อสัตว์น้ำ แต่จากราคาของปลาป่นที่สูงขึ้นในปัจจุบันส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของต้นทุนค่าอาหาร ทำให้เกิดการมองหาแหล่งโปรตีนเข้ามาทดแทนปลาป่น โดยมุ่งที่จะเลือกใช้วัตถุดิบที่ผลิตได้ตามท้องถิ่นเพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการผลิตอาหาร เพื่อให้ได้มาซึ่งแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูก มีคุณภาพดี และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่สมดุลตามความต้องการของสัตว์น้ำ

ถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำชนิดต่างๆ เนื่องจากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น และมีปริมาณเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำหลาย ๆ ชนิด กากถั่วเหลืองที่ผลิตจากโรงงานสกัดน้ำมันได้รับความนิยมและถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง แม้จะมีโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ แต่ยังมีปัจจัยจำกัดที่ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ได้อย่างเต็มที่ Chuapoehuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตลดลงและประสิทธิภาพการใช้อาหารจะลดลง เช่นเดียวกับการทดลองของ Tantikitti และคณะ (2005) ได้รายงานระดับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมในอาหารปลากะพงขาว หากทดแทนสูงขึ้นกว่านี้ปลาจะมีปริมาณการกินอาหารน้อยลงส่งผลต่อเจริญเติบโตของปลา เนื่องจากอาหารที่ผลิตขึ้นโดยใช้วัตถุดิบจากพืชไม่สามารถดึงดูดให้ปลาเข้าไปกินอาหารได้เท่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาป่น ปัญหานี้นำไปสู่การศึกษาเกี่ยวกับสารที่จะเข้ามาทำหน้าที่ดึงดูดการกินให้กับสัตว์น้ำ โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากวัตถุดิบเศษเหลือจากอุตสาหกรรมสัตว์น้ำตัวเลือกที่มีการศึกษา เหมาะแก่การนำมาใช้กับอาหารสัตว์น้ำที่มีการใช้วัตถุดิบทดแทนจากพืชในระดับสูง โปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโต และยังพบความสามารถในการเป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร การศึกษาของ

Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารในปลากะพงขาวได้ดี การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาปริมาณของการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในระดับที่เหมาะสมต่อการยอมรับอาหาร การเจริญเติบโต และการนำอาหารไปใช้ประโยชน์ โดยใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาวที่ใช้แหล่งโปรตีนหลักจากเนื้อป่น เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนในด้านอาหารส่งเสริมอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลากะพงในอนาคต

3.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของอาหารที่มีการลดปริมาณปลาป่นและทดแทนด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดโดยมีการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแห้งและกรดอะมิโนดีแอล-เมทไธโอนีนต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลากะพงขาว

3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

3.4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ประกอบด้วยอาหารทดลอง 5 สูตร (ตารางที่ 7) สูตรละ 4 ซ้ำ ใช้เนื้อป่นที่ได้จากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตจากเนื้อโคเป็นแหล่งโปรตีนหลัก โดยอาหารทดลองมีโปรตีน และไขมัน ที่ระดับ 45 เปอร์เซ็นต์ และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สูตรควบคุมมีปลาป่นที่ระดับ 15.03 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร จากนั้นลดระดับของปลาป่นและทดแทนด้วยกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ระดับ 33 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณปลาป่นในสูตรที่ 2 3 และ 4 ตามลำดับ และเสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนัก สำหรับสูตรอ้างอิงคือสูตรที่ให้ผลการกินของปลากะพงขาวดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 ทุกสูตรมีการเติมกรดอะมิโนดีแอล-เมทไธโอนีนเพื่อป้องการการขาด โดยเลี้ยงปลาในตู้ทดลองขนาดบรรจุน้ำ 100 ลิตร จำนวน 20 ตู้ ที่ระดับความหนาแน่น 12 ตัวต่อตู้ เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.4.2 การเตรียมปลา

นำปลากะพงขาวน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.5 กรัม/ตัว จำนวน 3,000 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1 ตัน จำนวน 4 ถัง ให้อาหารสำหรับอนุบาลที่ผลิตขึ้นเองกับลูกปลากะพงขาว วันละ 3 มื้อ เพื่อฝึกให้ปลาสามารถรับอาหารที่มีลักษณะใกล้เคียงกับอาหารทดลอง ให้ออกซิเจนตลอดเวลา เปลี่ยน

ถ่ายน้ำทุกวัน และคัดขนาดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อลดการกินกันเอง จากนั้นคัดปลาที่มีน้ำหนักประมาณ 2 กรัม จำนวน 15 ตัว ใส่ในตู้ทดลอง เพื่อให้ปลาคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมในตู้ทดลองและปรับเวลาในการให้อาหารเป็น 2 มื้อ โดยให้อาหารแบบกินจนอิ่มเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นคัดปลาที่มีสุขภาพแข็งแรงและมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ประมาณ 2-3 กรัม/ตัว จำนวน 12 ตัว/ตู้ โดยสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร เพื่อชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นเป็นรายตัว และบันทึกน้ำหนักเริ่มต้น

3.4.3 การเตรียมอาหารทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ผลิตอาหารตามวิธีของ AOAC (1995) นำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการคำนวณเพื่อสร้างสูตรอาหารที่มีโปรตีนและไขมันที่ระดับ 45 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จำนวน 5 สูตร ดังนี้

สูตรที่1 (สูตรควบคุม) .ใช้เนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก และมีปลาป่น 15.03 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร ไม่มีการเสริม D-TVH

สูตรที่ 2 ลดปริมาณปลาป่นเหลือ 10.02 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง) มีการเสริม D-TVH (ระดับการทดแทน 33 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในปลาป่น)

สูตรที่ 3 ลดปริมาณปลาป่นเหลือ 5.01 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง) มีการเสริม D-TVH (ระดับการทดแทน 67 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในปลาป่น)

สูตรที่ 4 ลดปริมาณปลาป่นเหลือ 0 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันและโปรตีนสกัดจากกากถั่วเหลือง) มีการเสริม D-TVH (ระดับการทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในปลาป่น)

สูตรที่ 5 (สูตรอ้างอิง) เนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก และมีปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร มีการเสริม D-TVH (ไม่มีปลาป่น)

ส่วนประกอบของอาหารทดลองดังในตารางที่ 7 ชั่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามส่วนประกอบอาหารแต่ละสูตร ผสมวัตถุดิบในเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมน้ำสะอาด 25-30 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ผสมจนกระทั่งวัตถุดิบเข้ากันเป็นเนื้อเดียวเป็นเวลา 20 นาที ทำการอัดเม็ด ผ่านหน้าแว่นขนาด 0.2 และ 0.5 มิลลิเมตรให้เหมาะกับขนาดปากของปลาที่จะโตขึ้นในช่วง 8 สัปดาห์ นำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้น

นำไปร่อนก่อนบรรจุลงในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง ตามวิธีของ AOAC (1995)

ตารางที่ 7 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมี (กรัม/ 100 กรัมอาหาร, As-fed basis) ในการทดลองที่ 2 ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร				
	1	2	3	4	5
	ควบคุม	(33 %)	(67 %)	(100 %)	อ้างอิง
ปลาป่น	15.03	10.02	5.01	-	-
เนื้อป่น	52.40	44.07	41.37	38.97	55.26
กากถั่วเหลือง	-	4.19	8.37	12.56	2.10
โปรตีนถั่วเหลืองสกัด	-	4.73	9.45	14.18	6.30
แป้งสาลี	16.00	14.75	14.75	14.75	14.75
แกลบ	7.18	5.17	3.09	0.75	4.47
น้ำมันถั่วเหลือง:น้ำมันปลา (1:1)	2.73	4.12	4.93	5.69	4.07
วิตามิน&แร่ธาตุรวม[1]	4.60	4.60	4.60	4.60	4.60
ซีเอ็มซี[2]	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
ดีแอลเมทไธโอนีน[3]	0.06	0.10	0.18	0.25	0.20
D-TVH[4]	-	6.25	6.25	6.25	6.25
องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)					
โปรตีน	44.99	45.12	44.79	44.63	45.25
ไขมัน	11.15	11.02	11.20	11.06	11.13
เถ้า	18.06	15.75	14.63	13.86	16.57
ความชื้น	7.89	8.50	8.14	8.75	7.24
เยื่อใย	5.95	5.49	4.66	3.83	5.31

[1] วิตามิน (0.6 %) ประกอบด้วย Thiamin HCI 60, Riboflavin 100, Pyridoxine HCI 40, Folic acid 15, Calcium pantothenate100, Inositol 2000, Biotin 6, Vitamin B_{12} 0.1, Menadione 50, Tocopherol acetate 100,Vitamin AD_3 (500 IU of A+100 IU of D_3/มก) 8, Choline chloride 5000, Ascorbic acid 500 (มก/กก. อาหาร) และ แร่ธาตุรวม (4.0%) ประกอบด้วย $CaHPO_4$ 8, NaH_2PO_4. $2H_2O$ 15, KH_2PO_4 10, KCl 5 (ก./กก.อาหาร)

[2] Carboxymethyl cellulose (CMC)

[3] DL-Methionine

[4] เครื่องในปลาทูน่ารูปแห้ง

3.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

บันทึกน้ำหนักปลาเริ่มต้น น้ำหนักอาหารที่ปลากินในแต่ละวันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยสังเกตและบันทึกอาการทั่วไปของปลา เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง ชั่งน้ำหนักปลารายตัวในแต่ละตู้ นับจำนวนปลาที่เหลือ และเก็บตัวอย่างปลาจากทุกตู้ทดลองเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีของ AOAC (1995) ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (Percentage weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR) อัตรารอดตาย (Survival rate) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio, PER) และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (Productive protein value, PPV) ของปลาในแต่ละชุดการทดลอง จากสมการดังต่อไปนี้

1) อัตราการรอดตาย

$$\text{อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

2) พารามิเตอร์ของการเจริญเติบโต

$$\text{น้ำหนักเพิ่ม(เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม/ตัว)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม/ตัว)}} \times 100$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)} = \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นทดลอง})}{\text{จำนวนวันทดลอง}} \times 100$$

3) พารามิเตอร์ของประสิทธิภาพการใช้อาหาร

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)}}$$

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

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

3.4.5 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

1) การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลากะพงขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยงดให้อาหารปลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการเก็บตัวอย่างเพื่อให้ทางเดินอาหารปราศจากอาหาร เก็บตัวอย่างปลาชุดการทดลองละ 8 ตัว สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลูและผ่าตัดช่องท้องเพื่อแยกกระเพาะอาหาร ลำไส้ และไส้ติ่ง ชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่างใส่ลงในหลอด cryotube ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วเก็บรักษาตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวทันทีเพื่อรักษาสภาพสำหรับสกัดเอนไซม์ต่อไป

2) การสกัดเอนไซม์

สกัดเอนไซม์เปปซินจากกระเพาะอาหาร ส่วนเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้และไส้ติ่งใช้ในการวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และแอลฟา-อะไมเลส โดยใช้น้ำกลั่นเย็นในการสกัดตัวอย่าง ขณะที่สกัดเอนไซม์จากบรัชบอร์เดอร์เมมเบรนเพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ตามวิธีการของ Srichanun และคณะ (2013) และเก็บส่วนใสไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมเอนไซม์ต่อไป

3) การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร

เอนไซม์ที่ศึกษาประกอบด้วย เปปซิน ทริปซิน แอลฟา-อะไมเลส ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยรายงานค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทุกตัวในหน่วย ยูนิต/มิลลิลิตร ยกเว้นลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ที่ประกอบด้วยรายงานในหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีนเพิ่มเติม

กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีของ Bergmeyer และคณะ(1974) โดยใช้ 0.2 M Glycine –NaCl HCl (pH 2.8) เป็นบัฟเฟอร์ ซับสเตรท คือ 1 เปอร์เซ็นต์ ฮีโมโกลบิน หยุดปฏิกิริยาด้วย กรดไตรคลอโรอะซิติค (TCA) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน *L*-Tyrosine

กิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีของ Erlengel และคณะ (1961) โดยใช้ 0.05 M Tris –HCl (pH 2.8) ผสมด้วย 0.02 M $CaCl_2$ เป็นบัฟเฟอร์ N_{α}-Benzoyl-*DL*-arginine-4- nitro anilide hydrochloride (BAPNA) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ เป็นซับสเตรท หยุดปฏิกิริยา กรดไทรคลอโรอะซิติค วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร

กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีของ Rick และ Stegbauer (1974) วัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจากการเพิ่มขึ้นของการย่อยสารละลายแป้ง

ด้วย 3, 5 dinitrosalicylic acid ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมอลโตสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้สารละลายแป้งเป็นซับสเตรท

กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีการของ Maroux และคณะ (1997) โดยใช้ 80 mM sodium phosphate บัฟเฟอร์ (pH 7.5) และซับเสตรท *L*-leucine *p*-nitroanilide (ใน 0.1 มิลลิโมลาร์ DMSO) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร ทุก 20 วินาที นาน 5 นาที นำค่าความยาวคลื่นที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานของ *p*-nitroanilide

กิจกรรมของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีการของ Bessey และคณะ (1946) ที่อ้างโดย Kvåle และคณะ (2007) โดยใช้ *p*-nitro-phenyl-phosphate (7 mM) เป็นซับสเตรท และ 30 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$ (pH 10.75) เป็นบัฟเฟอร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ทุก 20 วินาที นาน 5 นาที จากนั้นนำค่าความยาวคลื่นที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานของ p-nitrophenol

3.4.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ น้ำหนักอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ และกิจกรรมเอนไซม์แต่ละชนิดมาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.5 ผลการทดลอง

3.5.1 การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย

ปลากะพงขาวที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ด้วยอาหารที่มีการลดปริมาณปลาป่นลงสูตรละ 5.01 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร หรือประมาณสูตรละ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น โดยใช้กากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ลดลง และเสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต (D-TVH) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่ม SGR และ อัตราการรอดตาย แสดงดังตารางที่ 8 โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และ 5 ที่มีการเสริม D-TVH มีน้ำหนักสุดท้ายสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักสุดท้ายในกลุ่มที่มีการเสริม D-TVH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งมีน้ำหนักสุดท้ายอยู่ในช่วง 40.94 - 46.48 กรัม/ตัว ขณะที่สูตรที่ 3 และ 4 ที่มีปลาป่นลดลง 67 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีน้ำหนักสุดท้ายไม่แตกต่างกับสูตรควบคุมที่มีน้ำหนักสุดท้ายต่ำสุดเท่ากับ 36.68 ± 2.38 กรัม/ตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มมีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และ 5 มีน้ำหนักที่เพิ่มสูงกว่าชุดควบคุมที่มีปลาป่นแต่ไม่มีการเสริม D-TVH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มของปลากลุ่มที่มีการเสริม D-TVH อยู่ในช่วง 1480.10 - 1687.47เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 และ 4 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มไม่ต่างจากชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มของปลาต่ำที่สุดเท่ากับ 1290.31 ± 111.13 เปอร์เซ็นต์ SGR มีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม ซึ่งพบว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และ 5 มี SGR สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกลุ่มปลาที่มีการเสริม D-TVH มี SGR ใกล้เคียงกันในช่วง 5.01 - 5.24 เปอร์เซ็นต์/วัน ($p>0.05$) แต่ SGR ของปลาที่ได้รัลบอาหารสูตรที่ 3 และ 4 ไม่แตกต่างทางสถิติจากสูตรควบคุม ($p>0.05$) ซึ่งมี SGR ต่ำที่สุด เท่ากับ 4.78 ± 0.14 เปอร์เซ็นต์ /วัน โดยปลากะพงขาวในทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ตลอดการทดลอง

ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอดตายของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)		น้ำหนักที่เพิ่ม[2]	SGR[3]	อัตราการรอดตาย[4]
	เริ่มต้น	สุดท้าย	(เปอร์เซ็นต์)	(เปอร์เซ็นต์/วัน)	(เปอร์เซ็นต์)
1 (ควบคุม)	2.64±0.09^{ns}	36.68±2.38^{b}	1290.31±111.13^{b}	4.78±0.14^{b}	100^{ns}
2 (33 เปอร์เซ็นต์)	2.60±0.01^{ns}	44.53±2.53^{a}	1615.39±99.26^{a}	5.17±0.11^{a}	100^{ns}
3 (67 เปอร์เซ็นต์)	2.59±0.01^{ns}	40.94±4.46^{ab}	1480.10±165.24^{ab}	5.01±0.19^{ab}	100^{ns}
4 (100 เปอร์เซ็นต์)	2.60±0.01^{ns}	43.35±4.10^{ab}	1570.03±158.79^{ab}	5.11±0.18^{ab}	100^{ns}
5 (อ้างอิง)	2.60±0.02^{ns}	46.48±3.40^{a}	1687.47±134.02^{a}	5.24±0.13^{a}	100^{ns}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

[2]น้ำหนักที่เพิ่ม = ((น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม)-น้ำหนักปลาเริ่มต้น(กรัม)/น้ำหนักปลาเริ่มต้น(กรัม))×100

[3]อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) =((*ln* น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย-*ln* น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น)/(จำนวนวันที่เลี้ยง))×100

[4]อัตราการรอดตาย = (จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)/จำนวนปลาเริ่มต้น(ตัว))×100

3.5.2 ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

ปริมาณการกินอาหารและ FCR แสดงผลดังตารางที่ 9 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีปริมาณอาหารที่กินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมด้วย D-TVH มีปริมาณอาหารที่กินอยู่ในช่วง 39.53 - 45.12 กรัม/ตัว ซึ่งไม่มีความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่ชุดการทดลองที่ 2-4 ที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นลงตั้งแต่ 33 –100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณอาหารที่กินไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีปริมาณอาหารที่กินของปลาต่ำสุดเท่ากับ 37.68 ± 3.77 กรัม/ตัว สำหรับ FCR ที่แสดงถึงการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลา พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2-5 ที่มีการเสริมด้วย D-TVH โดยมี FCR ในช่วง 1.03 ± 0.03-1.06 ± 0.02 โดยชุดควบคุมมี FCR สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับ 1.11 ± 0.02

3.5.3 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และ โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV)

PER มีแนวโน้มเช่นเดียวกับ FCR พบว่าไม่มีความแตกต่างของ PER ในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมด้วย D-TVH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดย PER อยู่ในช่วง 2.09 - 2.16 ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมี PER ต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับ 2.01 ± 0.04 ส่วน PPV ของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นไปในทิศทางเดียวกับ PER โดย PPV ในกลุ่มปลาที่กินอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีค่าอยู่ในช่วง 38.10 - 40.17 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมี PPV ต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับ 35.73 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ปริมาณอาหารที่กิน FCR PER และ PPV ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	FCR[2]	PER[3]	PPV[4] (เปอร์เซ็นต์)
1 (ควบคุม)	37.68±2.03[b]	1.11±0.02[b]	2.01±0.04[b]	35.73±0.36[b]
2 (33 เปอร์เซ็นต์)	44.54±2.33[ab]	1.06±0.02[ab]	2.09±0.03[ab]	38.11±0.36[ab]
3 (67 เปอร์เซ็นต์)	39.53±4.24[ab]	1.03±0.03[a]	2.17±0.05[a]	38.80±1.31[a]
4 (100 เปอร์เซ็นต์)	42.13 ±3.06[ab]	1.04±0.03[a]	2.16±0.09[a]	40.17±1.56[a]
5 (อ้างอิง)	45.12±3.77[a]	1.03±0.01[a]	2.15±0.02[a]	38.79±1.02[a]

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

[2]อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ตัว) /น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)

[3]ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) = น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)/น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)

[4]โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV) = (โปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น(กรัม/ตัว)/โปรตีนที่ปลากิน (กรัม/ตัว))×100

3.5.4 กิจกรรมของเอนไซม์

1) กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และแอลฟา-อะไมเลส

กิจกรรมของเอนไซม์เปปซินที่พบในกระเพาะอาหารของปลากะพงขาว หลังจากได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยแสดงผลกิจกรรมเอนไซม์เป็น ยูนิต/มิลลิลิตร ดังภาพที่ 8 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 17.55 ± 2.55 ยูนิต/มิลลิลิตร ($p<.0.05$) ยกเว้นชุดการทดลองที่ 2 ที่มีการลดปลาป่นลง 33 เปอร์เซ็นต์ และทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง (ตารางที่ 10) กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในลำไส้ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ มีค่าใกล้เคียงกันในช่วง 0.06 - 0.10 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ของเอนไซม์ทริปซินบริเวณไส้ติ่งของปลา โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับ 0.33 ± 0.09 ยูนิต/มิลลิลิตร และพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ 0.11 ± 0.02 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่ไม่พบความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่บริเวณลำไส้และไส้ติ่ง โดยกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ลำไส้อยู่ในช่วง 2.09 - 3.93 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ไส้ติ่งอยู่ในช่วง 2.33 - 3.70 ยูนิต/มิลลิลิตร

2) กิจกรรมของเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

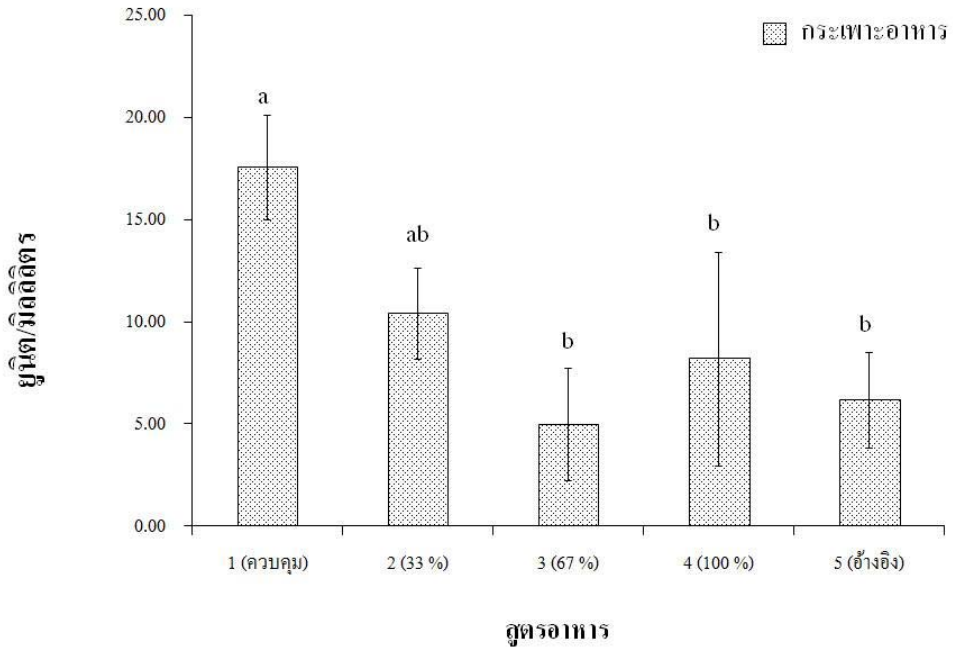
กิจกรรมของเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบริเวณลำไส้และไส้ติ่งของปลากะพงขาวแสดงผลดังตารางที่ 11 พบว่า ไม่มีความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปทิเดสที่บริเวณลำไส้ โดยกิจกรรมอยู่ที่ระดับ 0.23 - 0.33 ยูนิต/มิลลิลิตร และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสมีความแตกต่างกันที่บริเวณไส้ติ่ง ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปทิเดสสูงที่สุด (0.54 ± 0.10 ยูนิต/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ชุดควบคุมมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสต่ำสุดที่ระดับ 0.26 ± 0.04 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปทิเดสไม่มีความแตกต่างกันในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม D-TVH ($p>0.05$) โดยระดับของกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสอยู่ในช่วง 0.36 - 0.54 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส เมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณในหน่วยของยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส พบว่าไม่มีความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่เกิดขึ้นบริเวณลำไส้ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ โดยมีระดับของกิจกรรมของเอนไซม์ในช่วง 1.62 - 2.43 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่พบกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่บริเวณไส้ติ่งมีความแตกต่างกัน ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเกิดขึ้นสูงสุด (6.21 ± 0.39 ยูนิต/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ไม่มีความแตกต่างกันของค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในกลุ่มปลาทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม D-TVH ซึ่งมีกิจกรรมที่ระดับ 3.10 - 6.21 ยูนิต/มิลลิลิตร ($p>0.05$) ขณะที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทั้งในส่วนของลำไส้และไส้ติ่งเมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณในหน่วยของยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

ตารางที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	ทริปซิน (ยูนิต/ มิลลิลิตร)		แอลฟาอะไมเลส (ยูนิต/ มิลลิลิตร)	
	ลำไส้	ไส้ติ่ง	ลำไส้	ไส้ติ่ง
1 (ควบคุม)	0.07±0.02^{ns}	0.25±0.05^{ab}	3.21±0.01^{ns}	3.36±0.62^{ns}
2 (33 เปอร์เซ็นต์)	0.07±0.02^{ns}	0.23±0.05^{abc}	2.89±0.35^{ns}	2.33±1.16^{ns}
3 (67 เปอร์เซ็นต์)	0.09±0.02^{ns}	0.13±0.04^{bc}	3.93±1.00^{ns}	3.21±0.59^{ns}
4 (100 เปอร์เซ็นต์)	0.10±0.01^{ns}	0.11±0.02^{c}	3.00±0.57^{ns}	3.70 ±0.87^{ns}
5 (อ้างอิง)	0.06±0.01^{ns}	0.33±0.09^{a}	3.88±0.04^{ns}	3.39±0.57^{ns}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)



ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน (ยูนิต/มิลลิลิตร) ในกระเพาะปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 11 กิจกรรมของลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	ลิวซินอะมิโนเปปติเดส (ยูนิต/ มิลลิลิตร)		อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ยูนิต/ มิลลิลิตร)	
	ลำไส้	ไส้ติ่ง	ลำไส้	ไส้ติ่ง
1 (ควบคุม)	0.23±0.05^{ns}	0.26±0.04^{b}	1.62±0.46^{ns}	2.30±0.83^{b}
2 (33 เปอร์เซ็นต์)	0.28±0.12^{ns}	0.36±0.07^{ab}	2.06±0.83^{ns}	3.10±0.84^{ab}
3 (67 เปอร์เซ็นต์)	0.33±0.12^{ns}	0.41±0.05^{ab}	2.15±1.36^{ns}	3.18±1.73^{ab}
4 (100 เปอร์เซ็นต์)	0.27±0.13^{ns}	0.40±0.13^{ab}	2.15±0.41^{ns}	3.95±1.78^{ab}
5 (อ้างอิง)	0.33±0.05^{ns}	0.54±0.10^{a}	2.43±0.42^{ns}	6.21±0.39^{a}
	(ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)		(ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)	
1 (ควบคุม)	2.59±0.77^{ns}	2.75±1.37^{ns}	122.67±28.80^{ns}	136.05±58.99^{ns}
2 (33 เปอร์เซ็นต์)	2.58±0.25^{ns}	2.88±0.74^{ns}	149.23±56.08^{ns}	161.81±62.58^{ns}
3 (67 เปอร์เซ็นต์)	2.81±1.58^{ns}	3.03±0.40^{ns}	93.34±48.86^{ns}	125.24±44.90^{ns}
4 (100 เปอร์เซ็นต์)	2.03±0.66^{ns}	2.94±0.53^{ns}	102.60±19.90^{ns}	122.66 ±71.99^{ns}
5 (อ้างอิง)	3.01±1.57^{ns}	3.60±1.21^{ns}	145.10±74.70^{ns}	204.16±47.59^{ns}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในอาหารสำหรับปลากะพงขาวในระดับสูงอาจจะทำให้การกินอาหารของปลาลดลง เนื่องจากอาหารดังกล่าวมีกลิ่นที่ไม่ชวนกินสำหรับปลากะพงขาวซึ่งจัดเป็นปลาล่าเหยื่อ (Boonyaratpalin *et al*., 1998) จากการศึกษาครั้งนี้ ปลากะพงขาวได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ 33, 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่นและเสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแห้ง (D-TVH) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หลังจากการเลี้ยงปลาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่ 2 - 4 ซึ่งมีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ปลายังคงมีปริมาณการกินอาหารใกล้เคียงกับสูตรควบคุมที่มีปลาป่นที่ระดับสูงสุด เมื่อมีการเสริมอาหารด้วย D-TVH เพื่อทำหน้าที่ดึงดูดการกิน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chotikachinda (2014) ซึ่งรายงานการทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปหนืด พบว่าเมื่อเสริมในอาหารที่มีไก่ป่นเป็นแหล่งโปรตีน ที่ระดับ 1-4 เปอร์เซ็นต์ สามารถดึงดูดการกินอาหารได้ดี ดังนั้น D-TVH ที่ใช้เสริมในอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารที่ดี เนื่องจาก D-TVH ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็ก ซึ่งมีส่วนประกอบของไนโตรเจน และมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1,000 ดัลตัน (D'Abramo *et al*., 1997) โดยระดับของกรดอะมิโนที่พบได้มากในเครื่องในปลาทูน่าประกอบด้วย ไกลซีน อะลานีน ลิวซีน กรดแอสพาร์ติก และ กรดกลูตามิค เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่ามาย่อยให้อยู่ในรูปโปรตีนไฮโดรไลเสต ขนาดของโปรตีนชิ้นใหญ่จะถูกตัดให้มีขนาดเล็กลงประกอบด้วยกรดอะมิโนเหล่านี้ (Lee *et al.,* 2004) จากการศึกษาของ สุภาพร (2549) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาทูน่ามีปริมาณกรดกลูตามิกสูงที่สุด รองลงมาคือ อาร์จีนีน ลูซีน และกรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ โปรตีนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปกรดอะมิโนอิสระด้วยการเพิ่มระดับการย่อยสลายจากกรดหรือเอนไซม์ลงไป การย่อยในกระบวนการไฮโดรไลซีสทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระเพิ่มสูงขึ้นตามระดับการย่อยสลายพันธะ เช่นเดียวกับ Chotikachinda (2014) พบว่าระดับของกรดอะมิโนอิสระจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสลงไปในขั้นตอนการผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตได้ โดยสามารถใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผลิตในระดับการย่อย 60 เปอร์เซ็นต์เพียง 2.5 เปอร์เซ็นต์ก็มีความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวได้ใกล้เคียงกับการใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองในครั้งนี้ D-TVH ผ่านการย่อยสลายที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จึงทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตมีสมบัติที่ดีและสามารถนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาวได้

มีการรายงานถึงการเจริญเติบโตของปลาที่ลดลงเมื่อมีการนำกากถั่วเหลืองมาใช้แทนปลาป่นในปริมาณมาก เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มซัลเฟอร์ต่ำ (เมทไธโอนีน และ ซีสตีน) ทำให้การนำมาใช้ในปริมาณมากจึงมีข้อจำกัด ความไม่สมดุลของกรดอะมิโนจึงเป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลต่อการนำสารอาหารไปใช้ (NRC, 2011) Liu และคณะ (2016) รายงานถึงการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในปริมาณสูงในอาหารสำหรับปลา จีเบล คาร์ฟ (*Carassius auratus gibelio*) ทำให้กรดอะมิโนในอาหารไม่สมดุลส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้มีการนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในปริมาณสูง จึงมีการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารทดลองเพื่อป้องกันการขาดกรดอะมิโนชนิดนี้ ซึ่งระดับของเมทไธโอนีนที่เหมาะสมสำหรับปลากะพงขาวเท่ากับ 2.24 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน (Millamena *et al.,* 1994 อ้างโดย Glencross, 2006) หากปลาได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอต่อความต้องการจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา และอาจก่อให้เกิดโรคตาเป็นต้อในปลาได้ (ชุติมา, 2549) ในการทดลองครั้งนี้ปลามีการเจริญเติบโตที่ไม่ผิดปกติ สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของปลา โดยเฉพาะปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นลดลง 33 เปอร์เซ็นต์และสูตรอ้างอิงที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาสูงที่สุด ซึ่งอาหารทั้งสองสูตรมีปริมาณโปรตีนจากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณวัตถุดิบเนื้อสัตว์ (ปลาป่น และ เนื้อป่น) ที่ระดับ 54-55 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หรือ 73 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในอาหาร ใกล้เคียงกับรายงานของ Williams และคณะ (2003) ที่พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นในอาหารสำหรับปลากะพงขาวได้ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยการกินอาหารและเจริญเติบโตของปลาไม่แตกต่างจากอาหารที่มีปลาป่นในปริมาณสูง ในขณะที่สูตรอาหารที่มีการลดปลาป่นที่ระดับ 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด แสดงให้เห็นว่าสามารถนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในการทดลองได้ที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบกับการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว สอดคล้องกับการทดลองของ Boonyaratpalin และคณะ (1998) ที่รายงานผลการการใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นที่ ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา ทั้งนี้การเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรเสตเพื่อดึงดูดให้ปลากินอาหาร และการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารทำให้สามารถเพิ่มปริมาณการนำวัตถุดิบจากการถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารได้สูงขึ้น เช่นเดียวกับ Alam และคณะ (2012) ที่ศึกษาการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในปลากะพงดำ พบว่าเมื่อมีการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน ลงในอาหาร สามารถช่วยเพิ่มระดับการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารได้สูงขึ้น

การใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับสูงถึง 26.74 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในอาหาร ไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ ดังที่ Williams (1998) รายงานการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในกลุ่มปลากินเนื้อที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ของอาหารให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดี และสามารถใช้ได้สูงสุดถึง 44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อในอาหารมีพลังงานอยู่ในระดับ 56 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งนี้การนำ D-TVH มาใช้อาจเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์มีผลที่ดี แม้ในอาหารไม่มีปลาป่นเป็นส่วนประกอบสอดคล้องกับการศึกษาของ Taheri และคณะ (2010) ที่พบว่าปลาเรนโบว์เทร้าที่มีการเสริมอาหารด้วยไฮโดรไลเสตจากปลาซาร์ดีนที่ระดับ 7.49 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมไฮโดรไลเสต เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบของกรดอะมิโนของปลาป่นและ D-TVH พบว่ามีองค์ประกอบกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน แต่ในการทดลองมีการใช้ D- TVH เสริมลงในอาหารเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร แสดงให้เห็นว่า D-TVH มีคุณภาพของโปรตีนที่ดี สอดคล้องไปกับการศึกษาของ Chotikachinda (2014) ที่รายงานว่า 98 เปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนที่พบในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นกรดอะมิโนที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 200 ดัลตัน และประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง ขณะที่ Srichanun และคณะ (2014) ได้เปรียบเทียบการละลายของโปรตีนพบว่าผลิตภัณฑ์จากโปรตีนไฮโดรไลเสตมีการละลายของโปรตีนในน้ำสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่นและกากถั่วเหลืองที่มีการละลายของโปรตีนที่ต่ำกว่า ดังนั้นการนำ D-TVH มาใช้ในอาหารจึงส่งผลที่ดีต่อปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลากะพงขาว เนื่องจากอาหารสัตว์น้ำเมื่อแช่อยู่ในน้ำจะสูญเสียสารอาหารและลดความสนใจของปลาต่ออาหารลงหลัง 10 นาทีที่อาหารแช่อยู่ในน้ำ (Tolome *et al*., 2003) การเสริม D-TVH ในอาหารจึงช่วยดึงดูดให้ปลาว่ายเข้าหาอาหารได้อย่างรวดเร็ว ลดปริมาณอาหารที่จะสูญเสียไปในระหว่างการกิน ทำให้ปลามีปริมาณอาหารที่กินและการเจริญเติบโตที่ดี

แม้ในกลุ่มปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณปลาป่นลดลง และเสริมด้วย D-TVH จะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม แต่การนำวัตถุดิบโปรตีนจากพืชมาใช้ในปริมาณมากส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อย และกิจกรรมของเอนไซม์ (วีรพงศ์, 2536; Glencross, 2006) เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในอาหารมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นตั้งแต่ระดับ 67 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีกิจกรรมเปปซินที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหารต่ำกว่าสูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ สอดคล้องกับการศึกษา

ในปลาปลาสเตอร์เจียน (*Acipenser schrenckii*) ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินที่ลดลงเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ และ ปลากะพงสายพันธุ์จากญี่ปุ่น (*Lateolabrax japonicas*) ที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ (Li *et al.,* 2014; Xu *et al.,* 2012) เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่เกิดในไส้ติ่ง ซึ่งมีระดับของกิจกรรมลดลงเมื่อปริมาณผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในอาหารเพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการรายงานในปลาหลายชนิด เช่น ปลาแซลมอนแอตแลนติก ปลากะพงแดง และ ปลากะพงยุโรป (Krogdahl *et al.,* 2003; Catacutan and Pagador, 2004; Tibaldi *et al.,* 2006)

เนื่องจากการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารมีผลต่อการลดการหลั่งของเอนไซม์ที่หลั่งจากตับอ่อน ได้แก่ ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไลเปส และ อะไมเลส (Murashita *et al.,* 2015) แสดงให้เห็นว่าปลาป่นสามารถกระตุ้นการทำงานของตับอ่อนได้ดีกว่ากากถั่วเหลือง เนื่องจากมีกรดอะมิโนขนาดเล็กและละลายในน้ำได้ดี ซึ่งกรดอะมิโนขนาดเล็กที่ละลายในน้ำได้ดีเหล่านี้จะช่วยกระตุ้นการแสดงออกของยีนโคเลซีสโตไคนิน (CcK) ที่เป็นตัวกำหนดปริมาณการผลิตเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อน ดังที่มีการศึกษาในหนูของ Daly และคณะ (2013) ซึ่งรายงานว่ากรดอะมิโนขนาดเล็กสามารถกระตุ้นการทำงานของยีน CcK ในหนูได้ ขณะที่ Furutani และคณะ (2012) ได้รายงานถึงการแสดงออกของยีน CcK-1R ที่ส่งผลให้เอนไซม์ทริปซินและไลเปสทำงานได้ดีในปลาหางเหลือง (*Seriola quinqueradiata*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้ปลาป่นในปริมาณสูง และยีนมีการแสดงออกลดลงเมื่ออาหารมีการเพิ่มขึ้นของกากถั่วเหลือง ขณะที่ Román-Gavilanes และคณะ(2015) ได้เปรียบเทียบการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ต่อการย่อยวัตถุดิบ โดยจำลองระบบการย่อยของปลาทูน่า และพบว่าขนาดของเปปไทด์ในวัตถุดิบมีความสำคัญต่อการย่อยปลาป่นเมื่อผ่านการย่อยในหลอดทดลอง โดยมีเปปไทด์ขนาด 6.5 กิโลดัลตันเพิ่มขึ้น 35 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่มีการเพิ่มขึ้นของเปปไทด์ในกากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยเพียง 1.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าปลาป่นมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็กกว่าในกากถั่วเหลือง ซึ่งส่งผลต่อการละลายของกรดอะมิโนอิสระในน้ำ และกรดอะมิโนอิสระขนาดเล็กในน้ำจะเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำย่อย แม้กิจกรรมของเอนไซม์จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระดับของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง แต่เมื่อพิจารณาผลการศึกษาในส่วนของกิจกรรมทริปซิน พบว่าเมื่อมีการนำ D-TVH เสริมในอาหารเพื่อทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร สามารถนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ที่ระดับ 67 เปอร์เซ็นต์ หรือ 22 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีอยู่ในอาหาร โดยที่ปริมาณของกิจกรรมทริปซินที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างจากสูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบ แสดงให้เห็นว่าแม้การทำงานกิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อยโปรตีนจะน้อยลงตามปริมาณการลดลงของปลาป่น แต่การลดลงของกิจกรรมของเปปซินและทริปซินยังมีระดับต่ำที่

ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถนำผลิตภัณฑ์จากกากถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ 100 หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในอาหาร เมื่อมีการใช้ร่วมกับ D-TVH ที่ช่วยเพิ่มการกินอาหารของปลา

กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่พบบริเวณไส้ติ่งของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ทุกสูตรมีระดับสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และกิจกรรมของเอนไซม์ที่พบที่บิเวณไส้ติ่งมีค่าสูงกว่าลำไส้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Harpaz และคณะ (2005) ซึ่งรายงานว่าเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีในไส้ติ่งสูงกว่าในลำไส้ จากการศึกษาของ Tibaldi และคณะ(2006) พบว่าอาหารสำหรับปลากะพงสายพันธุ์ยุโรป (*Dicentrarchus labrax*) สามารถนำกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ 25 เปอร์เซ็นต์โดยไม่กระทบต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส ซึ่งเป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกับปริมาณผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่นำมาทดแทนปลาป่นสูงสุดในการทดลองในครั้งนี้ การที่ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่พบต่ำสุดอยู่ในสูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในสูตรอาหาร ชี้ให้เห็นว่า D-TVH ที่เสริมลงไปอาจมีความจำเพาะกับการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยโปรตีนที่ปลายสายซึ่งในขั้นตอนสุดท้ายของการย่อยโปรตีนเพื่อให้ได้กรดอะมิโนอิสระ และช่วยในการดูดซึมกรดอะมิโนที่ได้ (Klein *et al.,* 1998) ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทำหน้าที่หลักในการแยกหมู่ฟอสเฟสออกจากสารประกอบในเซลล์ และทำหน้าที่ดูดซึมสารอาหาร โดยกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับระดับของกรดอะมิโนที่ปลาได้รับ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในบริเวณไส้ติ่งจึงมีแนวโน้มที่ดีในปลาที่กินอาหารที่มี D-TVH แม้จะมีรายงานถึงความเสียหายของระบบย่อยอาหารซึ่งจะส่งผลกระทบต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองเป็นปริมาณมาก (Hinnebusch *et al.,* 2004) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองที่มีแนวโน้มที่ดีในปลาที่ได้รับ D-TVH เสริมลงในอาหารสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่ปลากิน

3.7 สรุปผลการทดลอง

สามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีระดับสูงที่สุดถึง 26.74 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในอาหาร โดยใช้เป็นแหล่งโปรตีนร่วมกับเนื้อป่น และเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารปลากะพงขาว ทำให้มีปริมาณการกินอาหารที่ดี และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และกิจกรรมของเอนไซม์ในปลา

บทที่ 4
สรุปผลการศึกษา

4.1 รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพของ TVH

TVH ที่ผลิตในรูปแบบ C-TVH และ D-TVH เก็บรักษาในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า TVH ในรูป D-TVH จะช่วยรักษาคุณภาพทั้งทางด้านกายภาพ และทางเคมีที่ใกล้เคียงกับช่วงเวลาตั้งต้นหลังการผลิตได้ดีกว่าการเก็บรักษาสภาพไว้ในรูป C-TVH เนื่องจาก C-TVH มีการเกิดปฏิกิริยาที่เกี่ยวเนื่องกับการเสื่อมสภาพ เช่น การลดลงของโปรตีน การระเหยของไนโตรเจน และการเกิดการออกซิเดชันของไขมันที่รวดเร็วกว่า D-TVH

4.2 รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการเป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร

ความสามารถในการทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินของ TVH เมื่อนำมาผสมลงในอาหารปลากะพงขาว พบว่า TVH สามารถนำมาใช้เสริมในอาหารเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินได้ดีทั้ง 2 รูปแบบ และช่วงเวลา 8 สัปดาห์ของการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องยังมีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นการกินได้ดี

4.3 การนำ TVH เสริมในอาหารที่มีวัตถุดิบโปรตีนทดแทน

สามารถใช้วัตถุดิบเนื้อป่นจากเศษเหลือเนื้อหนังจากอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อวัวทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาวได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ทั้งหมดโดยไม่กระทบต่อการกินอาหาร และการเจริญเติบโตของปลาเมื่อมีการเสริม TVH ในอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองที่มีระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นเพียงพอต่อความต้องการของปลา

เอกสารอ้างอิง

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน. 2538. การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2538. สงขลา: สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. 12 หน้า.

ชุติพงค์ ว่องส่งสาร. 2540. การทดลองเลี้ยงปลาแรดโดยใช้กากถั่วเหลืองแทนปลาป่น. เอกสารวิชาการฉบับที่ 28/2540. ระยอง: กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 14 หน้า.

ชุติมา ตันติกิตติ. 2549. เอกสารคำสอนอาหารสัตว์น้ำขั้นสูง. สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 209 หน้า.

ชุติมา ตันติกิตติ และไพรัตน์ โสภโณดร. 2552. การใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารและทดแทนปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*). สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพ ฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 344 หน้า.

สุปราณี แย้มพราย. 2539. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากโรงงานซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 119 หน้า.

สุภาพร มหันต์กิจ. 2549. การใช้วัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีน ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว *(Lates calcarifer* Bloch). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 104 หน้า.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2539. หลักการอาหารสัตว์ เล่ม 2: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์. กรุงเทพมหานคร: คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 576 หน้า.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และไพศาล วุฒิจำนงค์. 2545. การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. เอกสารประกอบการสัมมนา-อบรมวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สถาบันอาหาร. 3 หน้า.

รุ่งอรุณ ตระการชัยวงศ์. 2545. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตไขมันต่ำ จากของเหลืออุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 112 หน้า.

ฤทัยรัตน์ หวานฉ่ำ. 2547. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตผงแห้งจากเศษเหลือของโรงงานซูริมิ: การผลิตระดับนำร่อง วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 108 หน้า.

วันชัย เกียรติพิมล. 2554. การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและสารสกัดจากปลาจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv.&Val.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 88 หน้า.

วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล. 2544. การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากเครื่องในปลาทูน่าในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและปุ๋ยน้ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 117 หน้า.

วีรพงศ์ วุฒิพันธ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 216 หน้า.

วรพรรณ มณีอินทร์. 2555. การทดแทนปลาป่นด้วยเศษไก่ป่นในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 106 หน้า.

อัจฉริยา เชื้อช่วยชู. 2542. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาโอแถบ โดยวิธีการทางเอนไซม์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 107 หน้า.

อานัส แซะอาหลี. 2551. การใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่มีฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สงขลา: สาขาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 104 หน้า.

อานัส แซะอาหลี และชุติมา ตันติกิตติ. 2551. โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าที่ผลิตแตกต่างกันเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*). วารสารการประมง 61: 73-80.

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

Alam, M.S., Watanabe, W.O., Sullivan, K.B. and Rezek, T.C. 2012. Replacement of menhaden fish meal protein by solvent-extracted soybean meal protein in the diet of juvenile black seabass supplemented with or without squid meal, krill meal, methionine, and lysine. North American Journal of Aquaculture 74: 251-256.

Allen, J.C. and Hamilton, R.J. 1994. Rancidity in Foods. 3rd Edition. London: Blackie Academic and Professional. 290 p.

Arason, S. 1994. Production of fish silage. *In* Fisheries Processing: Biotechnological Applications. (Martin, A. M., Editor), pp. 224-274. London: Chapman and Hall.

Bassompierre, M. 1997. *In vitro* Protein Digestion in Fish. Doctoral Dissertation. Denmark: Department of Civil Engineering, Aalborg University. 126 p.

Benjakul, S. and Morrissey, M.T. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 3423-3430.

Bergmeyer, H.U., Brent, E., Schmidt, E. and Stork, H. 1974. *D*-Glocose determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *In* Methods of Enzymatic Analysis. vol. III. (Bergmeyer, H.U. and Grabi, M., Editors), pp. 134-138. New York: Academic Press.

Berge, G.M. and Storebakken, T. 1996. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. Aquaculture 145: 205-212.

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

Bragadottir, M., Palmadottir, H. and Kristbergsson, K. 2004. Composition and chemical changes during storage of fish meal from capelin (*Mallotus villosus*). Journal of Aquatic Food Product Technology 52: 1572-1580.

Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology 52: 302-304.

Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P. and Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171: 109-119.

Calabotta, D.F. and Shermer, W.D. 1985. Controlling feed oxidation can be rewarding. Feedstuffs 25: 24-32.

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

Catacutan, M.R. and Pagador, G.E. 2004. Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). Aquaculture Research 35: 299–306.

Chotikachinda, R. 2014. Production of protein hydrolysate from skipjact tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera as feeding stimulants in diets for Asian seabass (*Lates calcarifer*). Doctor of Philosophy, Department of Aquatic Sciences, Prince of Songkla University. 165 p.

Chuapoehuk, W., Piadang, S. and Tinnungwattana, W. 1997. Pond feeding of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.) with irradiated activated sludge from the beer industry. Thai Journal of Agricultural Science 30: 389-397.

D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. 1997. Crustacean Nutrition. Louisiana: World Aquaculture Society. 587 p.

Daly, K., Al-Rammahi, M., Moran, A., Marcello, M., Ninomiya, Y. and Shirazi-Beechey S. P. 2013. Sensing of amino acids by the gut-expressed taste receptor T1R1-T1R3 stimulates CCK secretion. American Journal of Physiology 304: 271–282.

Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptides and proteins. *In* Food Chemistry. (Fennema, O.R., Editor), pp. 8-10. New York: Marcel Dekker.

Esterbauer, H., Schaur, R.J. and Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radical Biology and Medicine 11: 81-128.

Erlangel, B.F., Kokowski, N. and Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two chromogenic substances of trypsitan. Archives of Biochemistry and Biophysics 95: 271-278.

Furutani, T., Masumoto, T. and Fukada, H. 2012. Response of cholecystokinin and digestive enzyme mRNA levels to various feed ingredients in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Fisheries Science 78: 1075-1082.

Gerking, S.D. 1994. Feeding Ecology of Fish. New York: Academic Press. 415 p.

Glencross, B.D. 2006. The nutritional management barramundi, *Lates calcarifer*- a review. Aquaculture Nutrition 12: 291-309.

Gray, J.I., Pearson, A.M. and Monahan, F.J. 1994. Flavor and aroma problems and their measurement in meat, poultry and fish products. *In* Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products. Vol. IX. (Pearson, A.M. and Dutson, T. R., Editors:), pp. 184-201. Glasgow: Blackie Academic and Professional.

Guérard, F., Dufosse, L., De La Broise, D and Binet, A. 2001. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 11: 1051-1059.

Gunstone, F.D. 1996. Fatty Acid and Lipid Chemistry. Great Britain: Chapman and Hall. 252 p.

Hamilton, R.J. 1994. The chemistry of rancidity in foods. *In* Rancidity in Foods. 3rd Edition. (Allen, J.C. and Hamilton, R.J., Editor), pp. 1-21. London: Blackie Academic and Professional.

Harpaz, S., Hakim, Y., Slosman, T. and Eroldogan, O.T. 2005. Effects of adding salt to the diet of Asian sea bass *Lates calcarifer* reared in fresh or salt water recirculating tanks, on growth and brush border enzyme activity. Aquaculture 248: 315–324.

Hattori, M., Tsukamoto, K.M., Kumagai, H., Feng, Y. and Takahashi, K. 1998. Antioxidative activity of soluble elastin peptides. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 2167-2170.

Hinnebusch, B.F., Siddique, A., Henderson, J.W., Malo, M.S., Zhang, W., Athaide, C.P., Abedrapo, M.A., Chen, X., Yang, V.W. and Hodin, R.A. 2004. Enterocyte differentiation marker intestinal alkalinephosphatase is a target gene of the gut-enriched Kruppel-like factor. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology 286: 23–30.

Hoyle, N.T. and Merritt, J.H. 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science 59: 76-79.

Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee, C.R., Bui, H.T.D., Jeong, J.B. and Lee, K.J. 2015. Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. Journal of Fish and Shellfish Immunology 45: 858-868.

Klein, S., Cohn, S.M. and Alpers, D.H., 1998. The alimentary tract in nutrition. *In* Modern Nutrition in Health and Disease. 9th Edition. (Shile, M.E., Olson, A.J., Shike, M. and Ross, A.C., Editors:), pp. 1635-1638. Baltimore: Williams and Wilkins.

Kolkovski, S and Tandler, A. 2001. The use of squid protein hydrolysate as a protein source in micro diet for gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. Aquaculture Nutrition 6: 11-15.

Kvåle, A., Mangor-Jensen, A., Moren, M., Espe, M. and Hamre, K. 2007. Development and characterization of some intestinal enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.*)* and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. Aquaculture 264: 457-468.

Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A. 2000. Fish protein hydrolysate: production, biochemical, and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 40: 43-81.

Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. and Baeverfjord, G. 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture Nutrition 9: 361–371.

Kussi, T., Nikkila, O.E. and Sarolainin, K. 1975. Formation of malonaldehyde in frozen Baltic herring and its influence on changes in protein. Zeitschrift for Lebensmittel Untersuchung and Forschung 159: 285-286.

Lall, S.P. 2000. Nutrition and health of fish. *In* Cruz-Sciavez. Advances on Nutricion Acuicola v. Memorias del V. Simposium International de Nutricion de Acuicola. 19-22 November, 2000. Merida, Yucatan, Mexico. (Ricque-Marie, L.E., Tapia- Saiazar, S., Olvera-Novoca, M., and Civera-Cerecedo, M.A., Editors), pp. 13-23. Mexico: Universidad Autónoma de Nuevo León.

Lee, M. S., Kim, K. D. and Kim, T. J. 2004. Utilization of fermented skipjack tuna viscera as a dietary protein source replacing fish meal or soybean meal for juvenile abalone *Haliotis discus hannai*. Journal of Shellfish Research 23: 1059-1063.

Li, Y., Ai Q.H., Mai, K.S., Xu, W. and Cheng, Z.Y. 2014. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). Aquaculture Research 45: 1051–1060.

Liu, H., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J. and Xie, S. 2016. Effect of substitution of dietary fishmeal by soya bean meal on different sizes of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*):

nutrient digestibility, growth performance, body composition and morphometry. Aquaculture Nutrition 22: 142–157.

Lundberg, W.O. 1966. Autoxidation and Antioxidation. 2 Edition. New York: Interscience Publishers. 1968 p.

Luo, S.W. and Hultin, H.O. 1986. In vitro lipid oxidation modifies proteins and functional properties of sarcoplasmic reticulum. Journal of Bioenergetics and Biomembranes 18: 315-323.

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

Mahesh, T., Setty, T.M.R., Shetty, T.S. and Ravishankar, C.N. 1993. Studies on the preparation of functional fish protein concentrate from *Nemipterus japonicus* by enzymatic method. Fishery Technology 30: 57-61.

March, B.E., Biely, J., Goudie, C., F. and Tarr, H.L.A. 1961. The effect of storage temperature and antioxidant treatment on the chemical and nutritive characteristics of herring meal. Journal of the American Oil Chemists' Society 38: 80-84.

Maroux, S., Louvard, D. and Baratti, J. 1997. The aminopeptidase from hog intestinal brush border. Biochimica et Biophysica Acta 321: 282-295.

Millamena, O.M. 2002. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. Aquaculture 204: 75-84.

Mitchell, J.H. and Henick, A.S. 1966. Rancidity in food products. *In* Autoxidation and Antioxidation. 2 edition. (Lundberg, W.O., Editor), pp. 543-592. New York: Interscience Publishers.

Morr, C.V., German, B., Kinsella, J.E., Regenstein, J.M., Van Buren, J.P.A., Kilara, B.A., Lewis and Mangino, M. E.. 1985. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. Journal of Food Science 50: 1715-1718.

Murashita, K., Fukada, H., Takahasci, N., Hosomi, N., Mathunari, H., Furuita, H., Oku, H and Yamamoto, T. 2015. Effect of feed ingredients on digestive enzyme secretion in fish. Bulletin of Fisheries Research Agency 40: 69-74.

National Research Council (NRC). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. 16 p.

Nawar, W.W. 1996. Lipids. *In* Food Chemmistry. 3rd Edition. (Fennema, O.R., Editor), pp. 225-319. New York: Marcel Dekker.

Quaglia, E. and Orban, E. 1987. Enzymic solubilisation of proteins of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture 38: 263-296.

Rafsgaard, H.H.F., Tsai, L. and Stadtman, E.R. 2000. Modifications of protein by polyunsaturated fatty acid peroxidation products. Proceedings of the National Academy of Sciences 97: 611-616.

Ranken, M.D. 1994. Rancidity in meat. *In* Rancidity in Foods. 3rd Edition. (Allen, J. C. and Hamilton, R. J., Editors) pp. 191-201. London: Blackie Academic and Professional.

Rick, W. and Stegbauer, H.P. 1974. Alpha amylase measurement of reducing groups. *In* Methods of Enzymatic Analysis. 2nd Edition, Vol II. (Bergmeyer, H.V., Editor), pp. 929-944. New York: Academic Press.

Román-Gavilanes, A.I., Martínez-Montaño, E. and María T.V. 2015. Comparative characterization of enzymatic digestion from fish and soybean meal from simulated digestive process of Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis.* World Aquaculture Society 46: 409-420.

Samocha, T.M., Davis, D.A., Soud, I.P. and Debauit, K. 2004. Substitution of fish meal by co-extruded saybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 231: 197-203.

Shapawi, R., Ng, W. K. and Mustafa, S. 2007. Replacement of fish meal with poultry by product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileps altivelis*. Aquaculture 278: 118-126.

Srichanun, M., Tantikitti, C., Utarabhand, P. and Kortner, T.M. 2013. Gene expression and activity of digestive enzymes during the larval development of Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology 165: 1-9.

Srichanun, M., Tantikitti, C., Kortner, T.M., Krogdahl, A. and Chotikachinda, S. 2014. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive

capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. Aquaculture 428-429: 195-202.

Takiguchi, A.G.J. 1992. Lipid oxidation and brown discoloration in niboshi during storage at ambient and low temperature. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 58: 489-494.

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

Taheri, A., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A and Habibi R. M. 2010. The relationship between different protein hydrolysate diets by growth, digestive enzymes and resistance to an *Aeromonas salmonicida* bacterial challenge in rainbow trout (*Oncorhinchus mykiss*) alevine. World Journal of Fish and Marine Sciences 4: 264-274.

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

Tolome, A., Crear, B. and Johnston, D. 2003. Diet immersion time: effects on growth, survival and feeding behaviour of juvenile southern rock lobster, *Jasus edwardsii.* Aquaculture 219: 303-316.

Williams, K.C. 1998. Fishmeal Replacement in Aquaculture Feed for Barramundi. Project 93/120, Final Report to Fisheries R&D Corporation. Canberra: Fisheries R&D Corporation. 298 p.

Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., Hockings, I., Agcopra, C. and Ruscoe, I. 2003. Potential of meat meal to replace fish meal in extruded dry diets for barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch) Aquaculture Research 34: 23-32.

Xu, Q.Y., Wang, C.A., Zhao, Z.G. and Luo, L. 2012. Effects of replacement of fish meal by soy protein lsolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 25: 1588-1594

ภาคผนวก

ผลงานวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสาร

เรื่อง ผลของรูปแบบและระยะเวลาการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าต่อคุณภาพและการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินอาหารของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

วารสาร วารสารการประมง

ปีที่ 2559 **เล่มที่** 6

หมายเหตุ: ได้รับการตอบรับให้ลงพิมพ์แล้ว และอยู่ระหว่างการตีพิมพ์