การใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินอาหาร และการแทนที่ปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

Tuna Viscera Hydrolysate as an Attractant and Varying Levels of Haemoglobin Powder as a Fish Meal Replacer on Growth and Feed Utilization Efficiency of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชุติมา ตันติกิตติ
รองศาสตราจารย์ ดร. ไพรัตน์ โสภโณดร

ภาควิชาวาริชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

ปลาป่นซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอาหารกุ้งมีปริมาณที่ลดลงและราคาที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาวัตถุดิบอาหารที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ฮีโมโกลบินป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเลือดสัตว์ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูงที่สามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ แต่มีสมบัติด้านการดึงดูดให้สัตว์น้ำกินที่ด้อยกว่าปลาป่น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ โดยเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าเพื่อกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) มีอาหาร 8 สูตร คือ สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) สูตรที่ 2-4 ผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งโดยการผสมรวมในอาหารที่ระดับ 8, 12 และ 16 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร สูตรที่ 5-7 ผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบเหลวโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4, 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และสูตรที่ 8 ผสมบีเทนในอาหารที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เมื่อนำมาเลี้ยงกุ้งขาวน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 2.04±0.02 กรัม ในตู้ทดลองจำนวน 4 ซ้ำ/สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของกุ้งที่ได้รับอาหารทั้ง 8 สูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.62-8.14 กรัม/ตัว 269.27-297.03 เปอร์เซ็นต์ 3.11-3.28 เปอร์เซ็นต์/วัน และ 93.33-98.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ปริมาณอาหารที่กินที่แสดงถึงความสามารถในการดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร โดยกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 และ 4 มีปริมาณการกินอาหารสูงที่สุดเท่ากับ 10.98 และ 10.54 กรัม/ตัว ตามลำดับ รองลงมาคือสูตรที่ 3, 6, 5, 2, 1 และ 8 โดยมีค่าเท่ากับ 10.33, 10.21, 9.84, 9.79, 9.07 และ 8.93 กรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1, 8 และ 5 มีค่าดีที่สุดใกล้เคียงกัน (P>0.05) เท่ากับ 1.51, 1.57 และ 1.62 ตามลำดับ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 5 มีค่าสูงใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเท่ากับ 1.54 และ 1.41 ตามลำดับ ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลวที่สเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เป็นรูปแบบและระดับที่ดีที่สุดต่อการกระตุ้นการกินอาหาร และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

การทดลองที่ 2 ศึกษาการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ ในอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด มีอาหาร 5 สูตร คือ สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) สูตรที่ 2-5 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทุกสูตรเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าในรูปแบบเหลวที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหาร เมื่อนำมาเลี้ยงกุ้งขาวที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 2.14±0.01 กรัม ในตู้ทดลองจำนวน 4 ซ้ำ/สูตร ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งลดลงตามระดับการแทนที่ที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ส่วนปริมาณอาหารที่กินพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าสูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

โดยมีค่าเท่ากับ 13.77 และ 12.91 กรัม/ตัว ตามลำดับ ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าดีที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 1.70 และ 1.96 ตามลำดับ และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยมีค่าอยู่ในช่วง 78.75-83.75 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นในระดับ 10-40 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง เมื่อนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์โดยสมการถดถอย (Regression Analysis) เพื่อหาระดับการแทนที่ที่เหมาะสม พบว่าสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินได้ 5-8 เปอร์เซ็นต์ ที่ทำให้อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม

ABSTRACT

Fishmeal is a crucial protein source in shrimp diets but the continuous depleting supply and increasing price cause a search for alternative protein sources. Hemoglobin powder is a candidate source due to its high protein content. However, it is not attractive for shrimp. The purposes of the present study was to investigate the replacement of fishmeal with different levels of hemoglobin powder using tuna viscera hydrolysate as an attractant. The study was composed of 2 experiments, Experiment 1 : Study on the suitable form and level of protein hydrolysate from tuna viscera as feed stimulant in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Experiment 2 : Study on the replacement of fish meal with hemoglobin powder in practical diets supplemented with protein hydrolysate from tuna viscera.

Eight diets were employed in the first experiment. Diet 1 is the control diet, diets 2-4 supplemented with dry protein hydrolysate at 8, 12 and 16 g/100 g of diet, respectively; diets 5-7 supplemented with liquid protein hydrolysate by spray-coating at 4, 8 and 12 g/100 g of diet, respectively; diet 8 supplemented with betaine at 1.5 g/100 g of diet. Each dietary treatment consisted four replicate groups of shrimp (twenty shrimps per aquarium with an average weight ± SD of 2.04±0.02 g/shrimps) that were fed respective diets for six weeks. At the end of the trial, final weight, percentage weight gain, specific growth rate and survival rate were not statistically different among treatments ($P>0.05$) which were in the range of 7.62-8.14 g/shrimp, 269.27-297.03 percent, 3.11-3.28 percent/day and 93.33-98.75 percent, respectively. Feed intake, as an indicator of potential feed stimulant, showed that shrimp fed diets 7 and 4 had higher feed intake than those of shrimps fed diets 3, 6, 5, 2, 1 and 8 (10.98, 10.54, 10.33, 10.21, 9.84, 9.79, 9.07 and 8.93 g/shrimps, respectively). Feed conversion ratio of shrimps fed diets 1, 8 and 5 (1.51, 1.57 and 1.62, respectively) were significantly better than those fed other diets ($P<0.05$). Protein efficiency ratio in shrimp fed diets 1 and 5 were high with values of 1.54 and 1.41, respectively and not significantly different. Liquid tuna hydrolysate was therefore selected to be used in Experiment 2 by spray-coating at 4 percent of diet.

In the second experiment, five diets were formulated to contain hemoglobin powder as fish meal replacer at 0, 10, 20, 30 and 40 percent of fish meal protein, respectively. All diets were supplemented with liquid tuna visceral hydrolysate by spray-coating at 4 g/100 g of diet. Each treatment consisted four replicate groups of shrimp (twenty shrimps per aquarium with an initial mean weight of 2.14±0.01 g/shrimps). The shrimp were fed with respective diets for eight weeks. Growth performance, feed intake, and feed efficiency of shrimp fed diets decreased with increasing levels of hemoglobin powder and lower than

those fed the control diet ($P<0.05$). Feed intake of shrimp fed diets 1 and 2 were 13.77 and 12.91 g/shrimps which were significantly higher than those fed other diets ($P<0.05$). Feed conversion ratio of shrimps fed diets 1 and 2 were 1.70 and 1.96, respectively which were significantly better than those fed other diets ($P<0.05$). Survival rates were in the range of 78.75-83.75 percent and were not significantly different among treatments ($P>0.05$).

The results showed that replacement of fish meal with hemoglobin powder at 10-40 percent of fish meal protein had a negative effect on growth and feed efficiency. However, regression analysis using growth data to predict suitable levels of replacement showed that hemoglobin powder can be used to replace 5-8 percent of fish meal protein, the levels at which growth rate, feed intake and feed efficiency are not significantly different from that of shrimp fed the control diet.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัททรอปิคอลแคนนิ่งจำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องในปลาทูน่า ที่ใช้ในการวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล กรมประมง ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ในการวิจัยและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ และขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงในการเตรียมตัวอย่าง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
กิตติกรรมประกาศ	v
สารบัญ	vi
รายการตาราง	viii
รายการภาพ	x
1. บทนำ	1
2. การตรวจเอกสาร	
2.1 พฤติกรรมการกินอาหารของกุ้ง และการตอบสนองต่อสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร	2
2.2 สารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร	3
2.3 แหล่งโปรตีนในอาหารกุ้ง	4
2.3.1 แหล่งโปรตีนจากสัตว์	4
2.3.2 แหล่งโปรตีนจากพืช	7
2.4 ฮีโมโกลบินป่นและการใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น	8
2.5 แหล่งที่มาและองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในรวมปลาทูน่า	9
2.6 การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารสัตว์น้ำ	11
2.6.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต	11
2.6.2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสต	11
2.6.3 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารสัตว์น้ำ	13
3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	14
4. วิธีการศึกษา	
4.1 การทดลองที่ 1 ความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)	15
4.2 การทดลองที่ 2 การแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่าง ๆ ในอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า	21
5. ผลและวิจารณ์การศึกษา	25
5.1 การทดลองที่ 1 ความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)	
5.1.1 องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า	25
5.1.2 องค์ประกอบกรดอะมิโนของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสต	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.1.3 การเจริญเติบโต	29
5.1.4 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตราการรอดตาย	29
5.1.5 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง	35
5.1.6 คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง	36
5.2 การทดลองที่ 2 การแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ ในอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า	
5.2.1 การเจริญเติบโต	37
5.2.2 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตาย	42
5.2.3 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง	44
5.2.4 คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง	45
6. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	45
7. เอกสารอ้างอิง	47
8. ภาคผนวก	53

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	12
2	องค์ประกอบของอาหารทดลองในการศึกษาความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (กรัม/100 กรัม)	19
3	องค์ประกอบของอาหารทดลองที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ (กรัม/100 กรัม)	24
4	องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า	27
5	องค์ประกอบกรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม as-fed basis) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า	28
6	น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์	31
7	ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์	32
8	ระดับกรดอะมิโนที่จำเป็นที่มีในปลาป่น (สูตร 1 และ 8) และในปลาป่นร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า (สูตร 2-7) (กรัม/100 กรัม ของอาหาร)	35
9	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	36
10	น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	38
11	ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	43

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	45

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของกรดอะมิโน ลูซีน ไอโซลิวซีน ไลซีน และอาร์จีนีน	8
2	กระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋องและวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้น	10
3	ความสัมพันธ์ของระดับโปรตีนไฮโดรไลเสตที่เสริมในอาหารต่อปริมาณอาหารที่กินของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์	33
4	ความสัมพันธ์ของระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นกับเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	39
5	ความสัมพันธ์ของระดับการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นกับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	44

1. บทนำ

ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งมีต้นทุนหลักคือ อาหาร โดยกุ้งมีความต้องการโปรตีนในปริมาณสูง ดังนั้นในอาหารกุ้งจึงต้องมีการผสมปลาป่นในปริมาณสูงเพราะปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี มีกรดอะมิโนที่จำเป็นเพียงพอกับความต้องการและมีผลเพิ่มความอยากกินอาหารของกุ้ง (Samocha *et al*., 2004) ซึ่งจากการขยายตัวของการเลี้ยงกุ้งทำให้ความต้องการอาหารกุ้งเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณปลาป่นกลับเท่าเดิมหรือน้อยลง จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาวัตถุดิบอาหารที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น โดยได้มีการศึกษาการใช้แหล่งโปรตีนจากเศษเหลือของสัตว์ ทั้งสัตว์บกและสัตว์น้ำ เช่น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมสัตว์ปีกป่น (Davis and Arnold, 2000) เนื้อและกระดูกป่น (Tan *et al*., 2005) เศษเหลือจากการแปรรูปปลาทูน่า (Hernandez *et al*., 2004) เครื่องในหมึก เศษเหลือจากหอยต่างๆ และเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้ง (Sudaryono *et al*., 1995) และเลือดป่น (Dominy and Ako, 1988) โดยแหล่งโปรตีนดังกล่าวมีปริมาณโปรตีนรวมสูงถึง 45–85 เปอร์เซ็นต์

ฮีโมโกลบินป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเลือดสัตว์ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนสูงและย่อยง่าย มีกรดอะมิโนไลซีนและลูซีนสูง แต่มีเมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีนต่ำ (Asgard and Austreng, 1986) จากการศึกษาการใช้ฮีโมโกลบินป่นในอาหารปลา Japanese eel พบว่าสามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ในระดับสูงถึง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่เสริมและเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็น (Lee and Bai, 1997) ส่วนผลการศึกษาของ Booth และคณะ (2005) พบว่าประสิทธิภาพการย่อยเสมือนของปลาป่น ฮีโมโกลบินป่น และเลือดป่นในอาหารปลา Australian snapper เท่ากับ 94.3, 95.1 และ 81.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่การใช้ฮีโมโกลบินป่นเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารมีผลต่อการลดความอยากกินอาหาร (Lee and Bai, 1997) จึงจำเป็นต้องเสริมสารดึงดูดการกินอาหารเพื่อช่วยเพิ่มความอยากกินอาหาร ซึ่งอาจทำให้สามารถใช้ฮีโมโกลบินได้สูงขึ้น สำหรับสารดึงดูดการกินอาหารนั้นมีด้วยกันหลายชนิด เช่น บีเทน (betaine) และวัตถุดิบอาหารจากธรรมชาติ เช่น หมึกป่นและเนื้อหอยชนิดต่างๆ

ปัจจุบันความต้องการอาหารทะเลมีมากขึ้น รวมถึงความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแปรรูป เช่น ปลาทูน่าบรรจุกระป๋องหรือผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ส่งออกที่สำคัญและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยในกระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋องจะมีวัสดุเศษเหลือเกิดขึ้นซึ่งมีปริมาณถึง 64 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา (Kim *et al.,* 1997) วัสดุเศษเหลือเหล่านี้มีทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว ที่ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง โดยวัสดุที่เป็นของแข็งได้แก่ เครื่องใน เศษเนื้อดำ หนัง หัว และก้างปลา สำหรับวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลว ได้แก่ เลือดปลา และน้ำนึ่งปลา (Shahidi *et al.,* 1995) ดังนั้นจึงมีการนำวัสดุเศษเหลือดังกล่าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่า โดยนำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต (protein hydrolysate) และสารสกัดจากปลา (fish extract) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส (Kim *et al.,*1997) ซึ่งในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และสามารถใช้เป็นอาหารและเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำได้ (วันชัย เกียรติพิมล, 2545; Kolkovski *et al*., 2000; Floreto *et al*., 2001) จากการศึกษาการใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตในอาหารปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon) ที่ระดับ 3.3 และ 5.3 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นอย่าง

เดียว (Berge and Storebakken, 1996) ส่วนการศึกษาของวันชัย เกียรติพิมล (2545) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและสารสกัดจากปลาที่ได้จากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากดเหลือง *(Mystus nemurus)* โดยเคลือบเม็ดอาหาร พบว่าการเจริญเติบโตของปลาเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เคลือบโปรตีนไฮโดรไลเสต นอกจากนั้นพบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร มีผลกระตุ้นพฤติกรรมการการกินอาหารและมีปริมาณอาหารที่กินดีกว่าอาหารที่ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสต (อานัส แซะอาหลี และ ชุติมา ตันติกิตติ, 2551)

ดังนั้นการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เพื่อกระตุ้นและดึงดูดการกินอาหารในกรณีที่มีการใช้ฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่นจึงอาจมีผลทำให้สามารถทดแทนได้ในปริมาณสูง และลดปัญหาเรื่องกลิ่นที่ไม่ชวนกินของอาหารได้ ซึ่งในการผลิตอาหารกุ้งนั้น สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง คือ ต้องมั่นใจว่าอาหารที่ให้นั้นกุ้งยอมรับ และกินอาหารได้อย่างรวดเร็ว และอาหารต้องมีองค์ประกอบของสารอาหารที่จำเป็นเพียงพอกับความต้องการ

2. การตรวจเอกสาร

2.1 พฤติกรรมการกินอาหารของกุ้ง และการตอบสนองต่อสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร

กุ้งมีพฤติกรรมการกินอาหารแบบกัดแทะ ชอบกินอาหารที่พื้นผิวดินในเวลากลางวัน ยึดครองพื้นที่ขณะกินอาหาร สัมผัสอาหารและรู้ตำแหน่งของอาหารโดยการรับรู้ด้วยการสัมผัสทางเคมีโดยใช้เซลล์รับความรู้สึกทางกลิ่นที่อยู่บริเวณหนวดคู่ที่ 1 รยางค์ปากและขาเดิน เมื่อพบอาหารจะใช้ขาเดิน 3 คู่แรกที่มีส่วนของก้ามหนีบที่เรียกว่า chelate appendices คู่ใดคู่หนึ่งหรือร่วมกันจับอาหารแล้วถือแทะ อาหารจะถูกเคี้ยวให้ละเอียดต่อในปากซึ่งมีการคัดแยกอาหาร โดยอาหารที่มีขนาดใหญ่จะถูกบดด้วยแมนดิเบิล (mandibles) จากนั้นชิ้นส่วนของอาหารจะถูกส่งต่อไปยังทางเดินอาหารส่วนหน้าซึ่งเริ่มสู่กระบวนการย่อยต่อไป (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543; ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2546) โดยกุ้งกลุ่ม Penaeid มีการย่อยที่รวดเร็วและใช้เวลาในการย่อยอาหารประมาณ 4-6 ชั่วโมง ทั้งนี้ระยะเวลาที่อาหารเดินทางและผ่านกระบวนการย่อยจนถ่ายออกเป็นมูลขึ้นอยู่กับ ชนิดของอาหาร ปริมาณอาหารที่กิน และขนาดของกุ้ง (ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2546)

พฤติกรรมการตอบสนองต่ออาหารของกุ้งนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการยอมรับอาหารและการกินอาหาร ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 5 ขั้นตอน ที่มีความสัมพันธ์ต่อเนื่องกัน (Costero and Meyers, 1993; D'Abramo *et al*.,1997; Mendoza *et al*.,1997) ดังนี้

1) การรับรู้ว่ามีอาหารอยู่ในน้ำ (recognition or perception) เนื่องจากสัญญาณเคมีที่มีในอาหารไปกระตุ้นระบบประสาทที่รับสัญญาณเคมีที่อยู่บริเวณต่างๆ ของกุ้ง ทำให้เกิดการตอบสนองต่อสัญญาณเคมี และเตรียมพร้อมในการเข้าหาอาหาร ซึ่งมีผลต่อพฤติกรรม ดังนี้

1.1) เกิดการสั่นของหนวดคู่ที่ 1 (antennule flick) อย่างรวดเร็ว เพื่อเร่งให้มีการสัมผัสกับโมเลกุลของกลิ่น

1.2) มีการเช็ดส่วนของหนวด (antennule wipe) โดยแมกซิลลิเป็ดเพื่อทำความสะอาดอวัยวะรับสัมผัสและกำจัดปรสิตต่างๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรับสัมผัส

1.3) มีการตีหรือเคาะของแมกซิลลิเป็ด

1.4) มีการตีหรือเคาะอย่างรวดเร็วของ dactylus ที่อยู่บริเวณปลายขาเดินและแมกซิลลิเป็ด

1.5) การยกขึ้นของส่วนหัวเพื่อเตรียมความพร้อมในการเข้าสู่อาหาร

2) การตรวจสอบเพื่อกำหนดตำแหน่งของอาหาร (orientation) ซึ่งมีพฤติกรรม ดังนี้

2.1) มีการเคลื่อนไหวของ dactylus ที่อยู่บริเวณขาเดินโดยมีการคราดและขุดคุ้ยเพื่อใช้ในการตรวจสอบต่อสัญญาณเคมีที่หลั่งออกมา

2.2) เกิดความสนใจและเปลี่ยนทิศทางเพื่อเข้าหาแหล่งของสัญญาณ

3) การเคลื่อนย้ายทิศทางเพื่อเข้าหาอาหาร (displacement or movement) กุ้งเริ่มเคลื่อนไหวเพื่อเข้าหาแหล่งของสัญญาณเคมี ซึ่งมีผลต่อพฤติกรรม ดังนี้

3.1) ขาเดินและขาว่ายน้ำทำงานเพื่อนำไปสู่แหล่งของสัญญาณเคมีซึ่งจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับความแรงและความจำเพาะเจาะจงกับกุ้งแต่ละชนิด

3.2) การค้นหาแหล่งอาหารโดยมีพฤติกรรมที่รุนแรงขึ้นเมื่อเข้าใกล้แหล่งของสัญญาณเคมี

4) การเข้าถึงแหล่งอาหาร (arrival at feed) เมื่อเข้าถึงแหล่งของสัญญาณเคมีจะหยุดการเคลื่อนที่ และส่วนของก้ามหนีบที่อยู่บริเวณปลายขาเดินที่มีหน้าที่ในการจับอาหารและส่วนของรยางค์ปากจะเริ่มทำงาน ซึ่งมีผลต่อพฤติกรรมการตอบสนอง ดังนี้

4.1) การใช้ก้ามหนีบจับแหล่งของสัญญาณเคมีอย่างรวดเร็ว

4.2) การทดสอบแหล่งของสัญญาณเคมีโดยนำไปสัมผัสกับรยางค์ปาก

5) กระบวนการกินอาหาร (feeding activity) กุ้งเริ่มกินหรือปฏิเสธอาหารดังกล่าวหลังจากมีการทดสอบกับรยางค์ปากในขั้นที่ 4 ซึ่งมีผลต่อพฤติกรรมการตอบสนอง ดังนี้

5.1) เกิดการกินอาหารเมื่ออาหารนั้นมีความเหมาะสม

5.2) ปฏิเสธต่ออาหารเมื่ออาหารนั้นไม่มีความเหมาะสม

ขั้นตอนที่สำคัญที่สุดของพฤติกรรมการดึงดูดการกินอาหารของกุ้งคือขั้นตอนที่ 1 เพราะบ่อยครั้งที่กุ้งไม่สนใจหรือไม่รับรู้ว่ามีอาหารอยู่ในน้ำ เนื่องจากอาหารเหล่านั้นไม่สามารถปลดปล่อยสัญญาณเคมีที่ดีพอที่จะไปกระตุ้นระบบประสาทของกุ้งได้

2.2 สารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร

สารเคมีที่มีคุณสมบัติในการดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร คือ สารประกอบโมเลกุลต่ำที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1,000 ดาลตัน ส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของไนโตรเจน เช่น กรดอะมิโน เปปไทด์ นิวคลีโอไทด์ สารประกอบคาร์โบไฮเดรต และสารสกัดจากธรรมชาติ มีความสามารถละลายและแพร่กระจายในน้ำได้ เสียสภาพในธรรมชาติได้ยาก และจำเพาะกับอวัยวะรับสัมผัสในสัตว์แต่ละชนิด (Costero and Meyers, 1993; D'Abramo *et al*., 1997) โดยสัตว์แต่ละชนิดตอบสนองต่อสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารแต่ละชนิดต่างกัน

ชนิดของสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารที่มีการศึกษาในกุ้ง มีด้วยกันหลายกลุ่ม ในกลุ่มของกรดอะมิโน Coman และคณะ (1996) พบว่ากรดอะมิโน 7 ชนิด คือ อะลานีน อาร์จีนีน

กลูตามีน ไกลซีน ไอโซลิวซีน เซอรีน และทอรีน มีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ และพบว่าการใช้ ทอรีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น ประกอบด้วยหมู่ซัลเฟอร์สามารถสังเคราะห์ได้จากเมทไธโอนีน และ ซิสเตอีน ร่วมกับวิตามินบี 6 สามารถใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งกุลาดำและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม (Hartati and Briggs, 1993; Coman *et al*., 1996) สำหรับกรดอะมิโน ชนิด วาลีน โพรลีน ไลซีน ลูซีน และไกลซีน สามารถดึงดูดการกินอาหารของกุ้งแชบ๊วยและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ ส่วนเมทไธโอนีน ลูซีน ฮิสตีดีน อาร์จีนีน กลูตาเมต และไกลซีน สามารถกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งคูรูม่า และกุ้งก้ามกรามได้ดี (D'Abramo *et al*., 1997) และยังพบว่าการใช้ไกลซีนร่วมกับบีเทน มีผลทำให้มีการดึงดูดการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม และกุ้งกุลาดำ (Hartati and Briggs, 1993; Felix and Sudharsan, 2004) นอกจากนั้นพบว่าการใช้กรดอะมิโนรวมสามารถกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ (Hartati and Briggs, 1993; Coman *et al*., 1996)

สารประกอบในวัตถุดิบจากทะเลสามารถใช้เป็นสารกระตุ้นและดึงดูดการกินอาหารได้ เช่น หมึกที่อยู่ในรูปหมึกป่นและน้ำมันตับหมึก เป็นตัวกระตุ้นและดึงดูดการกินอาหารของกุ้งขาว และกุ้งคูรูม่า หอยชนิดต่างๆ เช่น หอยกาบ (clam) หอยแมลงภู่ (mussels) หอยนางรม (oyster) สามารถกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งคูรูม่า กุ้งกุลาดำ และกุ้งพาเลมอนได้ (Costero and Meyers, 1993; D'Abramo *et al*., 1997) จากรายงานของ Holland และ Borski (1993) พบว่าปลาป่น กุ้งป่น และเศษเหลือที่ได้จากกุ้งสามารถใช้เป็นตัวกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม และกุ้งขาวได้

สารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compounds) บางชนิด เช่น บีเทน adenosine 5' monophosphate และ trimethylamine hydrochloride พบว่าเป็นสารดึงดูดการกินอาหารในกุ้งกุลาดำได้ดี (Costero and Meyers, 1993; Coman et al.,1996) สอดคล้องกับการรายงานของ Harpaz (1997); Saoud และ Davis (2005) ซึ่งพบว่าบีเทนมีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารในกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม โดยสารดึงดูดการกินอาหารทางการค้าจะมีส่วนผสมของบีเทนเป็นหลัก ซึ่งผสมกับกรดอะมิโนรวม มีผลทำให้เกิดการดึงดูดการกินอาหารในกุ้งขาว และกุ้งกุลาดำ (Costero and Meyers, 1993; Hartati and Briggs, 1993) นอกจากนั้น Hartati และ Briggs (1993) รายงานว่าสามารถใช้ AMP และ trimethylamine hydrochloride เพื่อดึงดูดการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ

2.3 แหล่งโปรตีนในอาหารกุ้ง

แหล่งโปรตีนในอาหารมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อคุณภาพของอาหาร เนื่องจากโปรตีนมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การเลือกใช้แหล่งโปรตีนจึงมีความสำคัญ นอกจากนั้นการเลือกใช้แหล่งโปรตีนที่เหมาะสมสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารได้อีกด้วย

2.3.1 แหล่งโปรตีนจากสัตว์

โปรตีนจากสัตว์นิยมนำมาใช้ในการผลิตอาหารกุ้งมากกว่าโปรตีนจากพืช เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารอาหารเพียงพอกับความต้องการของกุ้ง เช่น ปลาป่น เศษเหลือที่ได้จากสัตว์ปีกป่น เนื้อและกระดูกป่น ขนไก่ป่น และเลือดป่น ซึ่งเมื่อนำมาผ่านกระบวนการผลิตจะได้แหล่งโปรตีนที่มีปริมาณและคุณภาพของโปรตีนสูง แหล่งโปรตีนจากสัตว์ที่นิยมนำมาใช้ในอาหารกุ้ง มีดังนี้

ปลาป่น (fish meal) : เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำปลาเป็ดซึ่งเป็นปลาขนาดเล็กและปลาขนาดใหญ่ที่ไม่นำไปบริโภค นำมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อนผ่านเข้าหม้อนึ่งจนปลาสุก จากนั้นระเหยเอาน้ำออกในหม้ออบแห้ง (drier) ผ่านตะแกรงร่อน และบดให้ละเอียด (แพรวพรรณ ห้องทองแดง และ ดรุณี กอเซาะ, 2542) ปลาป่นเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณของกรดอะมิโนชนิดไลซีน เมทไธโอนีน และทริปโตเฟนสูง เป็นแหล่งที่ดีของวิตามินบีรวม โดยเฉพาะวิตามินบี 12 วิตามินบี 2 และโคลีน นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นปัจจัยต่อการเจริญเติบโต (growth factor) เป็นแหล่งของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (แพรวพรรณ ห้องทองแดง และ ดรุณี กอเซาะ, 2542) และช่วยเพิ่มความอยากกินอาหาร (Samocha *et al*., 2004) ดังนั้นการผลิตอาหารกุ้งโดยส่วนใหญ่จึงใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน แต่ปัจจุบันปริมาณปลาป่นกลับเท่าเดิมหรือน้อยลง โดยเฉพาะปลาเป็ดที่เป็นวัตถุดิบหลักในการนำมาใช้ทำปลาป่น ส่งผลให้ปลาป่นมีราคาแพง จึงทำให้นักวิจัยอาหารสัตว์น้ำได้หันมาให้ความสนใจต่อแหล่งโปรตีนอื่นๆ เพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่น โดยให้อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน ซึ่งแหล่งโปรตีนที่สามารถนำมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นมีอยู่หลายชนิด ดังนี้

เศษเหลือจากสัตว์ปีกป่น (poultry by-product meal) : เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเศษเหลือจากเป็ด ห่าน ไก่ เป็นต้น ประกอบด้วยเท้า คอ และลำไส้ ยกเว้นขน นำมาล้างแล้วบด และทำให้แห้ง เศษเหลือจากสัตว์ปีกป่นเป็นแหล่งโปรตีนและเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีคุณภาพสูง จากการศึกษาของ Davis และ Arnold (2000) โดยแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งขาวขนาด 0.37±0.015 กรัม ด้วยเศษเหลือจากสัตว์ปีกร่วมกับกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการบีบอัด (co-extruded soybean poultry by-product meal หรือ CEPM) ที่ระดับ 20, 40, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ และเศษเหลือจากสัตว์ปีกที่ผ่านกระบวนการทำแห้งโดยให้ความร้อนผ่านอย่างรวดเร็ว (flash dried poultry by-product meal หรือ FD-PBM) ที่ระดับ 40, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงว่าสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วย CEPM และ FD-PBM ได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการศึกษาของ Samocha และคณะ (2004) ใช้ CEPM แทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 0, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสำหรับกุ้งขาวขนาด 1.13±0.06 กรัม พบว่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วย CEPM ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

เนื้อและกระดูกป่น (meat and bone meal) : เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำส่วนเนื้อและกระดูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีกมาผ่านกระบวนการแบบ Dry rendering (แพรวพรรณ ห้องทองแดง และ ดรุณี กอเซาะ, 2542) ซึ่งจากการศึกษาของ Tan และคณะ (2005) โดยการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยเนื้อและกระดูกป่น 7 ระดับ คือ 0, 20, 30, 40 50, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกุ้งขาวขนาด 0.88±0.01 กรัม โดยเนื้อและกระดูกป่นได้จากวัว 80 เปอร์เซ็นต์ หมู 10 เปอร์เซ็นต์ และสัตว์ปีก 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารสูตรที่ 1-6 มีอัตราการเจริญเติบโตไม่

แตกต่างทางสถิติ ส่วนสูตรที่ 7 (80 เปอร์เซ็นต์) มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนน้อยที่สุด ดังนั้นสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยเนื้อและกระดูกป่นได้ 60 เปอร์เซ็นต์

เศษเหลือจากอุตสาหกรรมประมง : เป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นผลพลอยได้จากการแปรรูปผลิตภัณฑ์ประมง ที่มีทั้งเศษเหลือที่ได้จากปลา กุ้ง และหอยชนิดต่างๆ โดยสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนแทนที่ปลาป่นในอาหารกุ้งได้ ซึ่งจากการศึกษาของ Sudaryono และคณะ (1995) ศึกษาแหล่งโปรตีนทางเลือกที่ได้จากปลาซาร์ดีนทั้งตัวป่น เศษเหลือจากหอยเชลล์ป่น เศษเหลือกุ้งมังกรป่น และหัวกุ้งป่นแทนที่โปรตีนในปลาป่น โดยมีอาหาร 5 สูตร สูตรที่ 1-4 เป็นสูตรทดลอง ซึ่งสูตร 1 ใช้เศษเหลือจากหอยเชลล์ และหัวกุ้งป่น สูตร 2 ใช้ปลาซาร์ดีนป่น และหัวกุ้งป่น สูตร 3 ใช้ปลาซาร์ดีนป่น และเศษเหลือกุ้งมังกรป่น สูตร 4 ใช้ปลาซาร์ดีนป่น และหัวกุ้งป่น แต่ใช้เมล็ดลูปิ่นป่นแทนที่ถั่วเหลือง แป้งสาลี และรำ และสูตรที่ 5 เป็นสูตรอ้างอิงใช้ปลาแอนโชวี่ป่นและกุ้งป่นเป็นแหล่งโปรตีน ทดลองในกุ้งกุลาดำขนาด 4.86±0.52 กรัม พบว่าอาหารสูตรที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเสมือนดีที่สุด สูตรที่ 2 และ 3 ให้ผลรองลงมา สูตรที่ 4 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงที่สุด และสูตรที่ 5 มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ดังนั้นสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยเศษเหลือจากอุตสาหกรรมประมงทั้ง 4 ชนิดได้ 100 เปอร์เซ็นต์

ขนไก่ป่น (hydrolyzed feather meal) : เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำขนไก่สดหรือขนไก่แห้งมาผ่านกระบวนการย่อยสลาย ภายใต้ความดันไอน้ำ อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสม ซึ่งจากการศึกษาของ Mendoza และคณะ (2001) ใช้ขนไก่ไฮโดรไลส์ร่วมกับถั่วเหลืองป่นโดยวิธีการบีบอัด โดยเป็นขนไก่ที่ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์ และด้วยไอน้ำ แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ใช้สัดส่วนของขนไก่ต่อถั่วเหลืองเป็น 1:1 และการทดลองที่ 2 ใช้สัดส่วนของขนไก่ต่อถั่วเหลืองเป็น 2:1 ที่เป็นขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์อย่างเดียว จากการทดลองที่ 1 พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผสมขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้ปลาป่นอย่างเดียว แต่ชุดการทดลองที่ใช้ขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยไอน้ำมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำกว่า ส่วนการทดลองที่ 2 พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผสมขนไก่ไฮโดรไลส์ร่วมกับถั่วเหลืองป่นที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ดังนั้นสามารถใช้ขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์ร่วมกับถั่วเหลืองป่นในอาหารกุ้งได้ดีกว่าขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยไอน้ำ และขนไก่ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์ร่วมกับถั่วเหลืองป่นที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปลาป่นในอาหารได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์

เลือดป่น (blood meal) : เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเลือดสัตว์ที่สดและสะอาดทั้งนี้ต้องไม่รวมสิ่งอื่นๆ เช่น ขน กระเพาะ มาผ่านกระบวนการทำแห้ง ซึ่งมีหลายวิธี เช่น ring-dried blood meal, sun-dried blood meal และ spray dried blood meal เป็นต้น (Dominy and Ako, 1988) เลือดป่นเป็นแหล่งที่มีโปรตีนสูง ประกอบด้วยส่วนของฮีโมโกลบิน อัลบูมิน และโกลบูลิน เท่ากับ 59, 16 และ 13 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน ตามลำดับ (Marichal *et al.,* 2000) และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนชนิด ลูซีน ไลซีน วาลีน และฮิสตีดีนสูง แต่มีปริมาณของ ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีนต่ำ ด้วยเหตุนี้การใช้ผสมในอาหารสัตว์ในปริมาณสูงจึงมีผลต่อการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นบางตัวซึ่งอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตได้ ซึ่งจากผลการศึกษาของ Brand และ Colvin (1977) อ้างโดย Dominy

และ Ako (1988) โดยศึกษาในกุ้ง *Penaeus californiensis* ที่ใช้เลือดป่นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปริมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งลดลง นอกจากนั้นกระบวนการผลิตเลือดป่นมีผลต่อคุณภาพและการนำไปใช้ในอาหาร โดยกระบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงและระยะเวลานานกว่าในการทำแห้งทำให้โปรตีนมีการเสียสภาพสูง ซึ่งมีผลต่อการย่อยและการใช้ประโยชน์ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Dominy และ Ako (1988) ที่ทดลองใช้เลือดป่นที่ผ่านกระบวนการผลิต 4 ชนิด คือ 1) ring-dried blood meal (RD) 2) acidulated, sun-dried blood meal (AS) 3) acidulated, sun-dried blood meal ร่วมกับผลึกเมทไธโอนีน (ASAM) และ 4) acidulated, sun-dried blood meal ร่วมกับเมทไธโอนีนที่เชื่อมต่อกันแบบโควาเลนซ์ (ASCM) เพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากสัตว์ทะเลผสมในอาหารกุ้งขาวขนาด 3-4 กรัม ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ระยะเวลาทดลอง 42 วัน พบว่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างกัน แต่ชนิด AS และ ASAM ให้ผลผลิตที่ต่ำกว่า 2 แบบที่เหลือและชุดควบคุม และชนิด ASCM และ RD ไม่มีความแตกต่างกับสูตรควบคุม ดังนั้นวิธีการผลิตเลือดป่นมีผลต่อปริมาณการใช้ในอาหารกุ้ง โดยวิธีการ RD ให้ผลดีกว่าวิธี AS และรูปแบบการเสริมกรดอะมิโนชนิดเมทไธโอนีน มีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์โดยวิธีเชื่อมกับสารอื่นแบบพันธะโควาเลนซ์มีผลในการทดแทนดีกว่าการเสริมแบบผลึก และจากผลการศึกษาที่ผ่านมาแนะนำให้ใช้เลือดป่นในอาหารกุ้งได้ 10 เปอร์เซ็นต์ (D'Abramo *et al.,* 1997)

2.3.2 แหล่งโปรตีนจากพืช

โปรตีนที่ได้จากพืชหากใช้ในระดับที่เหมาะสมช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหาร แต่มีข้อจำกัดในส่วนของการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น ไลซีน และเมทไธโอนีน มีสารยับยั้งสารอาหาร การลดความอยากกินของอาหาร และพืชบางชนิดยังมีสารพิษที่เป็นอันตรายต่อกุ้งได้ แหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมนำมาใช้ในอาหารกุ้ง มีดังนี้

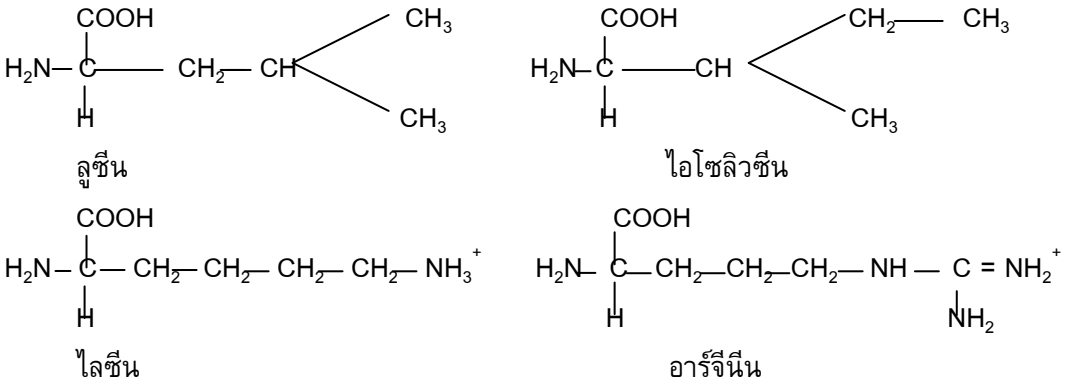
กากถั่วเหลือง (soybean meal) : คือ ส่วนเหลือจากการนำถั่วเหลืองมาสกัดน้ำมันซึ่งมี 2 ชนิด คือ กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และกากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่มีโปรตีนสูงสามารถนำมาเป็นส่วนผสมในอาหารกุ้งได้ เช่น Lim และ Dominy (1990) ใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันป่นแทนที่แหล่งโปรตีนจากสัตว์ทะเล 6 ระดับ คือ 0, 20, 40, 60, 80, และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวในอาหารสูตรที่ 1-3 ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นสามารถใช้กากถั่วเหลืองป่นแทนที่แหล่งโปรตีนจากสัตว์ทะเลในอาหารกุ้งขาวได้ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Akiyama และ คณะ (1990) พบว่ากุ้งกุลาดำขนาด 4 มิลลิกรัมสามารถใช้กากถั่วเหลืองป่นในอาหารได้ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Paripatananont และคณะ (2001) พบว่าสามารถใช้โปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งกุลาดำขนาด 1.5 กรัมได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการศึกษาของ Koshio และคณะ (1992) ใช้โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองในอาหารกุ้งก้ามกรามได้ 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการศึกษาในกุ้งคูรูม่าโดย Alam และคณะ (2005) ใช้โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง 45 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกรดอะมิโนชนิด เมทไธโอนีน และไลซีน เท่ากับ 1.21 และ 1.45 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ ในกุ้งขนาด 0.42 กรัม พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมที่ใช้หมึกป่นเป็นแหล่งโปรตีน ดังนั้นสามารถใช้ถั่วเหลืองป่นแทนที่แหล่ง

โปรตีนจากสัตว์ทะเลในอาหารกุ้งชนิดต่างๆ ได้ แต่ปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับขนาดของกุ้ง ระดับโปรตีนในอาหาร และคุณภาพของถั่วเหลือง

กากเมล็ดฝ้าย (cottonseed meal) : คือส่วนเหลือจากการนำเมล็ดฝ้ายทั้งเมล็ดมาผ่านกระบวนการแยกน้ำมันออก กากเมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งที่มีโปรตีนสูง เป็นแหล่งของกรดอะมิโนชนิดไทอามีน แต่มีซีสตีน เมทไธโอนีน และไลซีนต่ำ และมีสารพิษที่ชื่อกอสซิปอล การนำกากเมล็ดฝ้ายเป็นส่วนผสมในอาหารกุ้งขาวที่ได้จากผลการศึกษาของ Lim (1996) โดยแทนที่แหล่งโปรตีนจากสัตว์ทะเลผสม 6 ระดับ คือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารสูตรที่ 1-3 มีอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน แต่ในสูตรที่ 5 และ 6 กุ้งมีการเจริญเติบโตลดลงและมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 6-8 ดังนั้นสามารถใช้เมล็ดฝ้ายป่นแทนที่แหล่งโปรตีนจากสัตว์ทะเลในอาหารกุ้งขาวได้สูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์

2.4 ฮีโมโกลบินป่นและการใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น

ฮีโมโกลบินป่น (hemoglobin powder) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเลือดมาปั่นแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นแหล่งของฮีโมโกลบินที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ออกจากพลาสมา หลังจากนั้นนำส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดงมาทำแห้งโดยกระบวนการสเปรย์ดราย (EUROTEC NUTRITION (Thailand), 2006) ฮีโมโกลบินป่นมีโปรตีนสูงและย่อยง่าย มีกรดอะมิโนชนิดไลซีน และลูซีน ในปริมาณสูง แต่มีเมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีน ในปริมาณต่ำ (Asgard and Austreng, 1986; Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) โดยกรดอะมิโนชนิด ลูซีน กับ ไอโซลิวซีน และไลซีน กับ อาร์จีนีน มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน ดังในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของกรดอะมิโน ลูซีน ไอโซลิวซีน ไลซีน และอาร์จีนีน
ที่มา : รัชฎา แก่นสาร์ และคณะ (2542)

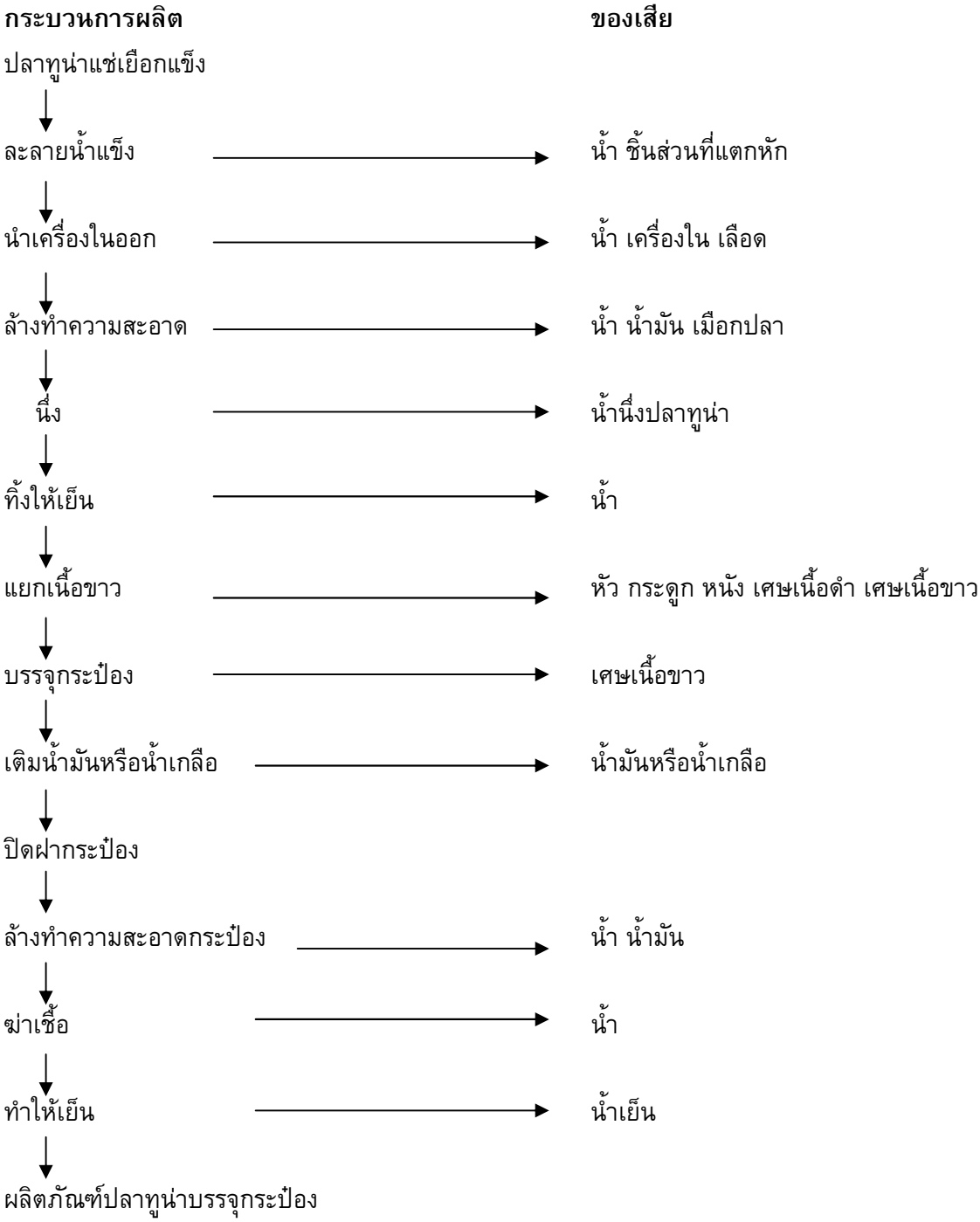
จากการศึกษาการใช้ฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่นในอาหารปลา พบว่าสามารถทดแทนได้ในระดับสูง เช่น Lee และ Bai (1997) ใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลา Japanese eel ที่ระดับ 0, 12.5, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่ 7-10 ใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่น 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และเสริมกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ เมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีน ใช้เลี้ยงปลาขนาด 6 กรัม ระยะเวลาทดลอง 12 สัปดาห์ พบว่าสามารถ

แทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นได้ถึง 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่เสริมและเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็น ตามลำดับ และการแทนที่ที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการลดการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และลดความอยากกินอาหารนอกจากนั้น Booth และคณะ (2005) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยเสมือน (Apparent Digestibility Coefficient, ADC) ของฮีโมโกลบินป่น และเลือดป่นในอาหารปลา Australian snapper เปรียบเทียบกับปลาป่น พบว่าปลาป่นและฮีโมโกลบินป่นมีประสิทธิภาพการย่อยใกล้เคียงกัน เท่ากับ 94.3 และ 95.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเลือดป่นมี ADC ต่ำสุดเท่ากับ 81.6 เปอร์เซ็นต์

สำหรับการใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่ปลาป่นในอาหารกุ้งขาวจากการสืบค้นจากรายงานการวิจัยไม่พบว่ามีการศึกษาทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ แต่จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นการวัดปริมาณกรดอะมิโนที่ปลดปล่อยออกมา (amino acid liberation) หลังจากการย่อยวัตถุดิบอาหารหรืออาหารที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากตับกุ้งขาวด้วยวิธี TNBS ที่มีหน่วย 10^{-7} mole alanine equivalent (ชุติมา ตันติกิตติ, ข้อมูลยังไม่ได้มีการตีพิมพ์) พบว่าฮีโมโกลบินป่นมีค่าประสิทธิภาพการย่อยสูงเท่ากับ 3.05-3.98 ซึ่งสูงกว่าปลาป่นที่นำเข้าจากประเทศชิลี ปลาป่นเกรดพรีเมี่ยม ปลาป่นเกรด 1 และ 2 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.80-1.68 แสดงว่าเอนไซม์ในตัวกุ้งสามารถย่อยฮีโมโกลบินป่นได้ดี จึงเป็นเหตุผลที่จะใช้ทดแทนปลาป่นในการทดลองครั้งนี้

2.5 แหล่งที่มาและองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในรวมปลาทูน่า

ในกระบวนการแปรรูปปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง ตั้งแต่การนำปลาทูน่าแช่แข็งเข้าสู่กระบวนการผลิต จะเกิดวัสดุเศษเหลือ 2 ประเภท คือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็งประมาณ 25–30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ หัว เครื่องในปลา กระดูก หนังและเศษเนื้อดำ และวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ น้ำเลือด น้ำนึ่งปลา (ภาพที่ 2) โดยพบว่าเครื่องในรวมปลาทูน่ามีโปรตีน ไขมัน และเถ้า (โดยน้ำหนักแห้ง) อยู่ในช่วง 67.70-76.68, 5.10-9.58 และ 5.57-11.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (อัจฉริยา เชื้อช่วยชู, 2542; วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล, 2544; วันชัย เกียรติพิมล, 2545)



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋องและวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้น
ที่มา : วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544)

2.6 การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารสัตว์น้ำ

โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ การเร่งปฏิกิริยาสามารถทำได้โดยการใช้กรด-ด่าง หรือเอนไซม์ (Adler-Nessen, 1986) และจำเป็นต้องควบคุมสภาวะเช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการ (Mackie, 1982 อ้างโดย วันชัย เกียรติพิมล, 2545) ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนหลายชนิด เช่น ปลา กุ้ง และเครื่องในปลา

2.6.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต แบ่งได้เป็น 3 วิธี ได้แก่

1) การเกิดตามธรรมชาติ : การเกิดโปรตีนไฮโดรไลเสตตามธรรมชาติอาศัยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของปลาที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อยู่ในลำไส้ปลาและเอนไซม์ในกล้ามเนื้อ ตัวอย่างเช่น น้ำจากปลาที่กำจัดไขมันออก (stick water) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมปลาป่น (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542)

2) การย่อยสลายด้วยสารเคมี : การใช้สารเคมีในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตไม่มีความจำเพาะและปฏิกิริยาเกิดขึ้นรุนแรง การใช้กรดหรือด่างไม่สามารถกำหนดอัตราการสลายพันธะได้ และการย่อยสลายด้วยกรดหรือด่างจะทำลายกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น ทริปโตเฟน และซิสเตอีน (Jaswal, 1990) นอกจากนี้เซอรีน และทรีโอนีน อาจถูกทำลายเช่นกันรวมทั้งมีผลทำให้เกิดเรซีไมเซชั่น (racemization) ของกรดอะมิโนเปลี่ยนจาก l- form เป็น d- form ซึ่งร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดต่ำลง (Hall and Ahmad, 1992 อ้างโดย วันชัย เกียรติพิมล, 2545)

3) การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ : การใช้เอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจะมีความจำเพาะสูงและเกิดปฏิกิริยาที่ไม่มีความรุนแรง สามารถทำปฏิกิริยาที่พีเอชปานกลาง กิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์สามารถกำหนดระดับการย่อยสลายและขนาดของสายเปปไทด์ที่เกิดขึ้น โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีสีสว่าง ปริมาณของคลอรีนและเถ้าต่ำ และยังมีกลิ่นไม่รุนแรง (Adler-Nessen, 1986)

ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาควรใช้วัตถุดิบที่มีความสด เพื่อจะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มีคุณภาพ ในขั้นตอนการผลิตมีการล้างวัตถุดิบเพื่อกำจัดเลือดและเมือกให้หมด เพื่อลดปัญหาเรื่องกลิ่นคาวและเป็นการกำจัดจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหาร (อัจฉริยา เชื้อช่วยชู, 2542) แต่ในทางตรงกันข้ามจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหารมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนในวัตถุดิบ การล้างมีผลต่อโปรตีนที่ละลายน้ำมีการสูญเสียไปกับน้ำ และกลิ่นคาวปลาอาจมีผลด้านลบต่อการบริโภคของมนุษย์ แต่อาจมีผลด้านบวกต่อการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์น้ำ

2.6.2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสต

ปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของกรดอะมิในวัตถุดิบเริ่มต้น กรดอะมิโนที่พบมากในโปรตีนไฮโดรไลเสตได้แก่ ทอรีน อาร์จีนีน ไกลซีน ไลซีน ลูซีน โพรลีน และกรดกลูตามิก (Chen *et al*., 1992) สำหรับโปรตีนไฮโดรไล

เสตที่ผลิตจากเครื่องในปลาทูน่า พบว่ามีปริมาณของกรดอะมิโนสูง โดยเฉพาะปริมาณของกรดอะมิโนที่มีความจำเป็น เช่น ฟีนิลอะลานีน ลูซีน และทรีโอนีน (ตารางที่ 1) โดยกรดอะมิโนที่ทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดการกินอาหาร เป็นกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้ว (Jones, 1989) ซึ่งวันชัย เกียรติพิมล (2545) รายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า และสารสกัดจากปลามีปริมาณและองค์ประกอบของกรดอะมิโนแตกต่างกัน โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ามีปริมาณของกรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม) กรดกลูตามิก (6.16) กรดแอสปาร์ติก (4.26) ไกลซีน (4.17) ลูซีน (3.91) และอาร์จีนีน (3.31) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนในกลุ่มที่ไม่มีขั้วปริมาณที่สูงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากหัวกุ้งกุลาดำและสารสกัดจากปลา ส่วน Kim และคณะ (1997) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเศษเหลือจากการแล่เนื้อปลาคอดโดยใช้เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งของปลาทูน่า พบว่ามีกรดกลูตามิก ไกลซีน แอสพาราจีน อะลานีน ไลซีน เซอรีน และอาร์จีนีนในปริมาณสูง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

กรดอะมิโน	กรัม/100 กรัม			
	ปลาป่น[1]	โปรตีนไฮโดรไลเสต[2]	เลือดป่น[3]	ฮีโมโกลบิน[4]
กรดอะมิโนที่จำเป็น				
อาร์จีนีน	3.40	4.04	4.3	4.00
ฮิสตีดีน	1.21	1.93	6.3	7.00
ไอโซลิวซีน	2.50	2.20	1.0	0.30
ลูซีน	4.05	3.36	12.6	15.10
ไลซีน	4.00	2.33	9.7	9.90
เมทไธโอนีน	-	-	1.30	1.40
ทริปโตเฟน	-	-	-	1.90
ฟีนิลอะลานีน	-	2.80	7.2	8.00
ทรีโอนีน	2.29	2.59	5.1	4.90
วาลีน	2.85	2.52	8.7	8.50
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น				
อะลานีน	-	2.49	-	7.40
กรดแอสพาร์ติก	-	3.18	-	11.00
ไกลซีน	4.00	2.85	-	4.50
กรดกลูตามิก	-	4.85	-	8.40
โพรลีน	-	2.22	-	-
เซอร์รีน	-	2.39	-	4.20
ไทโรซีน	-	2.22	-	2.40

[1] สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย (2544) ไม่มีผลการวิเคราะห์ เมทไธโอนีน ทริปโตเฟน ฟีนิลอะลานีน อะลานีน กรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก โพรลีน เซอร์รีน และไทโรซีน

[2] สุภาพร มหันต์กิจ (2549) (86.56 เปอร์เซ็นต์โปรตีน)

[3] Asgard และ Austreng (1986) (93.03 เปอร์เซ็นต์โปรตีน)

[4] EUROTEC NUTRITION (Thailand) Co. LTD. 2006. (99.4 เปอร์เซ็นต์โปรตีน)

2.6.3 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารสัตว์น้ำ

การนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำมีทั้งการนำมาใช้เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น และเพื่อเป็นสารดึงดูดหรือกระตุ้นการกินอาหารของสัตว์น้ำ เช่น อานัส แซะอาหลี และชุติมา ตันติกิตติ (2551) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าด้วยวิธีการต่างกัน 4 วิธี คือ วิธีที่ 1 ล้างเครื่องในและไม่เสริมเอนไซม์ วิธีที่ 2 ล้างเครื่องในและเสริมเอนไซม์ วิธีที่ 3 ไม่ล้างเครื่องในและไม่เสริมเอนไซม์ วิธีที่ 4 ไม่ล้างเครื่องในและเสริมเอนไซม์ เพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม พบว่าการเสริมเอนไซม์มีผลต่อระดับการย่อยสลายปริมาณเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระสูงกว่าที่ไม่เสริมเอนไซม์ เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตทั้ง 4 วิธีเคลือบอาหารกุ้งก้ามกรามที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (โดยอาหารมีเคซีนเป็นแหล่งโปรตีนหลัก) พบว่ามีผลต่อพฤติกรรมการเข้าหาอาหารและปริมาณอาหารที่กินสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และอาหารที่เคลือบโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวิธีที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าหาอาหารและปริมาณอาหารที่กินต่ำสุด เท่ากับ 15.36 เปอร์เซ็นต์ และ 0.093 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ขณะที่อาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวิธีที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าหาอาหารและปริมาณอาหารที่กินสูงสุด เท่ากับ 17.58 เปอร์เซ็นต์ และ 0.098 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ แสดงว่าการเสริมเอนไซม์ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตมีผลในการเสริมคุณสมบัติการดึงดูดการกินอาหาร เนื่องจากเกิดการย่อยสลายโปรตีนเป็นเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระสูงกว่าการผลิตที่ไม่เสริมเอนไซม์ นอกจากนั้นพฤติกรรมในการเข้าหาอาหารของกุ้งมีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กิน

Floreto และคณะ (2001) ศึกษาผลของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเคย (krill hydrolysate) ในอาหารที่มีถั่วเหลืองป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักของกุ้งมังกรชนิด *Homarus americanus* โดยมีอาหารทดลอง 7 สูตร สูตรที่ 1 ใช้ถั่วเหลืองป่น 83.3 เปอร์เซ็นต์ ไม่ใช้ไฮโดรไลเสตจากเคย สูตรที่ 2 ใช้ถั่วเหลืองป่น 72.9 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรไลเสตจากเคย 8.2 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3 ใช้ถั่วเหลืองป่น 62.5 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรไลเสตจากเคย 16.4 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 4 ใช้ถั่วเหลืองป่น 41.7 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรไลเสตจากเคย 32.8 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 5 ใช้ถั่วเหลืองป่น 20.8 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรไลเสตจากเคย 49.2 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 6 ไม่ใช้ถั่วเหลืองป่น ไฮโดรไลเสตจากเคย 65.3 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่ 7 ไม่ใช้ถั่วเหลืองป่นและไฮโดรไลเสตจากเคย แต่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีน พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2–7 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ไม่มีการลอกคราบและอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ดังนั้นสามารถใช้ถั่วเหลืองป่นในอาหารกุ้งมังกรได้สูงถึง 72.9 เปอร์เซ็นต์ โดยในอาหารใช้ไฮโดรไลเสตจากเคย 8.2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร เพื่อช่วยเพิ่มความอยากกินอาหาร

วันชัย เกียรติพิมล (2545) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า น้ำนึ่งปลาทูน่า และหัวกุ้งกุลาดำ เคลือบบนเม็ดอาหารเพื่อดึงดูดการกินอาหารของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) พบว่าทั้งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ใช้ในการเคลือบเม็ดอาหาร (0-15 เปอร์เซ็นต์) มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลา ปริมาณอาหารที่ปลากิน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าให้ค่าเหล่านี้สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีน

ไฮโดรไลเสตจากหัวกุ้งกุลาดำและน้ำนึ่งปลาทูน่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ใช้เคลือบเม็ดอาหาร พบว่าที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเหล่านี้สูงกว่าที่ระดับ 0 และ 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ระดับ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตไม่มีผลต่ออัตราการรอดตาย น้ำหนักปลาสุดท้ายและโปรตีนสะสม ส่วนระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารมีผลต่ออัตราการรอดตายและน้ำหนักปลาสุดท้าย ส่วนโปรตีนสะสมของปลาที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสต ที่ระดับ 10 และ15 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าโปรตีนสะสมของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม แต่ที่ระดับ 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

Kolkovski และคณะ (2000) ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเคย เพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารในปลาน้ำจืด 3 ชนิด ได้แก่ yellow perch (*Perca flavescens*) walleye (*Stizostedion vitreum*) และ lake white-fish (*Coregonus clupeafornus*) โดยเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารทางการค้า จากการทดลองพบว่าอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเคยที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของปลา yellow perch เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารทางการค้า (734 $\pm$33 มิลลิกรัม และ 559$\pm$ 82 มิลลิกรัม ตามลำดับ) นอกจากนี้ Berge และ Storebakken (1996) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากปลาช่วยส่งเสริมการกินอาหารและการเจริญเติบโตของลูกปลาแอตแลนติกแซลมอนเมื่อผสมในอาหารที่ระดับ 3.3 และ 5.3 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร

นอกจากนั้น Teles และคณะ (1999) ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตทดแทนปลาป่นในอาหารปลาเทอโบท (*Scophthalmu maximus*) น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 58.5 กรัม โดยมีอาหารทดลอง 5 สูตรที่มีโปรตีน 56 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 14 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาทดลอง 12 สัปดาห์ โดยสูตรที่ 1 และ 2 ใช้ปลาป่น 2 ชนิดเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหาร คือสูตรที่ 1 ใช้ปลาป่นมาตรฐานจากประเทศเดนมาร์กที่มีโปรตีน 74 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 13 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 2 ใช้ปลาป่น LT จากประเทศเดนมาร์กที่มีโปรตีน 76 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 12 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3, 4 และ 5 แทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีโปรตีน 72 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 23 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 5, 15 และ 25 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตรมีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ประสิทธิภาพการย่อยเสมือน และไนโตรเจนสะสมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นสามารถใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตแทนที่โปรตีนในปลาป่นในอาหารปลาเทอโบทได้สูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษารูปแบบและระดับที่เหมาะสมของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าเพื่อเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว

2. เพื่อศึกษาการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ ในอาหารกุ้งขาวที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร

4. วิธีการศึกษา

4.1 การทดลองที่ 1 ความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสต จากเครื่องในรวมปลาทูน่าต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

4.1.1 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

4.1.1.1 การผลิตและวิเคราะห์พารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า

1) เครื่องในรวมปลาทูน่า

เครื่องในรวมปลาทูน่าได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัททรอปิคอลแคนนิ่ง จำกัด (มหาชน) ประกอบด้วย กระเพาะ ม้าม ตับ และถุงน้ำดี นำเครื่องในมาบดด้วยเครื่องบดเนื้อ และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990) บรรจุในถุงโพลีเอทิลีน และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการใช้งาน

2) การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

นำเครื่องในรวมปลาทูน่า (ความสดของเครื่องในไม่เกิน 6 ชั่วโมง หลังการแปรรูป) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตตามวิธีการของ อัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542) โดยใช้ความเข้มข้นของโปรตีนจากเครื่องในเริ่มต้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ เติมสารละลายบัฟเฟอร์ (ทรีส-ไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์) ปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์ เติมเอนไซม์อัลคาเลส (Sigma. EC No. 232 product of Denmark) ปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในเครื่องใน จากนั้นนำไปย่อยสลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พร้อมทั้งเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที แล้วยับยั้งการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที ได้สารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสต และเศษเครื่องในปลาทูน่า นำโปรตีนไฮโดรไลเสตไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990)

3) การทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า

นำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มาทำแห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนมีลักษณะข้นหนืด นำมาผสมกับแป้งสาลีในอัตราส่วน โปรตีนไฮโดรไลเสต 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อแป้ง 30 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) จากนั้นนำไปอบให้แห้งอีกครั้ง แล้วจึงนำไปบดให้ละเอียด ใส่ถุงพลาสติกและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990)

4) การวิเคราะห์พารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสต

4.1) เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้ (nitrogen recovery)

หาปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้ (nitrogen recovery) ตามวิธีของ Shahidi และคณะ (1995) โดยหาปริมาณไนโตรเจนในวัตถุดิบเริ่มต้นและไนโตรเจนของโปรตีนไฮโดรไลเสตตามวิธีของ AOAC (1990) จากนั้นนำค่าที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้ (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนในไฮโดรไลเสต} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนในวัตถุดิบเริ่มต้น}}$$

4.2) ระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis)

หาระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis หรือ DH) ตามวิธีของ Hoyle และ Merritt (1994) โดยนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้ผสมกับกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากัน แล้วนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที นำส่วนของเหลวใสที่ได้ไปหาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีของ AOAC (1990) จากนั้นนำค่าที่วิเคราะห์ได้มาคำนวณดังสมการ

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนที่ละลาย} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในวัตถุดิบ}}$$

4.3) ผลผลิตของโปรตีนกลุ่มต่างๆ

นำตัวอย่างที่ได้หาปริมาณโปรตีนรวม (total protein) ตามวิธีของ AOAC (1990) ปริมาณเปปไทด์สายยาว (long chain peptides : LP) ปริมาณเปปไทด์สายสั้น (short chain peptides : SP) ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid : FAA) ตามวิธีของ Volden และคณะ (2002) และปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน (ammonia-N) ตามวิธีของ Bates และคณะ (1995) นำค่าที่ได้มาคำนวณ ดังนี้

1. ปริมาณโปรตีนที่ไม่ใช่แอมโมเนีย
   = ปริมาณโปรตีนรวม – ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน
2. ปริมาณเปปไทด์สายสั้น
   = ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่วิเคราะห์โดยวิธี Cadmium Ninhydrin–ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่วิเคราะห์โดยวิธี Ninhydrin
3. ปริมาณเปปไทด์สายยาว
   = ปริมาณโปรตีนรวม – (ปริมาณเปปไทด์สายสั้น + ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่วิเคราะห์โดยวิธี Ninhydrin + ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน)

4.1.1.2 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าในอาหารกุ้งขาว

1) แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) มีชุดการทดลองจำนวน 8 ชุด แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ ทั้งหมด 32 ตู้ทดลอง ระยะเวลาเลี้ยง 6 สัปดาห์

2) การเตรียมกุ้ง

นำลูกกุ้งขาวระยะ P12–15 จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในอำเภอละงู จังหวัดสตูลมาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาดความจุน้ำ 5 ตัน (2×2.5×1 เมตร) โดยให้อาร์ทีเมียและอาหารสำเร็จรูปทางการค้าวันละ 4 ครั้ง ในระยะแรกให้อาร์ทีเมียจากนั้นค่อยๆ ลดปริมาณอาร์ทีเมียลงและเสริมด้วยอาหารทางการค้าตามสัดส่วน จนกระทั่งลูกกุ้งเคยชินกับอาหารเม็ด อนุบาลลูกกุ้งเป็นระยะเวลา 45 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน หลังจากนั้นสุ่มกุ้งไปเลี้ยงในตู้ทดลอง จำนวน 40 ตัว/ตู้ โดยให้อาหารทางการค้าเป็นเวลา 7 วัน เพื่อปรับพฤติกรรมให้คุ้นกับตู้ทดลอง จากนั้นคัดกุ้งที่มีขนาดใกล้เคียงกันให้เหลือจำนวน 20 ตัว/ตู้ แล้วชั่งน้ำหนักรวมเพื่อใช้ในการทดลอง

3) การเตรียมระบบเลี้ยง

ใช้ตู้กระจกขนาดความจุน้ำ 200 ลิตร (45×45×115 เซนติเมตร) โดยระบบน้ำที่ใช้เป็นระบบน้ำไหลกึ่งปิด ใช้น้ำทะเลจากบ่อพักน้ำสูบน้ำเก็บในบ่อซีเมนต์ที่มีความจุน้ำ 40 ตัน (4×5×2 เมตร) แล้วทำการบำบัดน้ำด้วยคลอรีนในปริมาณ 2 กิโลกรัม/น้ำ 1 บ่อ เมื่อน้ำสะอาดและปราศจากคลอรีนเจือปนจึงนำมาใช้ในตู้ทดลอง มีการให้อากาศในตู้ทดลองตลอดเวลาโดยเครื่องปั๊มลมขนาดใหญ่และมีการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกวันตลอดการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิโดยใช้ thermometer ความเค็มโดยใช้ salinometer พีเอชโดยใช้ pH meter ส่วนปริมาณไนไตรท์ และแอมโมเนียส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล 1 ครั้ง/สัปดาห์ ซึ่งวิเคราะห์ตามวิธีการของ Strickland และ Parsons (1972)

4) การเตรียมอาหาร

อาหารทดลองมีทั้งหมด 8 สูตร โดยมีองค์ประกอบ ดังในตารางที่ 2 ซึ่งมีโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกัน คือ 42 เปอร์เซ็นต์ 8 เปอร์เซ็นต์ และ 3,480–3,630 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ (Wyk, 1999) ทุกสูตรมีกากถั่วเหลืองป่นแทนที่ 40 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในปลาป่น แล้วเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตและสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารทางการค้า (บีเทน) ดังนี้

สูตรที่ 1 ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสต (สูตรควบคุม)

สูตรที่ 2 - 4 เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งโดยการผสมรวมที่ระดับ 8, 12 และ 16 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ

สูตรที่ 5 - 7 เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4, 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ

สูตรที่ 8 เสริมสารดึงดูดการกินอาหารทางการค้า ที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร

นำวัตถุดิบที่มีความหยาบไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (Retsch® Germany Typ WRB 80c/2Q B8) จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 30 เมช นำวัตถุดิบไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี นำมาชั่งให้ได้น้ำหนักตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตร รวมทั้งวัตถุดิบที่เป็นของเหลว เช่น น้ำมัน โดยนำวัตถุแห้งทั้งหมดมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร (Hobart mixer) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงค่อยๆ เติมน้ำมันลงไปทีละน้อยและเปิดเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 5 นาที แล้วค่อยๆ เติมน้ำสะอาดในปริมาตร 35 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร เปิดเครื่องอีกครั้งนาน 10 นาที

เมื่อวัตถุดิบอาหารผสมเข้ากันเป็นอย่างดี จึงนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารที่มีหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร โดยให้ผ่านการอัดเม็ด 2 รอบ เพื่อให้เม็ดอาหารมีความแน่น ใช้มีดขนาดเล็กตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดต่างกัน 2 ขนาด โดยนำเม็ดอาหารมาร่อนผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ซึ่งขนาดเล็กจะลอดผ่านช่องตะแกรง เพื่อความเหมาะสมกับขนาดของกุ้งที่เลี้ยง (ขนาดเล็กสำหรับกุ้งเริ่มต้นจนถึง 1 เดือน และขนาดใหญ่สำหรับกุ้งโต 1-2 เดือน) จากนั้นนำอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับสูตรที่ 5-7 ซึ่งเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลวโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหาร จะผสมวัสดุอาหารทุกชนิดยกเว้นโปรตีนไฮโดรไลเสต ซึ่งจะนำมาสเปรย์บนเม็ดอาหารหลังจากอบแห้ง และทำให้แห้งอีกครั้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำอาหารที่อบแห้งแล้ววางให้เย็นแล้วจึงร่อนด้วยตะแกรงเพื่อแยกเม็ดอาหารออกเป็น 2 ขนาด แล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธีลีนและเก็บในถุงสีดำเพื่อป้องกันแสง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการใช้งาน และนำอาหารทุกสูตรมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า (AOAC, 1990) และคำนวณพลังงานในอาหาร

5) การศึกษาการเจริญเติบโต

คัดเลือกลูกกุ้งที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงขนาดประมาณ 2 กรัม ใส่ในแต่ละตู้ทดลองจำนวน 20 ตัว/ตู้ ชั่งน้ำหนักรวมของกุ้งในแต่ละซ้ำเมื่อเริ่มต้นทดลอง จัดชุดการทดลองและซ้ำของชุดการทดลองโดยการสุ่ม จากนั้นติดป้ายชุดการทดลองตามการสุ่ม แล้วให้อาหารทุกวันๆละ 4 ครั้ง เวลา 7.00, 12.00, 17.00 และ 23.00 เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่กินทุกวันโดยบันทึกปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวัน และเก็บอาหารที่เหลือบริเวณพื้นตู้โดยใช้สายยางขนาดเล็กดูด (siphon) และกรองโดยถุงผ้าโอลอนแก้ว นำอาหารที่เหลือไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือในแต่ละวัน คำนวณปริมาณอาหารที่กุ้งกินโดยเอาอาหารที่เหลือหักออกจากอาหารที่ให้ในแต่ละวัน โดยปรับระดับอาหารให้กินจนอิ่มในแต่ละมื้อตามขนาดและการลอกคราบของกุ้ง ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร การลอกคราบ และความผิดปกติของกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง เก็บคราบกุ้งและกุ้งตายออกจากตู้ให้เร็วที่สุดเพื่อป้องกันกุ้งกินคราบและกินกันเอง พร้อมทั้งจดบันทึกจำนวนกุ้งที่ผิดปกติหรือตาย ในระหว่างการศึกษามีการดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ และเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอาหารทดลองในการศึกษาความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสตต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (กรัม/100 กรัม)

	สูตรอาหาร							
วัตถุดิบ	1	2	3	4	5	6	7	8
ปลาป่น	32	25.65	22.47	19.28	27.48	22.95	18.43	32
TVH[1]	-	8	12	16	4[2]	8	12	-
บีเทน[3]	-	-	-	-	-	-	-	1.5
แป้งสาลี	17	17	17	17	17	17	17	17
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0
หวีดกลูเตน	6	6	6	6	6	6	6	6
เลซีติน	2	2	2	2	2	2	2	2
น้ำมันปลา	1.2	1.63	1.85	2.07	1.54	1.89	2.23	1.2
วิตามินรวม[4]	2	2	2	2	2	2	2	2
แร่ธาตุรวม[5]	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
วิตามินซี[6]	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
calcium phosphate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
BHT	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
คอเลสเตอรอล[7]	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
CMC	1	1	1	1	1	1	1	1
เซลลูโลส	5.43	3.35	2.31	1.28	5.61	5.79	5.97	3.93
องค์ประกอบทางเคมี								
โปรตีน	43.00	42.73	43.75	44.02	43.86	43.89	42.90	46.07
ไขมัน	7.01	7.45	7.91	8.06	7.88	7.54	7.79	8.16
เถ้า	6.80	6.54	6.42	6.17	6.69	6.37	5.84	7.09
เยื่อใย	8.82	6.77	5.74	4.72	9.00	9.18	9.36	7.32
NFE	25.02	27.76	27.21	27.86	25.03	24.36	23.73	25.10

[1] TVH= Tuna visceral hydrolysate โดยสูตรที่ 2-4 ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าในรูปแบบแห้ง สูตรที่ 5-7 ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าในรูปแบบเหลวโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหาร

[2] น้ำหนักของโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลวที่คำนวณเป็น as-fed basis

[3] บีเทน 97 เปอร์เซ็นต์ (Danisco Animal Nutrition)

[4] วิตามินรวม (กรัม/ กิโลกรัมวิตามินรวม) thiamin HCl 0.5, riboflavin 3.0, pyridoxine HCl 1.0, DL Ca-pantothenate 5.0, nicotinic acid 5.0, biotin 0.05, folic acid 0.18, vitamin B12 0.002, choline chloride 100.0, inositol 5.0, menadione 2.0, vitamin A acetate (20,000 IU/g) 5.0, vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.002, DL-alpha-tocopheryl acetate (250 IU/g) 8.0, alpha-cellulose 865.266

[5] แร่ธาตุรวม (กรัม/ 100 กรัม แร่ธาตุ) cobalt chloride 0.004, cupric sulphate pentahydrate 0.250, ferrous sulphate 4.0, magnesium sulphate heptahydrate 28.398, manganous sulphate monohydrate 0.650, potassium iodide 0.067, sodium selenite 0.010, zinc sulphate heptahydrate 13.193, แป้งสาลี 53.43

[6] วิตามินซี : minimum level of 35 เปอร์เซ็นต์ Vitamin C (DSM Nutritional Products)

[7] 91 เปอร์เซ็นต์ คอเลสเตอรอล

6) การเก็บข้อมูลและตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างกุ้งก่อนเริ่มทดลองประมาณ 100 กรัม (น้ำหนักสด) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองจำนวน 10 ตัว/ตู้ นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักของกุ้งทุกซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง และคำนวณอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตาย ตามสูตรดังนี้

ปริมาณอาหารที่กิน (feed intake, g/shrimp)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน (กรัม)}}{\text{จำนวนกุ้ง (ตัว)}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (as-fed basis) ที่กุ้งกินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้ง (wet weight basis) ที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, % ต่อวัน)

$$= \frac{(\ln W_2 - \ln W_1) \times 100}{t_2 - t_1}$$

W_1 = น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น W_2 = น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย

t_1 = วันเริ่มต้นการทดลอง t_2 = วันสิ้นสุดการทดลอง

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (% weight gain)

$$= \frac{[\text{น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}] \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}}$$

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้ง (wet weight basis) ที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีน (as-fed basis) ที่กุ้งกินตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการรอดตาย (survival rate, %)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว)} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)}}$$

7) การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย One way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2 การทดลองที่ 2 การแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่าง ๆ ในอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า

4.2.1 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

4.2.1.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า : วิธีการเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.1.1.1 และ 4.1.1.2

4.2.1.2 การใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งขาว

1) แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) มีชุดการทดลองจำนวน 5 ชุด แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ ทั้งหมด 20 ตู้ทดลอง ระยะเวลาเลี้ยง 8 สัปดาห์

2) การเตรียมกุ้ง

นำลูกกุ้งขาวระยะ P12–15 จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในอำเภอละงู จังหวัดสตูลมาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาดความจุน้ำ 12 ตัน (2× 4× 1.5 เมตร) โดยให้อาร์ทีเมียและอาหารสำเร็จรูปทางการค้าวันละ 4 ครั้ง ในระยะแรกให้อาร์ทีเมียจากนั้นจึงค่อยๆ ลดปริมาณอาร์ทีเมียลงและเสริมด้วยอาหารทางการค้าตามสัดส่วน จนกระทั่งลูกกุ้งเคยชินกับอาหารเม็ด อนุบาลลูกกุ้งเป็นเวลา 45 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน หลังจากนั้นสุ่มกุ้งไปเลี้ยงในตู้ทดลอง จำนวน 40 ตัว/ตู้ โดยให้อาหารทางการค้าเป็นเวลา 7 วัน เพื่อปรับพฤติกรรมให้คุ้นกับตู้กระจก หลังจากนั้นคัดลูกกุ้งที่มีขนาดใกล้เคียงกันให้เหลือจำนวน 20 ตัว/ตู้ แล้วชั่งน้ำหนักรวมเพื่อใช้ในการทดลอง

3) การเตรียมระบบเลี้ยง

ใช้ตู้กระจกขนาดความจุน้ำ 200 ลิตร (45× 45× 115 เซนติเมตร) โดยระบบน้ำที่ใช้เป็นระบบน้ำไหลกึ่งปิด ใช้น้ำทะเลจากบ่อพักน้ำสูบน้ำเก็บในบ่อซีเมนต์ที่มีความจุน้ำ 40 ตัน (4× 5× 2 เมตร) แล้วทำการบำบัดน้ำด้วยคลอรีนในปริมาณ 2 กิโลกรัม/น้ำ 1 บ่อ เมื่อน้ำสะอาดและปราศจากคลอรีนเจือปนจึงนำมาใช้ในตู้ทดลอง มีการให้อากาศในตู้ทดลองตลอดเวลาโดยเครื่องปั๊มลมขนาดใหญ่และมีการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกวันตลอดการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิโดยใช้ thermometer ความเค็มโดยใช้ salinometer พีเอชโดยใช้ pH meter ส่วนปริมาณไนไตรท์ และแอมโมเนียส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล 1 ครั้ง/สัปดาห์ ซึ่งวิเคราะห์ตามวิธีการของ Strickland และ Parsons (1972)

4). การเตรียมอาหาร

ผลิตอาหารทดลองทั้งหมด 5 สูตร ดังส่วนผสมในตารางที่ 3 โดยทุกสูตรมีกากถั่วเหลืองป่นที่ระดับ 32 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร มีโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกับการทดลองที่ 1 และเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร และอาหารทดลองสูตรที่ 2-5 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น และเสริมกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ อาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน ให้ใกล้เคียงกับปริมาณที่มีในสูตรควบคุม ดังนี้

สูตรที่ 1 ไม่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น (สูตรควบคุม)
สูตรที่ 2 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ และเสริมอาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน 0.034, 0.057 และ 0.018 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร
สูตรที่ 3 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ และเสริมอาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน 0.068, 0.114 และ 0.036 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร
สูตรที่ 4 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ และเสริมอาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน 0.101, 0.172 และ 0.054 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร
สูตรที่ 5 แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ และเสริมอาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน 0.135, 0.229 และ 0.072 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร

นำวัตถุดิบที่มีความหยาบไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (Retsch® Germany Typ WRB 80c/2Q B8) จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 30 เมช นำวัตถุดิบไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และนำมาชั่งให้ได้น้ำหนักตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตร รวมทั้งวัตถุดิบที่เป็นของเหลว เช่น น้ำมัน โดยนำวัตถุแห้งทั้งหมดมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร (Hobart mixer) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงค่อยๆ เติมน้ำมันลงไปทีละน้อยและเปิดเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 5 นาที แล้วค่อยๆ เติมน้ำสะอาดในปริมาตร 35 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เปิดเครื่องอีกครั้งนาน 10 นาที จนวัตถุดิบอาหารผสมเข้ากันเป็นอย่างดี ส่วนสูตรที่ 2-5 เสริมกรดอะมิโน อาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีน ตามวิธีการของ ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ (2548) โดยชั่งวัสดุอาหารแต่ละสูตรจากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นกรดอะมิโนรูปผลึกมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร Hobart สำหรับกรดอะมิโนรูปผลึกนำไปผ่านการเคลือบวุ้นก่อนที่จะผสมในอาหาร โดยการต้มผงวุ้นให้ละลาย จากนั้นจึงเติมกรดอะมิโนเมื่ออุณหภูมิของสารละลายผงวุ้นลดลงเหลือ 45 องศาเซลเซียส โดยกวนให้วุ้นเคลือบกรดอะมิโนอย่างทั่วถึง นำกรดอะมิโนที่ผ่านการเคลือบวุ้นผสมลงในอาหารให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารที่มีหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร โดยให้ผ่านการอัดเม็ด 2 รอบ เพื่อให้เม็ดอาหารมีความแน่น ใช้มีดขนาดเล็กตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดต่างกัน 2 ขนาด โดยนำเม็ดอาหารมาร่อนผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ซึ่งขนาดเล็กจะลอดผ่านช่องตะแกรง เพื่อความเหมาะสมกับขนาดของกุ้งที่เลี้ยง (ขนาดเล็กสำหรับกุ้งเริ่มต้นจนถึง 1 เดือน และขนาดใหญ่สำหรับกุ้งโต 1-2 เดือน) จากนั้นนำอาหารที่ได้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารทุกสูตรเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหารโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหาร และทำให้แห้งอีกครั้ง นำอาหารที่อบแห้งแล้ววางให้เย็นร่อนด้วยตะแกรงเพื่อแยกเม็ดอาหารออกเป็น 2 ขนาด แล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธีลีน และเก็บในถุงสีดำเพื่อป้องกันแสง นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการใช้งาน และนำอาหารทุกสูตรมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990) และคำนวณพลังงานในอาหาร

5) การศึกษาการเจริญเติบโต

คัดเลือกลูกกุ้งที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงขนาดประมาณ 2 กรัม ใส่ในแต่ละตู้ทดลองจำนวน 20 ตัว/ตู้ ชั่งน้ำหนักรวมของกุ้งในแต่ละซ้ำเมื่อเริ่มต้นทดลอง จัดชุดการทดลองและซ้ำของชุดการทดลองโดยการสุ่ม จากนั้นติดป้ายชุดการทดลองตามการสุ่ม แล้วให้อาหารทุกวันๆละ 4 ครั้ง เวลา 7.00, 12.00, 17.00 และ 23.00 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่กินทุกวัน โดยบันทึกปริมาณอาหารที่ให้แต่ละวัน และเก็บอาหารที่เหลือบริเวณพื้นตู้โดยใช้สายยางขนาดเล็กดูด (siphon) และกรองโดยถุงผ้าโอลอนแก้ว นำอาหารที่เหลือไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือในแต่ละวัน คำนวณปริมาณอาหารที่กุ้งกินโดยเอาอาหารที่เหลือหักออกจากอาหารที่ให้ในแต่ละวัน (as-fed basis) ปรับระดับอาหารที่ให้กินจนอิ่มในแต่ละมื้อตามขนาดและการลอกคราบของกุ้ง ในระหว่างทดลองสังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร การลอกคราบ และความผิดปกติของกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง เก็บคราบกุ้งและกุ้งตายออกจากตู้เพื่อป้องกันกุ้งกินคราบและกินกันเอง พร้อมทั้งจดบันทึกจำนวนกุ้งที่ผิดปกติหรือตาย ในระหว่างการศึกษามีการดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ และเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน

6) การเก็บข้อมูลและตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างกุ้งก่อนเริ่มทดลองประมาณ 100 กรัม (น้ำหนักสด) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บตัวอย่างกุ้งจำนวน 10 ตัว/ตู้ทุกตู้ นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า (AOAC, 1990)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักของกุ้งทุกซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง นำไปคำนวณอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตาย

7) การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย One way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's HSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

8) การหาระดับการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่เหมาะสม

นำข้อมูลของน้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตายของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ เพื่อหาสมการการถดถอย จากนั้นนำระดับการแทนที่ตั้งแต่ 1-10 เป็นตัวแปรอิสระ (X) นำมาแทนค่าในสมการเพื่อคำนวณตัวแปรตาม (Y) โดยเป็นค่าประมาณหรือพยากรณ์ที่ได้จากการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 1-10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำค่า (Y) ที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของอาหารทดลองที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ (กรัม/100 กรัม)

	สูตรอาหาร				
วัตถุดิบ	1	2 (10%)	3 (20%)	4 (30%)	5 (40%)
ปลาป่น	27	24.3	21.6	18.9	16.2
ฮีโมโกลบินป่น[1]	-	2.13	4.25	6.38	8.51
อาร์จีนีน	-	0.034	0.068	0.101	0.135
ไอโซลิวซีน	-	0.057	0.114	0.172	0.229
เมทไธโอนีน	-	0.018	0.036	0.054	0.072
TVHL[2]	4[3]	4	4	4	4
แป้งสาลี	20	19	19	19	19
วุ้น	-	1	1	1	1
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00
หวีทกลูเตน	6	6	6	6	6
เลซีติน	2	2	2	2	2
น้ำมันปลา	1.65	1.91	2.18	2.44	2.7
วิตามินรวม[4]	2	2	2	2	2
แร่ธาตุรวม[5]	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
BHT	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
คอเลสเตอรอล (91%)	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
CMC	1	1	1	1	1
เซลลูโลส	2.98	3.181	3.382	3.583	3.784
องค์ประกอบทางเคมี					
โปรตีน	45.34	45.04	45.59	45.08	45.42
ไขมัน	8.03	8.06	8.02	8.09	8.11
เถ้า	6.79	6.19	5.97	5.61	5.34
เยื่อใย	6.38	6.58	6.78	6.98	7.18
NFE	27.42	26.32	26.42	26.71	26.44

[1] Eurotec Nutrition (Thailand CO.,LTD) โดยการแทนที่โปรตีนในปลาป่น 10, 20, 30 และ 40% ในสูตรที่ 2-5

[2] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าในรูปแบบเหลวโดยสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารและปริมาณที่ใช้มีความชื้นเท่ากับ 7.25 เปอร์เซ็นต์

[3] น้ำหนักของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่แปลงเป็น as-fed basis

[4] วิตามินรวม (กรัม/ กิโลกรัมวิตามินรวม) thiamin HCl 0.5, riboflavin 3.0, pyridoxine HCl 1.0, DL Ca-pantothenate 5.0, nicotinic acid 5.0, biotin 0.05, folic acid 0.18, vitamin B12 0.002, choline chloride 100.0, inositol 5.0, menadione 2.0, vitamin A acetate (20,000 IU/g) 5.0, vitamin D3 (400,000 IU/g) 0.002, DL-alpha-tocopheryl acetate (250 IU/g) 8.0, alpha-cellulose 865.266, ทุกสูตรมีวิตามินซีเท่ากับ 0.1 กรัม/100 กรัมอาหาร (DSM Nutritional Products: minimum level of 35% vitamin C)

[5] แร่ธาตุรวม (กรัม/ 100 กรัมของแร่ธาตุรวม) cobalt chloride 0.004, cupric sulphate pentahydrate 0.250, ferrous sulphate 4.0, magnesium sulphate heptahydrate 28.398, manganous sulphate monohydrate 0.650, potassium iodide 0.067, sodium selenite 0.010, zinc sulphate heptahydrate 13.193, แป้งสาลี 53.428; calcium phosphate = 0.2 กรัม/100 กรัมอาหาร

5. ผลและวิจารณ์การศึกษา

5.1 การทดลองที่ 1 ความเหมาะสมของรูปแบบและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสต จากเครื่องในรวมปลาทูน่าต่อการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

5.1.1 องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า

องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า ดังในตารางที่ 4 พบว่าเครื่องในรวมปลาทูน่ามีความชื้น 74.01 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักเปียก) โปรตีน ไขมัน และเถ้า 69.42, 19.32 และ 6.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในรวมปลาทูน่าในส่วนของความชื้น โปรตีน และเถ้าใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ วันชัย เกียรติพิมล (2545) และ วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544) ที่พบว่าเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลืองมีความชื้นอยู่ในช่วง 76.73-77.79 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักเปียก) ปริมาณโปรตีนและเถ้าอยู่ในช่วง 67.70-74.02 เปอร์เซ็นต์ และ 5.57-6.32 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ แต่แตกต่างในส่วนของไขมันที่พบว่ามีปริมาณสูงกว่า โดยมีค่าอยู่ในช่วง 5.1-9.65 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้บดเครื่องในรวมซึ่งประกอบด้วย กระเพาะ ม้าม ตับ ตับอ่อน ถุงน้ำดี และยังมีก้อนไขมันซึ่งได้มีการบดรวมโดยไม่มีการแยกออก ขณะที่ วันชัย เกียรติพิมล (2545) และ วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544) บดเฉพาะส่วนของ กระเพาะ ม้าม ตับ ตับอ่อน และถุงน้ำดี โดยแยกก้อนไขมันออก

โปรตีนไฮโดรไลเสตมีความชื้น 90.99 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักเปียก) โปรตีน ไขมัน และเถ้า 80.32, 2.73 และ 6.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) ซึ่งปริมาณไขมันและเถ้ามีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณในเครื่องในปลาทูน่าเริ่มต้น เพราะหลังการหมุนเหวี่ยงไขมันจะลอยขึ้นด้านบนแล้วทำการแยกไขมันออกก่อน และส่วนที่กลายเป็นเถ้าจะตกตะกอนหลังการหมุนเหวี่ยง และเมื่อนำองค์ประกอบทางเคมีที่ได้เปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ วันชัย เกียรติพิมล (2545) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลือง พบว่ามีโปรตีน ไขมัน และเถ้าอยู่ในช่วง 62.76-72.01 เปอร์เซ็นต์ 1.63-2.52 เปอร์เซ็นต์ และ 14-15.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และผลการศึกษาของ สุภาพร มหันต์กิจ (2549) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลือง พบว่ามีโปรตีน ไขมัน และเถ้าอยู่ 86.56, 2.52 และ 7.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปริมาณโปรตีนและเถ้าที่ได้แตกต่างกัน เนื่องจากช่วงเวลาที่ทำการทดลองต่างกัน ซึ่งอาจมีผลต่อปัจจัยต่างๆ ต่างกัน

โปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า 5.52, 52.36, 2.38 และ 4.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีค่าต่ำกว่าในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลวเมื่อคำนวณบนฐานของ as-fed basis ซึ่งมีสาเหตุจากโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเสต 70 เปอร์เซ็นต์ และแป้งสาลี 30 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง) เนื่องจากผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้มีคุณสมบัติในการดูดความชื้นได้รวดเร็ว ทำให้ยากที่จะนำมาทำให้แห้งและบดเป็นผงได้ จึงผสมแป้งสาลีเพื่อเป็นตัวดูดความชื้น ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้แห้งและสามารถบดเป็นผงได้ โดยแป้งสาลีมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า 13.85, 1.56 และ 0.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำให้ปริมาณ โปรตีน ไขมัน และ

เถ้าของโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้ต้องเก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศ โดยเก็บในถุงสุญญากาศ (Nylon/LLDPE ขนาด 7×11นิ้ว หนา 0.18 มม) ถุงละ 0.5 กิโลกรัม เพื่อช่วยให้คงสภาพแห้ง เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ อัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542) ที่พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์โอแถบดูดความชื้นได้รวดเร็ว จึงควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โดยมีสารดูดความชื้นร่วมอยู่ด้วย

โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้มีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้และระดับการย่อยสลายสูง เท่ากับ 87.5 เปอร์เซ็นต์ และ 49.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้พบว่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ วันชัย เกียรติพิมล (2545) วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544) และอัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542) ที่พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลืองที่เสริมและไม่เสริมเอนไซม์ และเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์โอแถบที่เสริมเอนไซม์ มีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้ไม่แตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ในช่วง 90.00-97.36, 86.22-95.35 และ 94.98-98.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับระดับการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ อัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542) ที่ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าพันธุ์โอแถบโดยเสริมเอนไซม์อัลคาเลส ให้ระดับการย่อยสลาย 50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาวิเคราะห์ผลผลิตของโปรตีนกลุ่มต่างๆ พบว่ามีปริมาณโปรตีนรวม 6.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วยเปปไทด์สายยาว 3.19 เปอร์เซ็นต์ เปปไทด์สายสั้น 2.39 เปอร์เซ็นต์ กรดอะมิโนอิสระ 1.01 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนีย 0.002 เปอร์เซ็นต์ โดยเมื่อรวมปริมาณของเปปไทด์สายสั้นกับกรดอะมิโนอิสระเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนรวมคิดเป็นสัดส่วน 51.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับระดับการย่อยสลายที่มีค่า 49.61 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ โดยการทำงานของเอนไซม์ กรดหรือด่าง (Adler-Nessen,1986) ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ผลิตได้ ระดับการย่อยสลาย ปริมาณเปปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนอิสระเป็นตัวบ่งบอกคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสต

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า

องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)[1]	เครื่องในรวมปลาทูน่า	โปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลว[2]	โปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้ง[3]
ความชื้น	74.01±0.01[4]	90.99 ±0.02	5.52 ±0.09
โปรตีน	69.42±0.69	80.32±0.20	52.36±0.65
ไขมัน	19.32±1.81	2.73±0.05	2.38±0.01
เถ้า	6.29±0.02	6.52±0.01	4.94±0.03
พารามิเตอร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสต(เปอร์เซ็นต์)			
ไนโตรเจนที่ผลิตได้		87.5	
ระดับการย่อยสลาย		49.61±0.01	
โปรตีนรวม		6.59±0.03	
โปรตีนและเปปไทด์สายยาว		3.19±0.06	
เปปไทด์สายสั้น		2.39±0.05	
กรดอะมิโนอิสระ		1.01±0.02[a]	
แอมโมเนียไนโตรเจน		0.002	

[1] ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ของการวิเคราะห์ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[2] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบเหลว

[3] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบแห้งที่ผสมระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเสต และแป้งสาลีในสัดส่วน 70:30 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง)

[4] ความชื้นของเครื่องในรวมปลาทูน่าและโปรตีนไฮโดรไลเสต เป็นเปอร์เซ็นต์บนฐานน้ำหนักเปียก สำหรับโปรตีน ไขมัน และเถ้าเป็นเปอร์เซ็นต์บนฐานน้ำหนักแห้ง

5.1.2 องค์ประกอบกรดอะมิโนของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสต

องค์ประกอบกรดอะมิโนของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ คือ รูปแบบแห้งและรูปแบบเหลว ดังในตารางที่ 5 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ น้อยกว่าที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลว เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งน้อยกว่าในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลว และในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งมีกรดอะมิโนชนิด กรดกลูตามิกในปริมาณสูงที่สุด เท่ากับ 7.46 กรัม/100 กรัม รองลงมาคือ โพรลีน ไกลซีน อะลานีน และไลซีน เท่ากับ 2.68, 2.66, 2.61 และ 2.61 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยพบอาร์จีนีนในปริมาณต่ำที่สุด เท่ากับ 0.23 กรัม/100 กรัม สอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลว โดยพบว่ามีกรดกลูตามิกในปริมาณสูงที่สุด เท่ากับ 9.92 กรัม/100 กรัม รองลงมาคือ กรดแอสพาร์ติก ไลซีน อะลานีน และไกลซีน เท่ากับ 4.79, 3.52, 3.15 และ 3.13 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ และพบอาร์จีนีนในปริมาณต่ำที่สุด เท่ากับ 0.18 กรัม/100 กรัม ซึ่งกรดอะมิโนที่พบส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนที่ไม่มีความจำเป็น (non essential amino acids) ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนที่มีสอดคล้องกับผลการศึกษาของ สุภาพร มหันต์กิจ (2549) และ วันชัย เกียรติพิมล (2545) โดยพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ามีปริมาณของกรดกลูตามิกสูงที่สุด เท่ากับ 4.85 และ

6.16 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ นอกจากนั้นปริมาณของกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็น (essential amino acids) ที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับที่มีในปลาป่น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาร์จีนีน ลูซีน และไลซีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่กุ้งขาวต้องการสูงที่สุด 3 อันดับแรก (Akiyama *et al.,* 1991)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบกรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม as-fed basis) ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า[1]

กรดอะมิโน	กรัม/100 กรัม		
	ปลาป่น[2]	โปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้ง	โปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลว
กรดอะมิโนที่จำเป็น			
อาร์จีนีน	3.74	0.23	0.18
ฮิสตีดีน	2.34	1.60	1.90
ไอโซลิวซีน	2.19	1.74	2.04
ลูซีน	4.88	2.26	3.10
ไลซีน	4.80	2.61	3.52
เมทไธโอนีน	1.52	1.14	1.22
ทริปโตเฟน	0.38	-	-
ฟีนิลอะลานีน	2.74	1.60	1.86
ทรีโอนีน	2.83	2.21	2.42
วาลีน	2.57	2.18	2.66
กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น			
อะลานีน	-	2.61	3.15
กรดแอสพาร์ติก	-	0.70	4.79
ไกลซีน	-	2.66	3.13
กรดกลูตามิก	-	7.46	9.92
โพรลีน	-	2.68	2.41
เซอร์รีน	-	0.65	2.55
ซิสตีน	-	-	0.49
ไทโรซีน	-	0.54	0.64

[1] โดยการส่งวิเคราะห์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ซึ่งวิเคราะห์โดย HPLC (High performance liquid chromatography)

[2] ปรเมษฐ์ มุสิการุณ (2550) ไม่มีผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น

5.1.3 การเจริญเติบโต

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ด้วยอาหารทดลอง 8 สูตร คือ สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุม สูตรที่ 2-4 ผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้งโดยการผสมรวมในอาหารที่ระดับ 8, 12 และ 16 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ สูตรที่ 5-7 ผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบเหลวโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4, 8 และ 12 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ตามลำดับ และสูตรที่ 8 ผสมบีเทนในอาหารที่ระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร การเจริญเติบโตของกุ้งที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 1-8 ดังในตารางที่ 6 พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 8 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีน้ำหนักสุดท้ายอยู่ในช่วง 7.62–8.14 กรัม/ตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 269.27–297.03 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอยู่ในช่วง 3.11–3.28 เปอร์เซ็นต์/วัน แสดงว่ารูปแบบและระดับต่างๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ใช้เพื่อเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง เนื่องจากอาหารทดลองแต่ละสูตรมีระดับโปรตีน ไขมัน และพลังงานใกล้เคียงกัน ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Floreto และคณะ (2001) ที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากกุ้งเคยที่ระดับ 8.2, 16.4, 32.8, 49.2 และ 65.3 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ส่วนผลการทดลองของวันชัย เกียรติพิมล (2545) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าเคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 1.5 และ 2.2 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร อย่างไรก็ตามถ้าพิจารณาในด้านของอัตราการเจริญเติบโตไม่สามารถบอกได้ว่ารูปแบบและระดับใดของโปรตีนไฮโดรไลเสตเหมาะสมที่สุด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพิจารณาในส่วนของปริมาณอาหารที่กินและประสิทธิภาพการใช้อาหารควบคู่ไปด้วย

5.1.4 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและอัตราการรอดตาย

ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน ดังในตารางที่ 7 พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 มีปริมาณอาหารที่กินสูงที่สุดเท่ากับ 10.98 กรัม/ตัว แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) กับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 10.54 กรัม/ตัว รองลงมาคือกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 6, 5, 2, 1 และ 8 โดยมีปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 10.33, 10.21, 9.84, 9.79, 9.07 และ 8.93 กรัม/ตัว ตามลำดับ แสดงว่าปริมาณอาหารที่กินมีความสัมพันธ์กับระดับโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผสมลงในอาหาร ดังในภาพที่ 3 โดยระดับโปรตีนไฮโดรไลเสตทั้งรูปแบบแห้งและรูปแบบเหลวที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้กุ้งกินอาหารเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณสมบัติเป็นสารดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาวที่ช่วยเพิ่มปริมาณอาหารที่กิน เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ อานัส แซะอาหลี และชุติมา ตันติกิตติ (2551) ที่พบว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตมีความสัมพันธ์ของพฤติกรรมต่อสารดึงดูดการกินอาหารและปริมาณอาหารที่กินและสูงกว่าสูตรควบคุม เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นโปรตีนที่เกิดจากการย่อยสลายด้วยการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งมีปริมาณเปปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนอิสระรวมกันสูงถึง 51.59 เปอร์เซ็นต์ และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนส่วนใหญ่คือ กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก ไกลซีน อะลานีน และไลซีน โดยทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดการกิน

อาหารของกุ้งขาว เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ วันชัย เกียรติพิมล (2545) สุภาพร มหันต์กิจ (2549) และ Chen และคณะ (1992) ที่พบว่าในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีปริมาณ เทอรีน กรดกลูตามิก ไกลซีน ลูซีน และไลซีนสูง สอดคล้องกับการรายงานของ Costero และ Meyers (1993) และ D'Abramo และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าสารดึงดูดการกินอาหารเป็นสารเคมีที่มีโมเลกุลต่ำมีน้ำหนักน้อยกว่า 1,000 ดาลตัน ส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของไนโตรเจน เช่น กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ เปปไทด์ และสารสกัดจากธรรมชาติ โดยผลการศึกษาของ Coman และคณะ (1996) พบว่า เทอรีน ไกลซีน และกลูตามีนทำให้กุ้งกุลาดำมีพฤติกรรมในการตอบสนองต่ออาหารสูง เช่นเดียวกับกลูตาเมตเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งมังกรได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับกรดอะมิโนตัวอื่นๆ (Barbato and Daniel, 1997; Wroblewska *et al.,* 2002) ส่วนลูซีน และไลซีน ดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) และกุ้งคูรูม่า (*Penaeus japonicus*) (D'Abramo *et al*., 1997) และเช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Hartati และ Briggs (1993) ที่พบว่ากรดอะมิโนผสมดึงดูดการกินอาหารของกุ้งกุลาดำได้ดี โดยกรดอะมิโนผสมส่วนใหญ่ประกอบด้วยเทอรีน ไกลซีน และกรดกลูตามิก ซึ่งสารดึงดูดในอาหารช่วยให้กุ้งรับรู้ว่ามีอาหาร ที่มีต่อการยอมรับอาหาร และกินอาหารได้เร็ว (Costero and Meyers, 1993)

ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ควบคุม) ดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8 และ 5 โดยมีค่าเท่ากับ 1.51,1.57 และ 1.62 ตามลำดับ ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 4 และ 7 มีอัตราการแลกเนื้อด้อยกว่าชุดอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 1.83, 1.81 และ 1.91 ตามลำดับ เนื่องจากกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 4 และ 7 มีปริมาณอาหารที่กินสูง แต่มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่ได้สอดคล้องกับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ซึ่งพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.54 กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 และ 8 มีค่ารองลงมา โดยมีค่าเท่ากับ 1.41 และ 1.39 ตามลำดับ ขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 ให้ค่าต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.23 แสดงว่าอาหารสูตรที่ 1, 5 และ 8 มีโปรตีนคุณภาพสูงโดยมีปริมาณกรดอะมิโนที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งดีกว่าโปรตีนที่มีในสูตรอาหารอื่นๆ เนื่องจากอาหารสูตรที่ 1 มีปริมาณปลาป่น 32 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร คิดเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ของแหล่งโปรตีนในอาหาร ซึ่งเกิดจากการแทนที่ด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองป่น 40 เปอร์เซ็นต์ (32 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร) โดยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นชนิดเมทไธโอนีน และไลซีนต่ำ มีเอนไซม์ยับยั้งทริปซิน และไฟเตทซึ่งจะยับยั้งการใช้ประโยชน์จากโปรตีนและแร่ธาตุฟอสฟอรัส ตามลำดับ (Lim and Dominy, 1990; Tacon and Akiyama, 1997) จึงเป็นระดับโปรตีนจากปลาป่นที่น้อยที่สุดที่ให้อัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากอาหารที่มีปริมาณปลาป่นมากกว่านี้ ซึ่งได้จากผลการศึกษาของ Lim และ Dominy (1990) ดังนั้นเมื่อกุ้งได้รับอาหารที่มีปริมาณโปรตีนจากปลาป่นน้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ของแหล่งโปรตีนในอาหาร โดยแทนที่ด้วยโปรตีนจากแหล่งอื่นที่มีปริมาณกรดอะมิโนที่มีความจำเป็นน้อยกว่าปลาป่น จึงมีผลต่อการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหาร การเจริญเติบโตของกุ้งจึงลดลง

ตารางที่ 6 น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์ [1]

สูตรอาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม[4]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)[5]
1 (Control)	2.06±0.04[a]	8.08±0.32[a]	292.38±12.94[a]	3.25±0.08[a]
2 (8% TVHD)[2]	2.06±0.04[a]	7.62±0.27[a]	269.27±12.93[a]	3.11±0.08[a]
3 (12% TVHD)	2.06±0.04[a]	7.70±0.16[a]	273.88±10.74[a]	3.14±0.07[a]
4 (16% TVHD)	2.05±0.04[a]	7.88±0.19[a]	284.17±8.50[a]	3.20±0.05[a]
5 (4% TVHL)[3]	2.06±0.03[a]	8.14±0.18[a]	297.03±14.31[a]	3.28±0.12[a]
6 (8% TVHL)	2.06±0.02[a]	7.87±0.22[a]	282.00±13.31[a]	3.19±0.08[a]
7 (12% TVHL)	2.04±0.03[a]	7.82±0.34[a]	283.42±20.79[a]	3.20±0.13[a]
8 (1.5% betaine)	2.02±0.02[a]	7.73±0.33[a]	282.37±19.3[a]	3.19±0.12[a]

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

[2] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบแห้ง ที่ผสมระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเสต และแป้งสาลีในสัดส่วน 70:30 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง)

[3] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่ารูปแบบเหลว โดยปริมาณที่ใช้คิดบนฐานของ as-fed basis

[4] เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม = [น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว) - น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)]×100 / น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)

[5] อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = $(\ln w_2 - \ln w_1)\times 100/(t_2 - t_1)$

ตารางที่ 7 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตายของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์ [1]

สูตรอาหาร	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)[4]	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ[5]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[6]	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)[7]
1 (Control)	9.07± 0.17^{d}	1.51±0.05^{a}	1.54±0.05^{a}	93.75±2.50^{a}
2 (8% TVHD)[2]	9.79±0.22^{c}	1.77±0.06^{bc}	1.33±0.05^{bc}	93.75±2.50^{a}
3 (12% TVHD)	10.33±0.25^{b}	1.83±0.04^{c}	1.25±0.03^{c}	97.50±2.89^{a}
4 (16% TVHD)	10.54±0.23^{ab}	1.81±0.04^{c}	1.26±0.03^{c}	98.75±2.50^{a}
5 (4% TVHL)[3]	9.84±0.22^{c}	1.62±0.06^{ab}	1.41±0.05^{b}	93.33±2.89^{a}
6 (8% TVHL)	10.21±0.15^{bc}	1.76±0.05^{bc}	1.30±0.04^{bc}	93.75±4.79^{a}
7 (12% TVHL)	10.98±0.16^{a}	1.91±0.11^{c}	1.23±0.07^{c}	96.25±7.50^{a}
8 (1.5% betaine)	8.93±0.15^{d}	1.57±0.08^{a}	1.39±0.07^{b}	95.00±4.08^{a}

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

[2] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบแห้ง ที่ผสมระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเสต และแป้งสาลีในสัดส่วน 70:30 เปอร์เซ็นต์ (บนฐานน้ำหนักแห้ง)

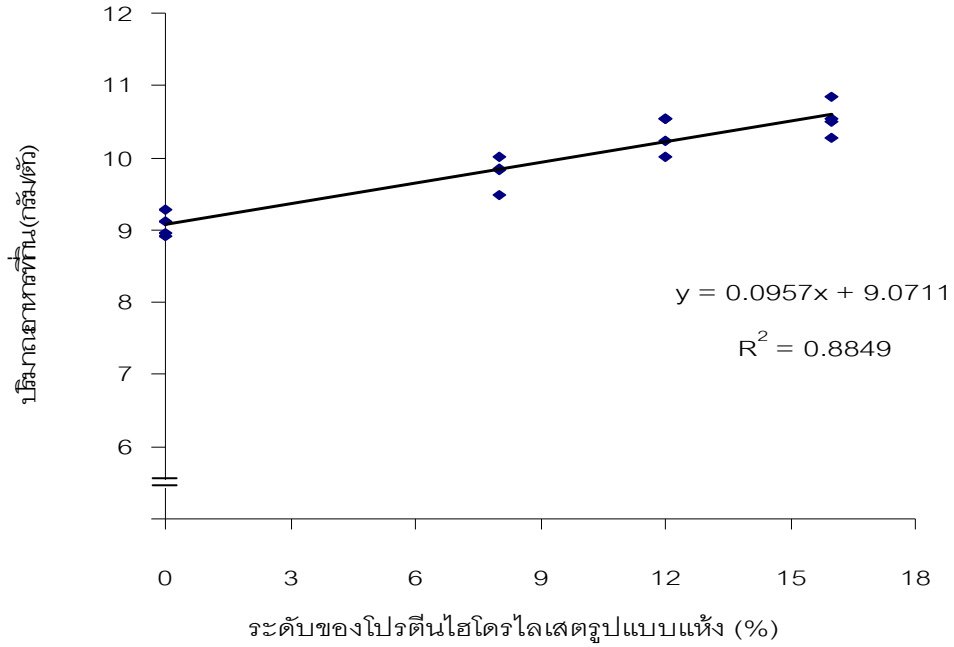
[3] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่ารูปแบบเหลว โดยปริมาณที่ใช้คิดบนฐานของ as-fed basis

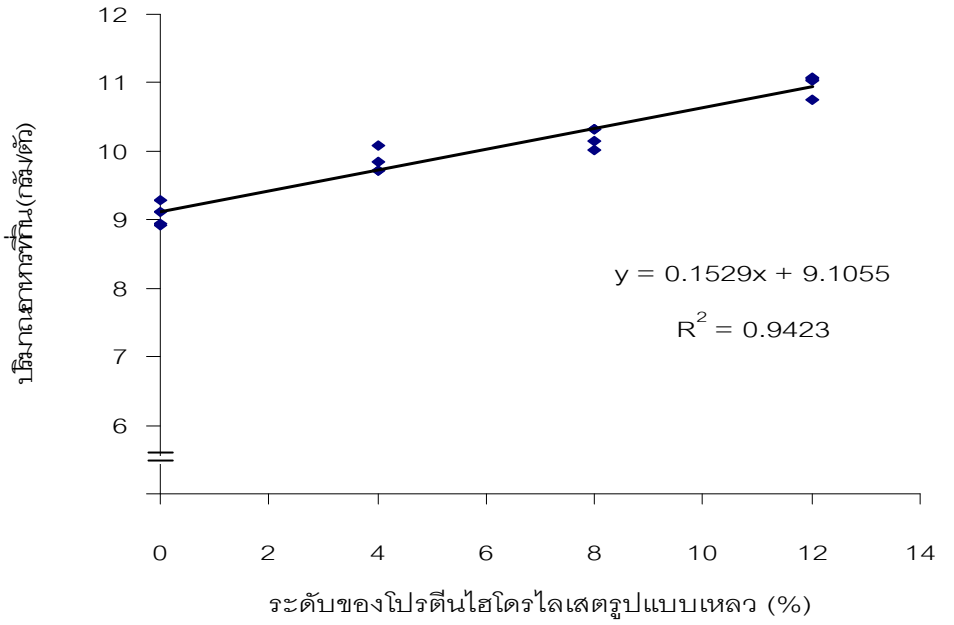
[4] ปริมาณอาหารที่กิน = น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน (กรัม) / จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว)

[5] อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน (กรัม/ตัว) / น้ำหนักกุ้งที่เพิ่ม (กรัม/ตัว)

[6] ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม) / น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกินตลอดการทดลอง (กรัม)

[7] อัตราการรอดตาย = จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว) x 100 / จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)





ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของระดับโปรตีนไฮโดรไลเสตที่เสริมในอาหารต่อปริมาณอาหารที่กินของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ ในการทดลอง 6 สัปดาห์

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผสมในอาหารช่วยดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาวโดยเพิ่มปริมาณอาหารที่กินแต่ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตเมื่อใช้ในปริมาณที่สูงขึ้น เนื่องจากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นชนิด ลูซีน ไลซีน และอาร์จีนีนที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีปริมาณต่ำกว่าในปลาป่น เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ สุภาพร มหันต์กิจ (2549) และ วันชัย เกียรติพิมล (2545) ที่พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ามีกรดอะมิโนชนิด ลูซีน ไลซีน และอาร์จีนีนต่ำกว่าในปลาป่น ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่กุ้งขาวต้องการสูง โดยกุ้งขาวต้องการกรดอะมิโนชนิด ลูซีน ไลซีน และอาร์จินีน สูงถึง 5.4, 5.3 และ 5.8 เปอร์เซ็นต์ของระดับโปรตีนในอาหาร (Akiyama *et al.,* 1991) ใกล้เคียงกับความต้องการของกุ้งกุลาดำที่ต้องการลูซีน ไลซีน และอาร์จีนีน 4.3, 5.2 และ 5.3 เปอร์เซ็นต์ของระดับโปรตีนในอาหาร (Millamena *et al.,* 1998) ดังนั้นเมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ามาใช้ในปริมาณสูงขึ้นต้องไปลดปริมาณปลาป่นลงเพื่อให้ปริมาณโปรตีนรวมในอาหารที่ได้เท่าเดิมเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม จึงมีผลทำให้สัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นมีความไม่สมดุลเพิ่มมากขึ้น โดยความไม่สมดุลสูงที่สุดเมื่อใช้ที่ระดับ 12 เปอร์เซ็นต์โดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหาร และ 16 เปอร์เซ็นต์โดยการผสมรวมในอาหาร โดยจากการคำนวณระดับกรดอะมิโนที่จำเป็นที่มีในปลาป่นจากผลการวิเคราะห์ของ ปรเมษฐ์ มุสิการุณ (2550) ในสูตรที่ 1 (ปลาป่นที่ใช้คุณภาพใกล้เคียงกัน) เปรียบเทียบกับสูตรทดลองที่ใช้ปลาป่นร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตรูปแบบและระดับต่างๆ ดังในตารางที่ 8 พบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในปริมาณที่สูงขึ้นปริมาณกรดอะมิโนชนิด อาร์จีนีน ไลซีน และลูซีนลดลงเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ซึ่งไม่เพียงพอต่อความต้องการของกุ้ง ทำให้การเจริญเติบโตต่ำ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Tan และคณะ (2005) รายงานว่าเนื้อและกระดูกป่นเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารกุ้งขาวได้ 60 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสูตรที่แทนที่ 80 เปอร์เซ็นต์ อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนลดลง เนื่องจากเนื้อและกระดูกป่นมีกรดอะมิโนชนิด เมทไธโอนีน ซีสตีน และไลซีนต่ำ ไม่เพียงพอต่อความต้องการของกุ้ง เช่นเดียวกับในปลา red drum ที่ได้รับอาหารที่มีหัวกุ้งป่นแทนที่ปลาป่น พบว่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำเนื่องจากหัวกุ้งป่นมีปริมาณไลซีนและเมทไธโอนีนต่ำ (Li *et al.,* 2004) ส่วน Fanimo และคณะ (2000) พบว่าโปรตีนของเศษเหลือจากการแปรรูปกุ้งมีคุณภาพด้อยกว่าโปรตีนในปลาป่น และการเสริมไลซีนและเมทไธโอนีนทำให้คุณภาพของโปรตีนในหัวกุ้งป่นดีขึ้น ซึ่งในการผลิตอาหารกุ้งสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง นอกจากอาหารมีคุณสมบัติในการกระตุ้นและดึงดูดการกินอาหารเพื่อให้กุ้งกินอาหารได้รวดเร็วแล้วอาหารต้องมีองค์ประกอบของสารอาหารที่จำเป็นเพียงพอกับความต้องการของกุ้งในแต่ละชนิดและแต่ละขนาด

อัตราการรอดตายของกุ้ง พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 93.33-98.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการตายของกุ้งส่วนใหญ่จะตายหลังการลอกคราบ เนื่องจากถูกกุ้งตัวอื่นกัดกินเป็นอาหาร และในช่วงที่มีการชั่งน้ำหนักในทุกๆ 2 สัปดาห์ ที่สุ่มชั่ง 5 ตัว/ตู้ เนื่องจากการลอกคราบเป็นช่วงที่กุ้งมีความอ่อนแอมากที่สุด โดยกุ้งเคลื่อนที่ช้า ตัวนิ่ม เปลือกใหม่ยังไม่แข็ง จึงอาจถูกสัตว์พวกเดียวกันกินเป็นอาหารได้ (ประจวบ หลำอุบล, 2527)

ตารางที่ 8 ระดับกรดอะมิโนที่จำเป็นที่มีในปลาป่น (สูตร 1 และ 8) และในปลาป่นร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่า (สูตร 2-7) (กรัม/100 กรัม ของอาหาร)

กรดอะมิโน[1]	สูตรอาหาร							
	1	2	3	4	5	6	7	8
อาร์จีนีน	1.24	1.01	0.90	0.78	1.07	0.90	0.74	1.24
ฮิสตีดีน	0.78	0.75	0.74	0.72	0.75	0.72	0.69	0.78
ไลซีน	1.60	1.49	1.43	1.38	1.52	1.45	1.37	1.60
ลูซีน	1.62	1.48	1.41	1.34	1.52	1.43	1.33	1.62
ไอโซลิวซีน	0.73	0.72	0.72	0.72	0.71	0.70	0.68	0.73
เมทไธโอนีน	0.51	0.50	0.49	0.49	0.49	0.47	0.45	0.51
ฟีนิลอะลานีน	0.91	0.86	0.83	0.80	0.86	0.81	0.76	0.91
ทรีโอนีน	0.94	0.93	0.93	0.92	0.91	0.88	0.85	0.94
ทริปโตเฟน	0.13	-	-	-	-	-	-	0.13
วาลีน	0.86	0.86	0.86	0.86	0.85	0.84	0.84	0.86

[1] ปริมาณกรดอะมิโนที่มีในปลาป่นได้จากผลการวิเคราะห์ของ ปรเมษฐ์ มุสิการุณ (2550) และปริมาณกรดอะมิโนที่มีในโปรตีนไฮโดรไลเสตทั้งรูปแบบแห้งและรูปแบบเหลวได้จากผลการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC (High performance liquid chromatography) โดยการส่งวิเคราะห์ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

5.1.5 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวกุ้งขาวก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังในตารางที่ 9 พบว่ากุ้งขาวก่อนการทดลองมีความชื้น 78.37 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 16.74 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.04 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 3.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งหลังเสร็จการทดลองพบว่า มีความชื้นอยู่ในช่วง 75.50-76.32 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ควบคุม) มีความชื้นน้อยที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8 มีความชื้นสูงที่สุด ส่วนปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าของตัวกุ้งที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 17.59-18.18 เปอร์เซ็นต์ ไขมันอยู่ในช่วง 1.93-2.28 เปอร์เซ็นต์ และเถ้าอยู่ในช่วง 2.79-2.99 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าทั้งรูปแบบเหลวและรูปแบบแห้งที่ทุกระดับ ไม่ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งแตกต่างกัน สอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโต ที่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารทั้ง 8 สูตร มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับผลการทดลองของ ระพีพรรณ เลาหบรรจง (2549) ที่พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำหลังการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ สัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีของตัวกุ้ง

เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีนและไขมันของกุ้งก่อนและหลังทดลองที่พบว่าปริมาณโปรตีนและไขมันของกุ้งเริ่มต้นทดลองมีปริมาณน้อยกว่ากุ้งหลังทดลอง เนื่องจากกุ้งหลังทดลองมีการกินอาหารที่ดีจึงมีการสะสมของสารอาหารประเภทโปรตีนและไขมันสูง

ตารางที่ 9 องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบและระดับต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	องค์ประกอบทางเคมี			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
กุ้งก่อนทดลอง	78.37±0.57	16.74±0.53	1.04 ±0.06	3.22±0.10
1 (Control)	75.50±0.20 [b1]	18.18±0.28[a]	2.28±0.29[a]	2.79±0.07[a]
2 (8% TVHD)[2]	76.13±0.36[ab]	17.82±0.42[a]	2.07±0.13[a]	2.85±0.05[a]
3 (12% TVHD)	75.73±0.11[ab]	18.01±0.30[a]	1.96±0.08[a]	2.91±0.11[a]
4 (16% TVHD)	75.72±0.30[ab]	18.00±0.12[a]	1.93±0.16[a]	2.99±0.10[a]
5 (4% TVHL)[3]	75.92±0.37[ab]	17.59±0.47[a]	2.25±0.26[a]	2.85±0.10[a]
6 (8% TVHL)	75.80±0.38[ab]	17.81±0.29[a]	2.09±0.23[a]	2.98±0.13[a]
7 (12% TVHL)	75.72±0.40[ab]	17.77±0.53[a]	2.20±0.13[a]	2.97±0.04[a]
8 (1.5% betaine)	76.32±0.39[a]	17.62±0.23[a]	2.07±0.12[a]	2.82±0.14[a]

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ของตัวอย่าง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่ารูปแบบแห้ง

[3] โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่ารูปแบบเหลว โดยปริมาณที่ใช้บนฐานของ as-fed basis

5.1.6 คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดการทดลอง พบว่าอุณหภูมิมีค่าอยู่ระหว่าง 26-31 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด–ด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 7.42-8.23 ความเป็นด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 110-152 มิลลิกรัม/ลิตร ความเค็มมีค่าอยู่ระหว่าง 14-19 ส่วนในพัน แอมโมเนียมีค่าอยู่ระหว่าง 0.22-0.76 มิลลิกรัม/ลิตร ไนไตรท์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.02-0.17 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณแบคทีเรียในน้ำ ชนิดสีเขียวมีค่าอยู่ระหว่าง 180-980 โคโลนี/มล.สีเหลืองมีค่าอยู่ระหว่าง 10-820 โคโลนี/มล. แพลงก์ตอนที่พบ คือ *Microcystis* sp., *Cosinodiscus* sp., *Gymnodinium* sp., *Gyrodinium* sp. และ *Vorticella* sp. ในปริมาณน้อยถึงปานกลาง ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งขาว (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง, ข้อมูลยังไม่ได้มีการตีพิมพ์)

5.2 การทดลองที่ 2 การแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่าง ๆ ในอาหารที่เสริมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่า

5.2.1 การเจริญเติบโต

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวระยะเวลา 8 สัปดาห์ ด้วยอาหารต่างกัน 5 สูตร คือ สูตรที่ 1 สูตรควบคุม สูตรที่ 2-5 มีฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่น 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอาหารทุกสูตรใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พบว่าอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักสุดท้ายของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 สูงที่สุดโดยมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เท่ากับ 10.23 กรัม/ตัว ดังในตารางที่ 10 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จากกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2-5 โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เท่ากับ 8.80, 7.82, 6.22 และ 6.19 กรัม/ตัว ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ที่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 375.27 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2-5 มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 311.33, 264.21, 191.63 และ 190.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ที่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 2.78 เปอร์เซ็นต์/วัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2-5 ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 2.52, 2.31, 1.91 และ 1.90 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของกุ้งลดลงเมื่อมีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่เพิ่มสูงขึ้น โดยมีความสัมพันธ์ตรงกันข้าม เมื่อใช้สมการถดถอยหาระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่เหมาะสม พบว่าระดับที่เหมาะสม คือ 5–6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่มีอัตราการเจริญเติบโต คือ น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม ($P>0.05$) ดังในภาพที่ 4 โดยพบว่าสามารถใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นได้น้อย ถึงแม้ว่าอาหารทดลองทุกสูตรมีการปรับระดับกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ เมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีนที่มีอยู่ในปริมาณน้อยให้มีระดับใกล้เคียงกับสูตรควบคุม ซึ่งพบว่าในฮีโมโกลบินป่นมีโปรตีนและกรดอะมิโนชนิด ไลซีน และ ลูซีนสูง แต่มีกรดอะมิโนชนิด เมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีนต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่น (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000; EUROTEC NUTRITION (Thailand), 2006) ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของ Lee และ Bai (1997) ซึ่งพบว่าการเสริมกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ เมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีน ในอาหารปลา Japanese eel ขนาด 6 กรัม ที่มีการใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่น พบว่าสามารถแทนที่ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารที่ไม่เสริมกรดอะมิโนมีการแทนที่ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Booth และคณะ (2005) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยเสมือน (Apparent Digestibility Coefficient, ADC) ของฮีโมโกลบินป่นในอาหารปลา Australian snapper พบว่าฮีโมโกลบินป่นมีสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนสูงใกล้เคียงกับปลาป่นเท่ากับ 95.1 และ 94.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสูงกว่าเลือดป่นซึ่งมีสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนเพียง 81.6 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนอย่างเดียวไม่สามารถบอกได้ว่าวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนชนิดดังกล่าวกุ้งสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตได้ดีหรือไม่

ตารางที่ 10 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

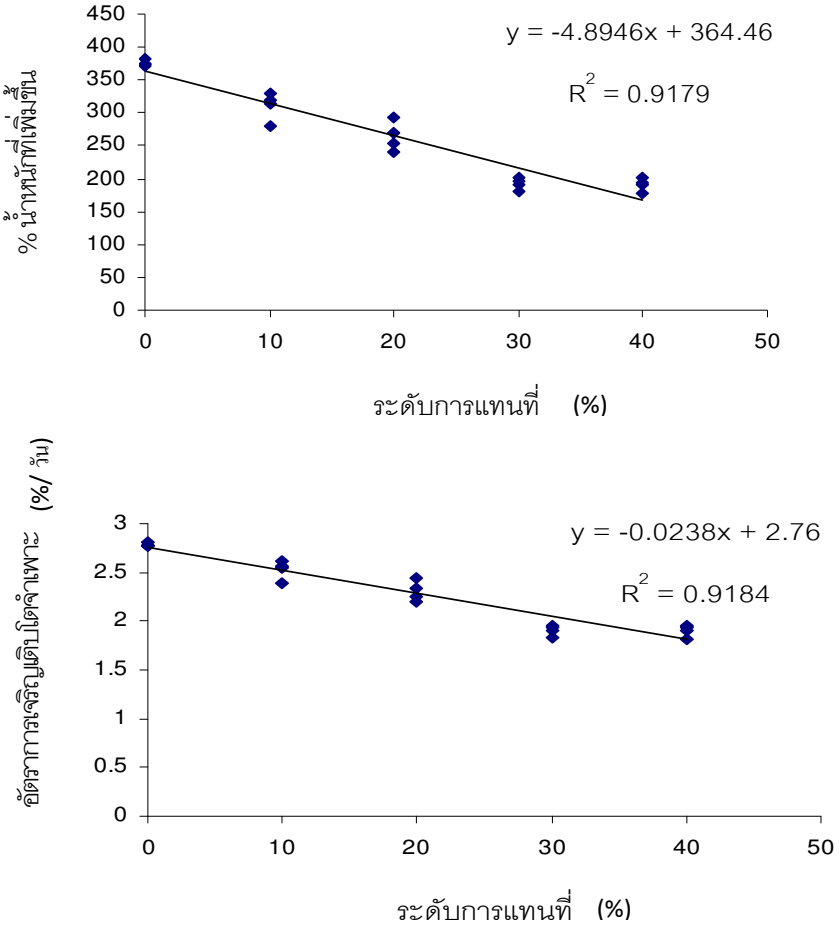
สูตรอาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม[3]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)[4]
1 (สูตรควบคุม)	2.15±0.04	10.23±0.19[a]	375.27±4.20[a]	2.78±0.02[a]
2 (10 เปอร์เซ็นต์)[2]	2.14±0.02	8.80±0.51[b]	311.33±21.22[b]	2.52±0.09[b]
3 (20 เปอร์เซ็นต์)	2.15±0.03	7.82±0.53[c]	264.21±22.45[c]	2.31±0.11[c]
4 (30 เปอร์เซ็นต์)	2.13±0.02	6.22±0.18[d]	191.63±8.42[d]	1.91±0.05[d]
5 (40 เปอร์เซ็นต์)	2.13±0.02	6.19±0.17[d]	190.40±9.84[d]	1.90±0.06[d]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

[2] ระดับของการ แทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น

[3] เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม = [น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)-น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)]×100 / น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)

[4] อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = $(\ln w_2 - \ln w_1)\times 100/(t_2 - t_1)$



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น กับเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ข้อสังเกตของการใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งขาวสามารถแทนที่ได้น้อยอาจเกิดจาก 4 สาเหตุด้วยกัน คือ

1. การเป็นปฏิปักษ์ของกรดอะมิโนชนิดจำเป็น (antagonism) เนื่องจากพบว่ากรดอะมิโนที่จำเป็นและไม่จำเป็นบางชนิดมีผลต่อความต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็นที่มีโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายคลึงกัน และมีบทบาทในกระบวนการเมตาบอลิซึมในแง่ของการยับยั้งและแข่งขันกันทำปฏิกิริยา (ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2548; Asgard and Austreng, 1986; Millamena *et al.,* 1999) โดยลูซีนกับ ไอโซลิวซีนและวาลีน และอาร์จีนีน กับ ไลซีน มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน จึงอาจเป็นปฏิปักษ์ต่อกัน ซึ่งในฮีโมโกลบินป่นมีปริมาณกรดอะมิโนชนิด ลูซีน ไลซีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน และฮิสตีดีนสูง (15.10, 9.90, 8.50, 8.00 และ 7.00 กรัม/100 กรัมโปรตีน ตามลำดับ) แต่มีปริมาณ เมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีนต่ำ (1.40, 0.30 และ 4.00 กรัม/100 กรัมโปรตีน ตามลำดับ) (Asgard and Austreng, 1986; Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000; EUROTEC NUTRITION (Thailand),

2006) ซึ่งเมื่อผสมในอาหารระดับต่างๆ พบว่าปริมาณเมทไธโอนีน ไอโซลิวซีน และอาร์จีนีนลดลงเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ซึ่งแก้ปัญหาโดยการเสริมกรดอะมิโนทั้ง 3 ชนิดในปริมาณใกล้เคียงกับสูตรควบคุม ขณะเดียวกันปริมาณลูซีน ไลซีน วาลีน ฟีนิลอลานีน และฮิสตีดีนสูงขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม โดยอาจส่งผลเสียดังนี้ คือ ปริมาณลูซีนที่สูงเกินไปจะไปยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของไอโซลิวซีน และวาลีน อาจทำให้กุ้งมีความต้องการไอโซลิวซีน และวาลีนเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการแทนที่ด้วยฮีโมโกลบินป่นเพิ่มมากขึ้น เพราะสัดส่วนของกรดอะมิโนที่เกินและขาดจะเพิ่มมากขึ้นตามระดับการแทนที่ ดังเช่นจากการทดลองในหนู ไก่ หมู และปลา Chinook salmon พบว่าระดับลูซีนที่เพิ่มขึ้นทำให้ความต้องการไอโซลิวซีนเพิ่มขึ้นตามด้วย (Chance *et al.,* 1964; D'Mello and Lewis, 1970; Harper *et al.,* 1955; Oestemer *et al.,* 1973 อ้างโดย Asgard and Austreng, 1986) เช่นเดียวกับปริมาณไลซีนที่เพิ่มสูงขึ้นอาจเป็นปฏิปักษ์ต่ออาร์จีนีน ซึ่งจากการศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ปีก และปลา พบว่าระดับไลซีนที่เพิ่มขึ้นทำให้ความต้องการอาร์จีนีนเพิ่มขึ้นตามด้วย (Harper *et al.,* 1970; Kaushik and Fauconneau, 1984 อ้างโดย ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2548) ซึ่งจากผลการศึกษาของ Akiyama และคณะ (1991) พบว่ากุ้งขาวต้องการกรดอะมิโนชนิด ไอโซลิวซีน อาร์จีนีน วาลีน ไลซีน และลูซีน เท่ากับ 3.5, 5.8, 4.0, 5.3 และ 5.4 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน ตามลำดับ ส่วนผลการทดลองของ Millamena และคณะ (1996,1998,1999) พบว่ากุ้งกุลาดำต้องการกรดอะมิโนชนิด ไอโซลิวซีน อาร์จีนีน วาลีน ไลซีน และลูซีน เท่ากับ 2.7, 5.3, 3.5, 5.2 และ 4.3 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนตามลำดับ และพบว่าระดับกรดอะมิโนที่น้อยและมากเกินความต้องการมีผลต่อการลดการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ และนักวิจัยยังได้วิจารณ์อีกว่าอาหารที่มีส่วนผสมของไอโซลิวซีน หรือลูซีนในระดับที่สูงเกินความต้องการอาจมีผลต่อการเป็นปฏิปักษ์ของกรดอะมิโนชนิดดังกล่าวที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง แต่จากผลการศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของกรดอะมิโนอาร์จีนีนและไลซีนต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง ไม่พบการเป็นปฏิปักษ์ของอาร์จีนีน และไลซีน (ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2548) นอกจากนั้นอาหารที่มีปริมาณกรดอะมิโนสูงเกินไปก่อให้เกิดพิษต่อเนื้อเยื่อกุ้ง โดยผลการศึกษาของ Recodo (1991) อ้างโดย Millamena และคณะ (1998) พบว่าอาหารที่มีปริมาณฮิสตีดีนสูงเกินไปมีผลต่อการตายของเนื้อเยื่อตับของกุ้งกุลาดำ

2. การสูญเสียของกรดอะมิโนที่ละลายในน้ำได้ ดังเช่นจากการทดลองของ Lim (1993) พบว่าอาหารกุ้งที่มีการเสริมกรดอะมิโนมีการสูญเสียกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็นหลังจากการแช่น้ำ 1 ชั่วโมงประมาณร้อยละ 26.5 ของปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร ขณะที่อาหารสูตรที่มีกุ้งป่นเป็นแหล่งโปรตีนมีการสูญเสียกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็นร้อยละ 2 ของปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร นอกจากนั้นเนื่องจากพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งที่กินอาหารแบบกัดแทะไปจนกว่าจะกินอาหารหมดเม็ดทำให้เม็ดอาหารแตกมีการละลายและสูญเสียของกรดอะมิโนสูง กุ้งจึงได้รับกรดอะมิโนที่เสริมน้อย ซึ่งแตกต่างจากปลาที่มีการกินอาหารแบบทั้งเม็ดในเวลาเดียวอย่างรวดเร็ว

3. การดูดซึมกรดอะมิโนสังเคราะห์เกิดขึ้นในอัตราที่รวดเร็วกว่าการดูดซึมกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยโปรตีนจากธรรมชาติ ซึ่งความแตกต่างของอัตราการดูดซึมกรดอะมิโนจากแหล่งต่างๆ นี้ ทำให้องค์ประกอบและระดับของกรดอะมิโนอิสระในร่างกายไม่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์

โปรตีน ส่งผลให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งไม่ดี (ชุติมา ตันติกิตติ และคณะ, 2546)

4. นอกจากนั้นอาจเกิดจากการมีปริมาณธาตุเหล็กในอาหารมากเกินไปทำให้เกิดพิษ โดยธาตุเหล็กที่มีในฮีโมโกลบินปน ซึ่งฮีโมโกลบินเป็นโปรตีนที่อยู่ในรูปก้อนกลม (globular protein) ประกอบด้วยส่วนของฮีม และโกลบิน ซึ่งในส่วนของฮีมประกอบด้วยธาตุเหล็ก พบว่าอาหารที่มีธาตุเหล็กมากเกินไปทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งคูรูม่าลดลง (Deshimaru and Yone, 1978; Kanazawa *et al.,* 1984 อ้างโดย วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2541) โดยปริมาณธาตุเหล็กที่มีสูงเกินไปอาจเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เช่น ส่งผลให้เกิดการตกเลือดและติดเชื้อ (วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2541) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Fowler และ Banks (1976) อ้างโดย Asgard และ Austreng (1986) ที่พบว่าการแทนที่ปลาป่นด้วยเลือดป่นแบบสเปรย์แห้งในอาหารลูกปลา chinook salmon ให้ผลการเจริญเติบโตดีเมื่อแทนที่ 5 เปอร์เซ็นต์ แต่มีผลต่อพยาธิสภาพของปลาเมื่อแทนที่ 17.5 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เช่นเดียวกับสัตว์ในกลุ่ม amphipods ที่พบว่าถ้าได้รับ Cu, Fe, Pb และ Zn ในปริมาณสูงเกินไป จะส่งผลทำให้ลดการเจริญเติบโต (Rainbow and Moore, 1986)

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่าระดับการใช้ฮีโมโกลบินป่นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารกุ้งมีระดับใกล้เคียงกับการใช้เลือดป่น ในขณะที่เลือดป่นและฮีโมโกลบินป่นมีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน โดยเลือดป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเลือดสัตว์มาผ่านกระบวนการทำแห้งซึ่งมีหลายวิธี เช่น สเปรย์ดราย (Dominy and Ako, 1988) ส่วนฮีโมโกลบินป่นมีกระบวนการผลิตโดยการนำเลือดมาปั่นแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นแหล่งของฮีโมโกลบินออกจากพลาสมา หลังจากนั้นนำส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดงมาทำแห้งโดยการสเปรย์ดราย (EUROTEC NUTRITION (Thailand), 2006) โดยจากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยเสมือนของโปรตีนในอาหารปลา Australian snapper พบว่าเลือดป่นมีค่า เท่ากับ 81.6 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ฮีโมโกลบินป่นมีค่า เท่ากับ 95.1 เปอร์เซ็นต์ แต่ในด้านของปริมาณและคุณภาพของโปรตีน พบว่าเลือดป่นและฮีโมโกลบินป่นมีโปรตีนสูง และมีปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดใกล้เคียงกัน โดยเลือดป่นและฮีโมโกลบินป่นมีปริมาณไลซีน ลูซีน วาลีน และฮิสตีดีนสูง แต่มีอาร์จีนีน ไอโซลิวซีน และเมทไธโอนีนต่ำ (Asgard and Austreng, 1986; Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) ด้วยเหตุนี้การใช้ผสมในอาหารกุ้งในปริมาณสูงจึงมีผลต่อการขาดกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็นซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามชนิดของสัตว์น้ำมีผลต่อระดับการใช้ โดยจากผลการศึกษาของ Dominy และ Ako (1988) พบว่าสามารถใช้เลือดป่นในอาหารกุ้งขาวขนาด 3-4 กรัมได้ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร แต่การใช้เลือดป่นในอาหารปริมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้ง *Penaeus californiensis* ลดลง (Brand and Colvin, 1977 อ้างโดย Dominy and Ako, 1988) และสามารถใช้เลือดป่นเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลานิลได้ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร (Otubusin, 1987) ส่วนฮีโมโกลบินป่นพบว่าสามารถแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลา Japanese eel ได้ 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่เสริมและเสริมกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็นตามลำดับ (Lee and Bai, 1997)

5.2.2 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตาย

ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตาย ดังในตารางที่ 11 พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีปริมาณอาหารที่กินสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกับสูตรที่ 2 โดยมีค่าเท่ากับ 13.77 และ 12.91 กรัม/ตัว ตามลำดับ รองลงมาคือกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 4 และ 5 โดยมีค่าเท่ากับ 12.50, 11.02 และ 10.65 กรัม/ตัว ตามลำดับ โดยการใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งขาวทำให้ปริมาณอาหารที่กินลดลงเมื่อมีการแทนที่เพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Lee และ Bai (1997) พบว่าการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นในระดับสูงมีผลต่อการลดความอยากกินอาหารของปลา Japanese eel เนื่องจากปลาป่นเป็นวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณกรดอะมิโนชนิดไลซีน เมทไธโอนีน และทริปโตเฟนสูง เป็นแหล่งของวิตามินบีรวม โดยเฉพาะวิตามินบี 12 วิตามินบี 2 (riboflavin) และโคลีน (choline) นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นปัจจัยเสริมการเจริญเติบโต (growth factor) เป็นแหล่งของแคลเซียมและฟอสฟอรัส (แพรวพรรณ ห้องทองแดง และดรุณี กอเซาะ, 2542) และช่วยเพิ่มความอยากกินอาหาร ดังนั้นการผลิตอาหารกุ้งโดยส่วนใหญ่จึงใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก (Samocha *et al*., 2004; Alberto *et al.,* 2006)

ซึ่งปริมาณอาหารที่กุ้งกินมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยอาหารที่กุ้งกินได้ในปริมาณสูงทำให้มีการเจริญเติบโตดี ส่วนอาหารที่กุ้งกินในปริมาณน้อยทำให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ สอดคล้องกับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ซึ่งพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของอาหารสูตรที่ 1 ดีที่สุดและไม่มีความแตกต่างกับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 โดยมีค่าเท่ากับ 1.70 และ 1.96 ตามลำดับ ส่วนสูตรที่ 3-5 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 2.21, 2.70 และ 2.63 ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีความสัมพันธ์ในเชิงผกผันกับระดับการแทนที่ โดยสูตรอาหารที่มีการแทนที่สูงทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนลดลง โดยสูตรที่ 1 มีค่าสูงที่สุด ($P<0.05$) เท่ากับ 1.30 ส่วนสูตรที่ 2-5 มีค่าลดลงเท่ากับ 1.13, 1.00, 0.82 และ 0.84 ตามลำดับ แสดงว่าอาหารที่มีการใช้ฮีโมโกลบินป่นแทนที่โปรตีนจากปลาป่นที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้กุ้งกินอาหารและใช้ประโยชน์จากอาหารน้อยลง เมื่อใช้สมการการถดถอยหาระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น พบว่าระดับที่เหมาะสม คือ 7-8 เปอร์เซ็นต์ ที่ทำให้ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม ($P>0.05$) ดังในภาพที่ 5 เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อย ซึ่งถ้ามีการศึกษาจะสามารถอธิบายเหตุผลในส่วนของการย่อยได้ ซึ่งอาหารกุ้งที่ดีและมีประสิทธิภาพจะต้องมีสารอาหารที่กุ้งต้องการเพียงพอกับความต้องการ อาหารไม่เป็นพิษ กุ้งมีประสิทธิภาพการใช้อาหารและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูง และอาหารมีความน่ากินที่ทำให้กุ้งกินอาหารได้สูง จึงจะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งสูง

ส่วนอัตราการรอดตายของกุ้งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 78.75-83.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการตายของกุ้งส่วนใหญ่จะตายหลังการลอกคราบ เนื่องจากถูกกุ้งตัวอื่นกัดกินเป็นอาหาร เพราะการลอกคราบเป็นช่วงที่กุ้งมีความอ่อนแอมากที่สุด โดยกุ้งเคลื่อนที่ช้า ตัวนิ่ม เปลือกใหม่ยังไม่แข็ง จึงอาจถูกกุ้งตัวอื่นกัดกินเป็นอาหารได้ (ประจวบ หลำอุบล, 2527)

ตารางที่ 11 ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการรอดตายของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)[3]	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ[4]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[5]	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)[6]
1 (สูตรควบคุม)	13.77±0.68^{a}	1.70±0.06^{a}	1.30±0.04^{a}	83.75±11.09^{a}
2 (10 เปอร์เซ็นต์)[2]	12.91±0.32^{ab}	1.96±0.10^{ab}	1.13±0.06^{b}	78.75±4.79^{a}
3 (20 เปอร์เซ็นต์)	12.50±0.27^{b}	2.21±0.19^{b}	1.00±0.08^{c}	82.50±5.00^{a}
4 (30 เปอร์เซ็นต์)	11.02±0.31^{c}	2.70±0.10^{c}	0.82±0.03^{d}	83.75±4.79^{a}
5 (40 เปอร์เซ็นต์)	10.65±0.58^{c}	2.63±0.12^{c}	0.84±0.04^{d}	81.25±2.50^{a}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4) ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

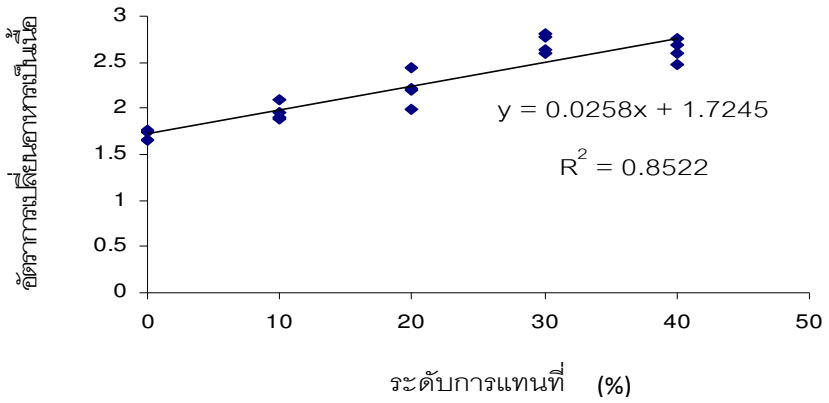
[2] ระดับของการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น

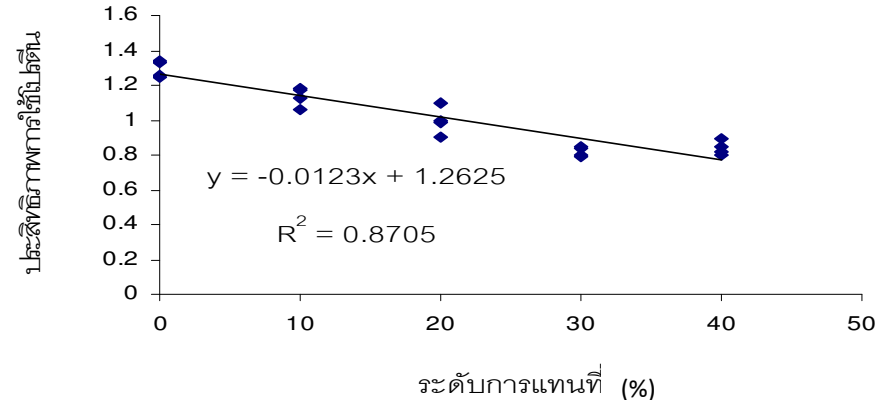
[3] ปริมาณอาหารที่กิน = น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน (กรัม)/จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว)

[4] อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน (กรัม/ตัว)/น้ำหนักกุ้งที่เพิ่ม (กรัม/ตัว)

[5] ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)/ น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกินตลอดการทดลอง (กรัม)

[6] อัตราการรอดตาย = จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว) x 100/จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)





ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ของระดับการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น กับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

5.2.3 องค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกุ้งขาวก่อนการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังในตารางที่ 12 พบว่ากุ้งขาวก่อนการทดลองมีความชื้น 78.44 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 15.26 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.10 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 3.06 เปอร์เซ็นต์ ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งหลังเสร็จการทดลองมีปริมาณความชื้น โปรตีน และเถ้าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 77.15-77.98, 16.68-17.16 และ 2.56- 2.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 1.14-1.68 เปอร์เซ็นต์ โดยไขมันของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีปริมาณสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.68 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณไขมันที่ได้มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตที่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 มีค่าสูงที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับปริมาณโปรตีนและไขมันของกุ้งเริ่มต้นทดลองที่มีน้อยกว่ากุ้งหลังการทดลองเนื่องจากกุ้งหลังการทดลองมีการกินอาหารที่ดีจึงมีการสะสมของสารอาหารประเภทโปรตีนและไขมันสูง

5.2.4 คุณภาพน้ำในตู้ทดลอง

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลอง พบว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25.5-31.0 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด–ด่างอยู่ในช่วง 7.78-8.31 ความเป็นด่างอยู่ในช่วง 76-112 มิลลิกรัม/ลิตร ความเค็มอยู่ในช่วง 7-10 ส่วนในพัน แอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.17-0.57 มิลลิกรัม/ลิตร ไนไตรท์อยู่ในช่วง 0-0.15 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณแบคทีเรียในน้ำ ชนิดสีเขียวอยู่ในช่วง 0-240 โคโลนี/มล. ชนิดสีเหลืองอยู่ในช่วง 0-330 โคโลนี/มล. ชนิดของแพลงก์ตอนที่พบ คือ *Microcystis* sp., *Chaetoceros* sp., *Oscillatoria* sp., *Cosinodiscus* sp., *Gymnodinium* sp., *Gyrodinium* sp. และ *Vorticella* sp. ปริมาณน้อย ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งขาว (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสตูล สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง, ข้อมูลยังไม่ได้มีการตีพิมพ์)

ตารางที่ 12 องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	องค์ประกอบทางเคมี			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
กุ้งก่อนทดลอง	78.44±0.45	15.26±0.49	1.10±0.07	3.06±0.04
1 (สูตรควบคุม)	77.15±0.81[a1]	17.16±0.55[a]	1.68±0.37[a]	2.62±0.05[a]
2 (10 เปอร์เซ็นต์)[2]	77.33±0.80[a]	17.12±0.28[a]	1.42±0.13[ab]	2.66±0.16[a]
3 (20 เปอร์เซ็นต์)	77.98±0.43[a]	16.68±0.30[a]	1.22±0.20[b]	2.56±0.11[a]
4 (30 เปอร์เซ็นต์)	77.95±0.58[a]	16.82±0.24[a]	1.14±0.10[b]	2.73±0.08[a]
5 (40 เปอร์เซ็นต์)	77.68±0.73[a]	16.74±0.56[a]	1.38±0.06[ab]	2.64±0.16[a]

[1]ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ของตัวอย่าง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05)

[2]ระดับของการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น

6. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

1. เครื่องในรวมปลาทูน่าที่นำมาใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต มีปริมาณโปรตีน 69.42 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 19.32 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 6.29 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในรวมปลาทูน่าที่ใช้ใน 2 การทดลองมีปริมาณโปรตีน 80.32 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.73 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 6.52 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ทำแห้งโดยการผสมแป้งสาลี 30 เปอร์เซ็นต์ มีความชื้น 5.52 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 52.36 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.38 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 4.94 เปอร์เซ็นต์

2. การศึกษารูปแบบและระดับที่เหมาะสมของโปรตีนไฮโดรไลเสตต่อการดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งขาว พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 ที่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตในรูปแบบ

เหลวโดยการสเปรย์เคลือบเม็ดอาหารที่ระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เป็นรูปแบบและระดับที่เหมาะสมบนพื้นฐานของการเจริญเติบโต อัตราการรอด ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การดึงดูดและกระตุ้นการกินอาหาร และความสะดวกในการใช้

3. การแทนที่โปรตีนในปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับ 0, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งลดลงตามระดับการแทนที่ที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) โดยพบว่ามีน้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 10.23 กรัม/ตัว 375.27 เปอร์เซ็นต์ 2.78 เปอร์เซ็นต์/วัน 13.77 กรัม/ตัว และ 1.30 ตามลำดับ ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าดีที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.70 และ 1.96 ตามลำดับ และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยมีค่าอยู่ในช่วง 78.75-83.75 เปอร์เซ็นต์

4. เมื่อใช้สมการการถดถอยหาระดับการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่น พบว่าสามารถแทนที่ได้ 5-8 เปอร์เซ็นต์ ที่ทำให้น้ำหนักตัวสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนไม่มีความแตกต่างจากสูตรควบคุม

ข้อเสนอแนะ

1. การนำวัตถุดิบมาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นควรคำนึงถึง ปัจจัยที่สำคัญได้แก่ ความสมดุลย์ของกรดอะมิโนชนิดจำเป็น สมบัติด้านกลิ่นของอาหารที่มีผลต่อการยอมรับอาหารของกุ้ง รวมถึงสารอาหารบางชนิดในวัตถุดิบอาหารที่อาจเป็นพิษต่อกุ้ง

2. เนื่องจากฮีโมโกลบินป่นมีกรดอะมิโนลูซีน ไลซีน และวาลีนในระดับสูง ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่ามีระดับของกรดอะมิโนดังกล่าวในปริมาณน้อย การศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตร่วมกับฮีโมโกลบินป่นเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนแทนที่ปลาป่นจึงอาจเป็นแนวทางที่สามารถทำให้ใช้ฮีโมโกลบินในระดับที่สูงขึ้นได้

3. ควรมีการศึกษาผลของการเป็นปฏิปักษ์ระหว่างกรดอะมิโน ไอโซลิวซีน กับ ลูซีน และไลซีน กับ อาร์จีนีนในอาหารกุ้งขาว เพื่อศึกษาถึงปริมาณที่เหมาะสมของกรดอะมิโนในอาหาร

4. ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กที่มีในฮีโมโกลบินป่นเพื่อจะทราบปริมาณธาตุเหล็กที่มีในอาหารแต่ละสูตร และควรมีการศึกษาผลของการเป็นพิษของเหล็กที่มีต่อพยาธิสภาพและเนื้อเยื่อของกุ้งขาว

7. เอกสารอ้างอิง

ชุติมา ตันติกิตติ, มะลิ บุณยรัตผลิน และอัตรา ไชยมงคล. 2546. การศึกษาสถานภาพการวิจัยและพัฒนาอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

ชุติมา ตันติกิตติ, อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และสุทิน สีสุข. 2548. ความต้องการกรดอะมิโนอาร์จีนีนและการเป็นปฏิปักษ์ของอาร์จีนีนและไลซีนต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง *(Mystus nemurus* Cuv. & Val.). ว. การประมง 58(3): 223-233.

ปรเมษฐ์ มุสิการุณ. 2550. การคัดเลือกผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิคการย่อยในห้องปฏิบัติการและการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองไปใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประจวบ หลำอุบล. 2527. กุ้ง. กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์. 2542. การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือ. สงขลา : ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

แพรวพรรณ ห้องทองแดง และ ดรุณี กอเซาะ. 2542. คู่มือการตรวจวิเคราะห์อาหารสัตว์ทางกล้องจุลทรรศน์ เล่ม 1 : วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีน. กรุงเทพฯ: กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ระพีพรรณ เลาหบรรจง. 2549. ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นที่เก็บรักษาในสภาพที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับของกุ้งกุลาดำ *(Penaeus monodon)*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รัชฎา แก่นสาร์, ทองสุข พละมา, สนธยา ศรีเมฆ, ศริพงศ์ ยังดำรง, เพียงใจ ขจรนิพัทธ์ และเกียรติ บังอร จินดากุล. 2542. ชีวเคมี. นนทบุรี : โครงการสวัสดิการวิชาการ สถาบันพระบรมราชชนก กระทรวงสาธารณสุข.

วันชัย เกียรติพิมล. 2545. การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและสารสกัดจากปลาจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล. 2544. การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากเครื่องในปลาทูน่าในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและปุ๋ยน้ำ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2541. โภชนาศาสตร์สัตว์น้ำ. สงขลา : ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย. 2544. 20 ปี สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย. กรุงเทพมหานคร: สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย.

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

อัจฉริยา เชื้อช่วยชู. 2542. การผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ (*Katsuwonus pelamis*) โดยวิธีการใช้เอนไซม์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อานัส แซะอาหลี และชุติมา ตันติกิตติ. 2551. โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าที่ผลิตแตกต่างกันเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*). ว. การประมง 61: 73-80.

Adler-Nessen, J. 1986. Enzymatic Hydrolysis of Food Protein. London: Elsevier Applied Science.

Akiyama, D.M. and FSGP Aquaculture Research. 1990. The use of soybean meal to replace white fish meal in commercially processed *Penaeus monodon* Fabricius feeds in Taiwan, R.O.C. *In*: The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture: The Proceedings of the 3rd International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish, August 28–September 1, 1989, Takeda, M. and Watanabe, T. (Eds.). Toba, Japan: pp. 289-299.

Akiyama, D. M., Dominy, W.G. and Lawrence, A.L. 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. *In* : Proceedings of the Aquaculture and Feed Processing and Nutrition Workshop. Akiyama, D.M. and Tan, R.H. (Eds.). Singapore: pp. 80-98.

Alam, M.S.,Teshima, S., Ishikawa, M., Koshio, S.,Uyan, O., Hernandez, L.H. and Michael, F.R. 2005. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture 248: 13– 19.

Alberto, J.P.N., Marcelo, V.C.S., Francisco Felipe, A.N. and Daniel, L. 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 260: 244-254.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis 15th ed. Washington, D.C : The Association of Official Analytical Chemists.

Asgard, T. and Austreng, E. 1986. Blood, ensiled or frozen, as feed for salmonids. Aquaculture 55: 263-284.

Barbato, J.C. and Daniel, P.C. 1997. Chemosensory activation of an antennular grooming behavior in the spiny lobster, *Panulirus argus*, is tuned narrowly to

l-glutamate. Biol.Bull. 193: 107-115.

Bates, L.S., Akiyama, D.M. and Shing, L.R. 1995. Aquaculture Feed Microscopy Manual. Singapore: American Soybean Association.

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

Booth, M.A., Allan, G.L. and Anderson, A.J. 2005. Investigation of the nutritional requirements of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch and Schneider, 1801) apparent digestibility of protein and energy sources. Aquacult. Res. 36: 378-390.

Chen, H.C., Ho, W.L., Moody, M.W. and Jiang, S.T. 1992. Modification of *Cellulomonas flavigena* NTOU1 characteristics for the product of shrimp hydrolysate. J. Food Sci. 57: 271-276.

Coman, G.J., Sumc, H., Fielder, D. and Theme, M. 1996. Evaluation of crystalline amino acids, betaine and AMP as food attractants of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. Comp. Biohem. Physiol. 113: 247-253.

Costero, M. and Meyers, S.P. 1993. Evaluation of chemoreception by *Penaeus vannamei* Boone under experimental conditions. Prog. Fish – Cult. 55: 157-162.

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

Davis, D.A. and Arnold, C.R. 2000. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 185: 291-298.

Dominy, W.G. and Ako, H. 1988. The utilization of blood meal as a protein ingredient in the diet of the marine shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 70: 289-299.

EUROTEC NUTRITION (Thailand) Co. LTD. 2006. Personal contact.

Fanimo, A.O., Oduguwa, O.O., Onifade, A.O. and Olutunde, T.O. 2000. Protein quality of shrimp waste meal. Bioresour. Technol. 72: 185-188.

Felix, N. and Sudharsan, M. 2004. Effect of glycine betaine a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquacult. Nutr. 10: 193–197.

Floreto, E.A.T., Brown, P.B. and Bayer, R.C. 2001. The effects of krill hydrolysate supplemented soya-bean based diets on the growth, colouration, amino and fatty acid profiles of juvenile American lobster, *Homarus americanus*. Aquacult. Nutr. 7: 33-43.

Harpaz, S. 1997. Enhancement of growth in juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii,* through the use of a chemoattractant. Aquaculture 156: 221-227.

Hartati, R. and Briggs, M.R.P. 1993. Effect of feeding attractants on the behavior and performance of juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. Aquacult. Fish. Manage. 24: 613-624.

Hernandez, C., Pardo, J.S., Rodriguez, B.G. and Parra, I.A. 2004. Replacement of fish meal with co-extruded wet tuna viscera and corn meal in diets for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquacult. Res. 35: 1153-1157.

Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher.

Holland, K.N. and Borski, R.J. 1993. A palatability bioassay for determining ingestive stimuli in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 109: 153-164.

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

Jaswal, A.S. 1990. Amino acid hydrolysate from crab processing waste. J. Food Sci. 55: 379-380.

Jones, K.A. 1989. The palatability of amino acid and related compounds to rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 34:149-160.

Kim, S.K., Jeon, Y.J., Byeun, H.G., Kim, Y.T. and Lee, C.K. 1997. Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. Fish. Sci. 63: 421-427.

Kolkovski, S., Czenny, S. and Dabrowski, K. 2000. Use of krill hydrolysate as a feed attractant for fish larvae and juvenile. J. World Aquacult. Soc. 31: 81-88.

Koshio, S., Kanazawa, A. and Teshima, S. 1992. Nutritional evaluation of dietary soybean protein for juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 58: 965–970.

Lee, K.J. and Bai, S.C. 1997. Haemoglobin powder as a dietary fish meal replacer in juvenile Japanese eel, *Anguilla japonica* (Temminck et Schlegel). Aquacult. Res. 28: 509-516.

Li, P., Wang, X., Hardy, R.W. and Gatlin III, D.M. 2004. Nutritional value of fisheries by-catch and by-product meals in the diet of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 236: 485-496.

Lim, C. and Dominy, W. 1990. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp, *Penaeus vannamei*. Aquaculture 87: 53-63.

Lim, C. 1993. Effect of dietary pH on amino acid utilization by shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 114: 293-303.

Lim, C. 1996. Substitution of cottonseed meal for marine protein in diets for *Penaeus vannamei*. J. World Aquacult. Soc. 27: 402-409.

Marichal, M.J., Carriquiry, M., Pereda, R. and San Martin, R. 2000. Protein degradability and intestinal digestibility of blood meals : comparison of two processing methods. Anim. Feed Sci. and Technol. 88: 91-101.

Mendoza, R., Montemayor, J. and Verde, J. 1997. Biogenic amines and pheromones as feed attractants for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquacult. Nutr. 3: 167–173.

Mendoza, R., Dios, A.D.,Vazques, C., Cruz, E., Ricque,D., Aguilera, C. and Montemayor, J. 2001. Fishmeal replacement with feather-enzymatic hydrolysates co-extruded with soya-bean meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquacult. Nutr. 7: 143-151.

Millamena, O. M., Bautista-Teruel, M.N. and Kanazawa, A. 1996. Valine requirement of postlarval tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius. Aquacult. Nutr. 2: 129-132.

Millamena,O.M.,Bautista-Teruel, M.N., Reyes, O.S. and Kanazawa, A. 1998. Requirement of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine. Aquaculture 164: 95-104.

Millamena,O.M.,Bautista-Teruel, M.N., Kanazawa, A. and Teshima, S. 1999. Quantitative dietary requirements of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan. Aquaculture 179: 169-179.

Otubusin, S.O. 1987. Effects of different levels of blood meal in pelleted feeds on tilapia, *Oreochromis niloticus*, production in floating bamboo net-cages. Aquaculture 65: 263-266.

Paripatananont, T., Boonyaratpalin, M., Pengseng, P. and Chotipuntu, P. 2001. Substitution of soy protein concentrate for fishmeal in diets of tiger shrimp *Penaeus monodon*. Aquacult. Res. 32: 369–374.

Rainbow, P.S. and Moore, P.G. 1986. Comparative metal analysis in amphipod crustaceans. Hydrobiol. 141: 273-289.

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

Saoud, I.P. and Davis, D.A. 2005. Effects of betaine supplementation to feeds of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at extreme salinities. N. Am. J. Aquacult. 67: 351–353.

Shahidi, F., Han, X.Q. and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysate from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chem. 53: 285-293.

Strickland, J. D. H. and Parsons, T.R. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Ottawa : Fisheries Research Board of Canada.

Sudaryono, A., Tsvetnenko, E. and Louis, H.E. 1995. Digestibility studies on fisheries by-product based diets for *Penaeus monodon.* Aquaculture 143: 331-340.

Tacon, A.G.J. and Akiyama, D.M. 1997. Feed ingredient. In : D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. (Eds.), Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture, vo. 6. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 411-472.

Tan, B., Mai, K., Zheng, S., Zhou, O. and Liu, L. 2005. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei.* Aquacult. Res. 36: 439-444.

Teles, A.O., Cerqueira, A.L. and Goncalves, P. 1999. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. Aquaculture 179: 195-201.

Volden, H., Mydland, L.T. and Olaisen, V. 2002. Apparent ruminal degradation and rumen escape of soluble nitrogen fractions in grass and grass silage administered intraruminally to lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 80: 2704-2716.

Wroblewska, J., Whalley, S., Fischetti, M. and Daniel, P.C. 2002. Identification of chemosensory sensilla activating antennular grooming behavior in the caribbean spiny lobster, *Panulirus argus.* Chem. Senses. 27: 769-778.

Wyk, P. V. 1999. Nutrition and feeding of *Litopenaeus vannamei* in intensive culture systems. *In* : Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Wyk, P.V., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K.L., Mountain, J. and Scarpa, J. (Eds). USA Florida : Department of Agriculture and Consumer Services. pp. 125-140.