



รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อคุณภาพ และการนำมาใช้เป็น  
สารดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืช  
เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น

**Effects of Form and Storage Time of Tuna Visceral Hydrolysate on Quality and  
Utilization as Dietary Attractant for Diet Using Plant Protein as Alternative to  
Fishmeal in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch)**

ธีราพรรณ ตาหลี

Teerapun Talee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสต่อคุณภาพ และการนำมาใช้เป็น  
สารดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืช  
เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น

**Effects of Form and Storage Time of Tuna Visceral Hydrolysate on Quality and  
Utilization as Dietary Attractant for Diet Using Plant Protein as Alternative to  
Fishmeal in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch)**

ธีราพรรณ ตาหठी

Teerapun Talee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of**

**Master of Science in Aquatic Science**

**Prince of Songkla University**

**2560**

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**ชื่อวิทยานิพนธ์** รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูลาไฮโดรไลเสตต่อคุณภาพ และการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นการกินอาหารของปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืชเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น

**ผู้เขียน** นางสาวธีราพรรณ ตาหลี

**สาขาวิชา** วาริชศาสตร์

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ตันตีกิตติ)

**คณะกรรมการสอบ**

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. การุณ ทองประจุแก้ว)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ตันตีกิตติ)

.....กรรมการ

(ดร. มณี ศรีชนันท์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ตันติกิตติ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวธีราพรรณ ตาหลิ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวธีราพรรณ ตาหลิ)

นักศึกษา

**ชื่อวิทยานิพนธ์** รูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อคุณภาพ และการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นการกินอาหารของปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืชเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น

**ผู้เขียน** นางสาวธีราพรรณ ตาหลิ

**สาขาวิชา** วาริชศาสตร์

**ปีการศึกษา** 2559

### บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ พบว่าระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ความชื้นของ D-TVH เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงความชื้นในตัวอย่าง C-TVH สำหรับปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) และการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) พบว่า ตัวอย่าง C-TVH มีค่าทั้งสองเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) D-TVH มีค่า TVB-N เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป ในขณะที่ TBARS มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 และลดต่ำลงในเวลาต่อมา ค่าสีของตัวอย่างทั้งสองรูปแบบแสดงการลดลงของความสว่าง ( $L^*$ ) ขณะที่ค่าที่แสดงความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และเหลือง ( $b^*$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) และ 3 ช่วงเวลาการเก็บรักษา (0, 4 และ 8 สัปดาห์) เสริมในอาหารที่มีไม่มีปลาป่นที่ระดับ 5 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย  $2.19 \pm 0.02$  กรัมต่อตัว ที่ความหนาแน่น 8 ตัวต่อตู้ และให้อาหารจนปลาอ้วนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีระดับต่ำสุดในสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในปลาที่กินอาหารที่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้งหมด และสูตรอ้างอิงที่มีปลาป่นเป็นส่วนประกอบของอาหาร ( $p > 0.05$ ) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบ และช่วงเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต แต่ไม่มีผลต่อการนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นการกิน สำหรับการเลือกใช้รูปแบบของเครื่องในทูน่าไฮโดรไลเสต เนื่องจากตัวอย่าง C-TVH มีการลดลงของระดับโปรตีนและการเสื่อมคุณภาพสูงกว่า D-TVH ดังนั้นควรเลือกใช้เครื่องในทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งเมื่อต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศ ( $22-28^\circ\text{C}$ ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและ โปรตีน รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด) เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น และเสริมด้วย D-TVH ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร เลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย  $2.60 \pm 0.02$  กรัมต่อตัวในตู้เลี้ยงที่บรรจุน้ำจืดขนาด 100 ลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ชุดควบคุมมีปลาป่นเป็นส่วนประกอบ 15.03 เปอร์เซ็นต์ ลดปริมาณปลาป่น โดยทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ระดับ 33, 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของปลาป่นในอาหารสูตรที่ 2 3 และ 4 ตามลำดับ สูตรที่ 5 คือสูตรอ้างอิง ซึ่งมีเนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักและเสริมด้วย D-TVH พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มมีระดับสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 2 และสูตรอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่กินอาหารเสริมด้วย D-TVH ขณะที่ปลาในชุดควบคุมมีปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันในระดับต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในส่วนของกิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน พบว่าสูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินสูงที่สุด ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินจากไส้ติ่ง (ยูนิต/มิลลิลิตร) มีแนวโน้มลดลงตามปริมาณของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่เพิ่มสูงขึ้น กิจกรรมในลำไส้ของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ยูนิต/มิลลิลิตร) ไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง แต่มีความแตกต่างกันในไส้ติ่งของปลาระหว่างชุดการทดลอง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองสูงกว่าปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษา TVH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โดยรูปแบบแห้งมีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์รูปแบบหนืดที่มีการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แต่รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตไม่มีผลต่อการนำมาใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหาร โดยปลากะพงขาวสามารถใช้อาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ เมื่อมีการเสริม D-TVH เป็นสารดึงดูดการกินอาหาร

**Thesis Title** Effects of form and storage time of tuna visceral hydrolysate on quality and utilization as dietary attractant for diet using plant protein as alternative to fishmeal in Asian Seabass (*Lates calcarifer* Bloch)

**Author** Miss Teerapun Talee

**Major Program** Aquatic Science

**Academic Year** 2016

### ABSTRACT

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



Experiment 2 was conducted to investigate growth, feed and protein utilization and activity of digestive enzymes in Asian seabass fed diets containing meat meal and soybean products (solvent extracted soybean meal and soybean protein) as the alternative protein to fish meal with the D-TVH supplementation at 5% of diet. The experimental design was completely randomized design (CRD) composing of five treatments with four replications. The control diet contained fish meal at 15.03% of diet which was replaced with soybean products by 5.01%, 10.03 and 15.03 for diets 2, 3 and 4, respectively. Diet 5 was the reference diet that contained meat meal as a sole source of protein and supplemented with D-TVH. Twelve fish with an average initial weight of  $2.60 \pm 0.02$  grams per fish were stocked into each of 100 L aquaria and fed with the experimental diets for 8 weeks. At the end of the feeding trial, feed intake, final weight, and percentage weight gain were significantly the highest in the groups fed diet 2 and the reference diet ( $p < 0.05$ ), but not statistically different from those fed D-TVH supplemented diets. The control group showed significantly ( $p < 0.05$ ) the lowest feed intake, final weight, weight gain and specific growth rate (SGR). Feed and protein utilization efficiency of the fish fed D-TVH supplemented diets were significantly higher than those fed the control diet ( $p < 0.05$ ). Level of pepsin activity in the control fish that fed soybean free diet was the highest. Trypsin activity levels (unit/mL) in the pyloric caeca exhibited decreasing trend as the soybean product inclusion levels were increased. Activity (unit/mL) of leucine-aminopeptidase and alkaline phosphatase in the fish intestine was not statistically different ( $p > 0.05$ ) among treatments but those in the pyloric caeca was significantly different in that the activity levels of the two enzymes were higher than those in the control group ( $p < 0.05$ ). The present study demonstrated that the TVH forms and storage time affected the quality of the products in that the dry form was more stable than the concentrated form showing lower quality changes after storing at ambient temperature for 8 weeks. However, the TVH forms showed a similar feeding improvement effect when supplemented as a feeding attractant in the Asian seabass diets that used meat meal and soybean products as alternative protein sources for fish meal.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้โดยได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่าย บุคคลเหล่านี้ล้วนควรแก่การกล่าวถึง ด้วยความรู้สึกรักขอบคุณและยกย่องไว้ ณ ที่นี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ตันติกิตติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังได้ให้ความกรุณาอบรมสั่งสอน เป็นแนวทางให้ข้าพเจ้าได้นำไปปรับใช้ในการดำเนินชีวิตและการทำงานต่อไปในอนาคต

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.การุณ ทองประจุแก้ว และ ดร.มณี ศรีชนะนันท์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ตรวจสอบ และให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณ ดร.รัชณี โชติกจินดา คุณจุฑารัตน์ กชเวช ซึ่งเป็นที่ปรึกษาและ ช่วยเหลือในด้านต่างๆ รวมทั้งเป็นผู้สอนงานในส่วนของการทดลองทั้งหมดของข้าพเจ้า รวมทั้ง คุณอัครวิทย์ อิศสระโร และ คุณนันทน์ นันทพงษ์ ที่คอยดูแลและให้คำปรึกษา ทำให้การทดลองสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานผลิตอาหารสัตว์น้ำบ้านพรุ บริษัทไทยยูเนียน ฟีดมิลล์ จำกัด บริษัท โซติวิชั่นอุตสาหกรรมการผลิต จำกัด (มหาชน) ที่ให้การอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์ในการศึกษา และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต 6 สงขลา สำหรับการวิเคราะห์ลูกพันธุ์ปลากะพงขาว ขอขอบพระคุณภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณสุจิตร์ ชลดำรงกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยสัตว์น้ำกิจการสุกมาตย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่สำนักงานภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกคน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ การช่วยเหลือ อีกทั้งคอยให้คำแนะนำ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในระหว่างการทำวิจัย จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับความสนับสนุนส่วนหนึ่งจากสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2558 รหัส NAT 5807815 โครงการรูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตสำหรับเสริมในอาหารปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืช

ทดแทนปลาป่น รวมถึงบัณฑิตวิทยาลัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย  
ขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ท้ายที่สุดนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา รวมถึงครอบครัว ทุกคนของข้าพเจ้า  
ผู้เป็นเบื้องหลังและเป็นกำลังใจที่สำคัญที่ให้การสนับสนุนด้านทุนการศึกษา และคอยเป็นกำลังใจที่  
สำคัญให้ข้าพเจ้าเสมอมา ทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จ บรรลุจุดมุ่งหมาย ในการศึกษาเล่าเรียน  
ในครั้งนี้

ธีราพรรณ ตาหठी

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	(5)
กิตติกรรมประกาศ.....	(9)
สารบัญ.....	(11)
สารบัญตาราง.....	(13)
สารบัญภาพ.....	(15)
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร.....	3
2.1 ปลาพะพงขาว.....	3
2.2 เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต.....	11
2.3 การเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ.....	16
2.4 การรักษาคุณภาพของวัตถุดิบ.....	21
บทที่ 3.....	24
การทดลองที่ 1.....	24
3.1 บทคัดย่อ.....	24
3.2 บทนำ.....	25
3.3 วัตถุประสงค์.....	26
3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง.....	26
3.5 ผลการทดลอง.....	35
3.6 วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	48
3.7 สรุปผลการทดลอง.....	52
บทที่ 4 การทดลองที่ 2.....	53
4.1 บทคัดย่อ.....	53
4.2 บทนำ.....	54
4.3 วัตถุประสงค์.....	55
4.5 ผลการทดลอง.....	61
4.6 วิเคราะห์ผลการศึกษา.....	69
4.7 สรุปผลการศึกษา.....	73

**สารบัญ (ต่อ)**

	หน้า
บทที่ 5 .....	75
5.1 สรุปผลการศึกษา.....	75
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	75
เอกสารอ้างอิง.....	77
ภาคผนวก .....	87
ภาคผนวก ก.....	87
ภาคผนวก ข.....	93
ภาคผนวก ค.....	100
ประวัติผู้เขียน .....	110

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในการทดลองที่ 1 (As-fed basis)	32
ตารางที่ 2 องค์ประกอบเคมีของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และ รูปแบบแห้ง (D-TVH) (ฐานน้ำหนักแห้ง) ภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศ เป็นเวลา 8 สัปดาห์	38
ตารางที่ 3 ค่า pH aw และ NSI ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังจากเก็บ รักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์	39
ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลัง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์	43
ตารางที่ 5 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย และปริมาณอาหารที่กินของปลากะพงขาว ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสด 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0 4 และ 8 สัปดาห์	46
ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม SGR FCR และ อัตราการรอดตายของปลากะพงขาว ที่เลี้ยงในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสด 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0 4 และ 8 สัปดาห์	47
ตารางที่ 7 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมี (กรัม/ 100 กรัมอาหาร, As-fed basis) ในการ ทดลองที่ 2 ที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง	57
ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ (SGR) และอัตราการรอดตายของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทน ปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	62
ตารางที่ 9 ปริมาณอาหารที่กิน FCR PER และ PPV ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการ ทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	64
ตารางที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของปลากะพงที่ได้รับ อาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	67

**สารบัญตาราง (ต่อ)**

ตารางที่ 11 กิจกรรมของลิวิชินอะมิโนเปปติเดส และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส  
ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาป่นและเสริมด้วย D-TVH  
เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

หน้า

68

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว	4
ภาพที่ 2 อวัยวะที่ใช้อยู่อาหารของปลากะพงขาว	5
ภาพที่ 3 หลักการการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีน	6
ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตทวนำกระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง	12
ภาพที่ 5 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์	13
ภาพที่ 6 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน	18
ภาพที่ 7 รูปแบบของเครื่องในปลาทวนำไฮโดรไลเสตหลังการผลิต	28
ภาพที่ 8 ค่า TVB-N ของตัวอย่างเครื่องในปลาทวนำไฮโดรไลเสตรูปแบบชนิด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-test (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์	42
ภาพที่ 9 ค่า TBARS ของตัวอย่างเครื่องในปลาทวนำไฮโดรไลเสตรูปแบบชนิด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปร ด้วย T-Test (ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพิมพ์เล็ก) ในรูปน้ำหนักแห้ง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์	42
ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน (ยูนิต/มิลลิลิตร) ในกระเพาะปลากะพงขาว ที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นเวลา 8 สัปดาห์	67



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปลากระพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) เป็นปลาน้ำกร่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตไว เมื่อมีรสชาติดี ปัจจุบันการเลี้ยงปลาชนิดนี้มีการขยายตัวมากขึ้น ทั้งการเลี้ยงในกระชังและบ่อดินในเขตน้ำจืด น้ำกร่อย และชายฝั่งทะเลในรูปแบบกึ่งพัฒนา และพัฒนา จากความต้องการทางตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงภายหลังจึงนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสด ซึ่งในการผลิตอาหารสำเร็จรูปนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีมีกรดอะมิโนที่เหมาะสมครบถ้วน เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น อีกทั้งมีความน่ากินต่อสัตว์น้ำ แต่ราคาของปลาป่นในปัจจุบันขยับตัวสูงขึ้นส่งผลต่อการราคาของต้นทุนค่าอาหารที่เพิ่มขึ้น จึงได้มีความพยายามในการหาแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนปลาป่น

ถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำชนิดต่างๆ เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น และมีปริมาณเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำหลายๆ ชนิด กากถั่วเหลืองที่ผลิตจากโรงงานสกัดน้ำมันได้รับความนิยม และมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์ กากถั่วเหลืองแม้จะมีโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ แต่ยังมีปัจจัยจำกัดที่ทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ได้อย่างเต็มที่ Chuapochuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Tantikitti และคณะ (2005) ได้รายงานระดับการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันที่ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมในอาหารปลากระพงขาว หากทดแทนสูงเกินกว่านี้ปลาจะมีการกินอาหารน้อยลงส่งผลต่อเจริญเติบโต การใช้โปรตีนทดแทนจากกากถั่วเหลืองในปริมาณสูงส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของกรดกรดอะมิโนบางตัว โดยเฉพาะเมทไธโอนีนซึ่งพบในปริมาณต่ำในวัตถุดิบโปรตีนจากพืช เพื่อลดปัญหาการขาดกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นจึงมีการผลิตกรดอะมิโนในรูปของสารสังเคราะห์เพื่อใช้เติมเต็มในส่วนของกรดอะมิโนที่ขาด ปัญหาอีกประการของการนำถั่วเหลืองมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลัก พบว่าอาหารที่ผลิตขึ้นโดยใช้วัตถุดิบพืชไม่สามารถดึงดูดให้ปลาเข้าไปกินอาหารได้เทียบเท่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากปลาป่น ปัญหานี้นำไปสู่การศึกษาถึงสารที่สามารถดึงดูดการกินอาหารให้กับสัตว์น้ำ โปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัตถุดิบเศษเหลือจาก

อุตสาหกรรมสัตว์น้ำเป็นตัวเลือกที่ดีที่จะนำมาใช้ในการผลิตเป็นสารตั้งคุณการกิน เมื่ออาหารที่ผลิตมีการใช้วัตถุดิบทดแทนจากพืชในระดับสูง

โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรซิสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ เร่งปฏิกิริยาโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง สามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ได้ โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากวัตถุดิบปลา มีศักยภาพสูงในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโตและตั้งคุณการกินอาหารในสัตว์น้ำ เครื่องในปลาถูกจัดเป็นของเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตอาหารทะเลมีความน่าสนใจในการนำมาใช้ผลิตไฮโดรไลเสต เนื่องจากวัตถุดิบเครื่องในมีปริมาณโปรตีนที่สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (อัคริยา, 2542) มีการศึกษาพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาถูกนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนปลาป่น (สุภาพร, 2549) และสามารถตั้งคุณการกินอาหารในกุ้งขาวได้ (อานัส, 2551) ขณะที่การศึกษาของ Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถใช้ไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาถูกเป็นสารตั้งคุณการกินอาหารในปลากะพงขาวได้ดี แม้จะมีความรู้เกี่ยวกับความสามารถในการนำไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารตั้งคุณการกินในสัตว์น้ำ แต่รูปแบบของไฮโดรไลเสต และผลการเก็บรักษาต่อคุณภาพของไฮโดรไลเสตยังมีข้อมูลอยู่เพียงเล็กน้อย จึงเป็นแนวทางเหมาะสมที่ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้สามารถใช้ไฮโดรไลเสตที่ผลิตขึ้นมาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

#### 2.1 ปลากะพงขาว

ปลากะพงขาว มีชื่อภาษาอังกฤษ คือ Asian seabass และ Giant seaperch ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Lates calcarifer* (Bloch) มีลำดับอนุกรมวิธานดังต่อไปนี้

Phylum Chordata

Sub-phylum Vertebrata

Sub-class Teleostomi

Order Percomorphi

Family Centropomidae

Genus *Lates*

specific epithet *calcarifer*

#### 2.1.1 ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาว (ภาพที่ 1) มีรูปร่างลำตัวหนา และด้านบนแบน หัวโต จะงอยปากค่อนข้างยาวและแหลม นัยน์ตาโต ปากกว้างยึดหดได้ มุมปากอยู่เลยไปทางหลังนัยน์ตา ลักษณะของฟินเป็นซี่ยาวอยู่บนขากรรไกรบนและล่าง ขอบกระดูกแก้มเป็นหนามแหลม ขอบกระดูกกระพุ้งเหงือกแข็งและคม คอดหางมีขนาดใหญ่และแข็งแรง เกล็ดใหญ่มีขอบหยักเป็นหนามเมื่อลูบจะสากมือ ครีบหลังอันแรกมีก้านครีบเป็นหนามแข็ง ปลายแหลม อันที่สองเป็นครีบอ่อนมีขนาดเล็กเคียงกัน ครีบใหญ่ปลายกลมมน พื้นลำตัวสีขาวเงินปนน้ำตาล แนวสันท้องสีขาวเงิน มีขนาดความยาวที่ พบใหญ่สุดถึง 2 เมตรหนักได้ถึง 60 กิโลกรัม

ปลากะพงขาวมีการอพยพไปมาระหว่างทะเลและน้ำจืด โดยพ่อแม่ปลาที่อาศัยอยู่ในทะเล จะว่ายจากชายฝั่งเข้ามาวางไข่ในป่าชายเลนหรือปากแม่น้ำ เมื่อลูกปลาฟักและเติบโตแข็งแรงจึงจะว่ายกลับสู่ทะเล บางครั้งพบอยู่ไกลจากทะเลนับเป็นร้อยกิโลเมตร อาหารโดยทั่วไปของปลากะพงที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ได้แก่ ปลา กุ้ง ที่มีขนาดเล็ก



ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว

### 2.1.2 พฤติกรรมการกินอาหารของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวมีอวัยวะที่ไวต่อการรับกลิ่นที่เรียกว่าเคโมรีเซพเตอร์ (Chemoreceptor) ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในการหาอาหาร แม้ว่าสารนั้นจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย อวัยวะที่ใช้ในการรับกลิ่นของปลาอยู่บริเวณตรงกลางของหัวในส่วน Paired nares และ Olfactory pits ในขณะที่อวัยวะรับรสจะแพร่กระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจากคúmรับรสของปลาไม่ได้อยู่ตรงกลางภายในช่องปากเหมือนสัตว์บกที่มีกระดูกสันหลัง แต่จะพบในปากและส่วนต่างๆ รอบๆ ตัวปลา คúmรับรสที่พบภายในตัวปลาได้แก่บริเวณ ลิ้น และเหงือก ส่วนคúmรับรสภายนอกจะมีด้วยกันหลายตำแหน่ง เช่น บริเวณเหนือริมฝีปาก หนวด และพื้นผิวบริเวณหัวของปลา (Gerking, 1994)

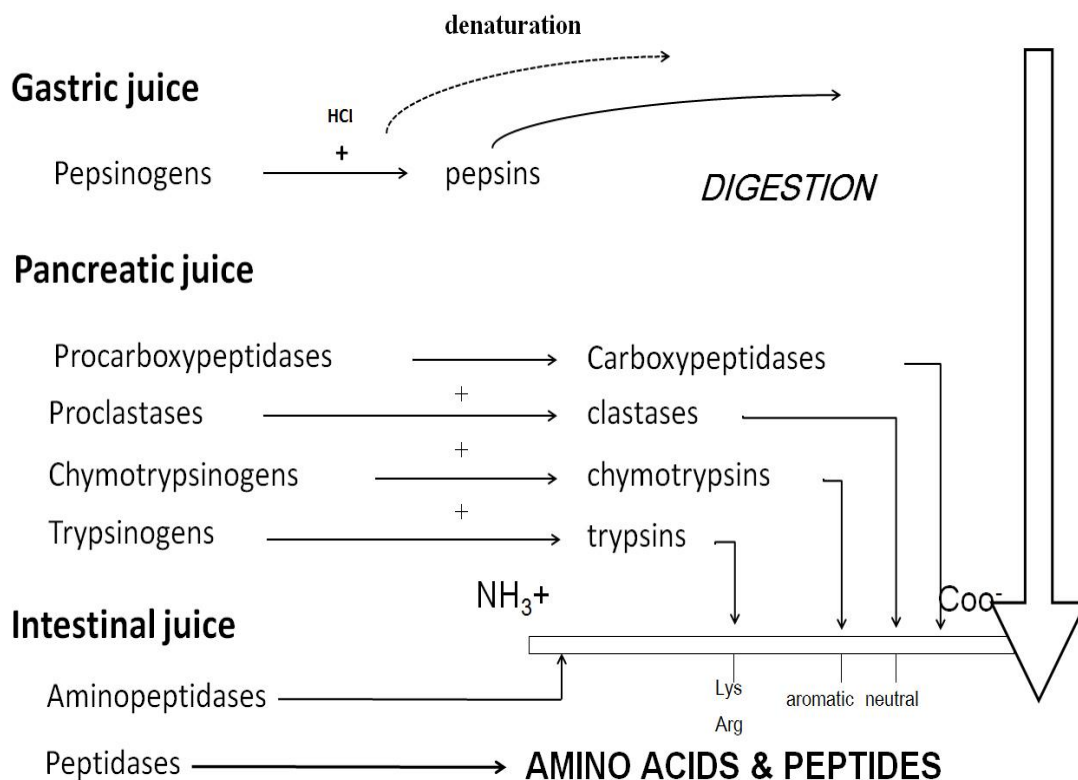
### 2.1.3 ระบบการย่อยอาหารของปลากะพงขาว

อวัยวะภายในที่ใช้ย่อยอาหารของปลากะพงขาว (ภาพที่ 2) เป็นระบบของร่างกายที่มีความสำคัญ เนื่องจากกระบวนการย่อยมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา เนื่องจากอาหารที่ปลากินเข้าไปจะถูกย่อยให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง เพื่อจะสามารถดูดซึมสารอาหารต่าง ๆ เข้าสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโต และกระบวนการต่างๆ ที่สำคัญต่อไป ปลากะพงขาวจัดอยู่ในกลุ่มปลากินเนื้อ ระบบทางเดินอาหารของปลาประกอบด้วย ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ไส้ติ่ง และลำไส้ จากพฤติกรรมการกินอาหารส่งผลให้ปลากะพงขาวมีกระเพาะอาหารเป็นรูปตัววาย ลำไส้มีลักษณะตรง และสั้น กว่าลำไส้ในกลุ่มปลากินพืช เมื่อปลากินอาหาร ฟันจะทำหน้าที่บดทำให้อาหารเล็กลง จากนั้นอาหารจะเดินทางเข้าสู่หลอดอาหารเพื่อผ่านไปยังกระเพาะอาหารและลำไส้ สองอวัยวะที่กล่าวถึงจัดเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญในการย่อย และดูดซึมอาหาร โดยมีเอนไซม์หรือน้ำย่อยเป็นส่วนสำคัญ โดยการทำงานของเอนไซม์ (ภาพที่

3) รูปแบบของการทำงานของระบบย่อยโดยทันทีที่อาหารผ่านเข้าสู่กระเพาะจะมีการหลังกรดเกลือเพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปปซินोजินให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์ชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์โปรติเอสที่มีหน้าที่หลักในการย่อยโปรตีน หลังจากนั้นโปรตีนโมเลกุลจะถูกย่อยให้กลายเป็นเปปไทด์สายสั้นๆ ก่อนจะถูกนำไปย่อยต่อที่บริเวณลำไส้ โดยมีตับอ่อนเป็นตัวผลิตเอนไซม์ ได้แก่ ทริปซินोजิน และโคโมทริปซินोजิน ที่ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์เอนเตอร์โรไคนีส ให้เปลี่ยนเป็นเอนไซม์ทริปซิน และทำหน้าที่ย่อยสายเปปไทด์ให้สั้นลงจนอยู่ในรูปเปปโตน จากนั้นเปปโตนจะถูกเอนไซม์ในกลุ่มอะมิโนเปปติเดสย่อยให้กลายเป็นโพลีเปปไทด์ และไดเปปไทด์ จนสุดท้ายได้เป็นกรดอะมิโน ซึ่งจัดเป็นหน่วยที่เล็กที่สุด ปลาจะดูดซึมกรดอะมิโนเพื่อนำไปใช้งานต่อไป สำหรับเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยไขมัน ได้แก่ เอนไซม์ไลเปสซึ่งผลิตมาจากผนังลำไส้และตับอ่อนทำหน้าที่ย่อยไตรกลีเซอไรด์ให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลงจนอยู่ในรูปกรดไขมันอิสระ ในขณะที่แอลฟาอะไมเลสที่ผลิตได้จากผนังของกระเพาะผนังลำไส้ และตับอ่อน จะย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นกลูโคสเพื่อดูดซึมไปใช้เป็นแหล่งพลังงานต่อไป (Bassompierre, 1997)



ภาพที่ 2 อวัยวะที่ใช้อ่อยอาหารของปลากะพงขาว



ภาพที่ 3 หลักการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีน

ที่มา: Bassompierre (1997)

#### 2.1.4 ความต้องการสารอาหารในปลากระพงขาว

ปลากระพงขาวต้องการโปรตีนระดับสูงในช่วงวัยอ่อน และลดลงเมื่อโตขึ้นเป็นปลาเต็มวัย ความต้องการโปรตีนของปลายังขึ้นอยู่กับคุณภาพโปรตีน ปลาจะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับโปรตีนที่มีคุณภาพดี มีกรดอะมิโนครบถ้วนทั้งปริมาณและคุณภาพ โดยระดับที่เหมาะสมของโปรตีนในปลากระพงขนาดเล็กอยู่ที่ระดับ 45-50 เปอร์เซ็นต์ (Cuzon, 1988 อ้างโดย Glencross, 2006) ปลาที่มีน้ำหนักเริ่มต้นที่ 5.84 กรัม มีระดับของโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ 45 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปริมาณของไขมันซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ปลากระพงขนาดเล็กต้องการไขมันในระดับ 15 และ 18 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่มีระดับโปรตีนอยู่ที่ 50 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อปลา มีขนาดใหญ่ขึ้น 9-62 กรัม พบว่าไขมันในอาหารที่ระดับ 9.3 และ 12.9 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้ทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างกัน ปลากระพงขาวมีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตได้ไม่ดัดนัก ระดับคาร์โบไฮเดรตในอาหารปลากระพงขนาดเล็กไม่ควรเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อไขมันอยู่ที่ระดับ 6-18 เปอร์เซ็นต์ (Catacutan and Coloso, 1997) สำหรับวิตามินและแร่ธาตุมีการศึกษาค่อนข้างน้อย ใน

ส่วนของวิตามินมีการศึกษาความต้องการได้แก่ ไพรดอกซิน กรดแพนโททีนิก ไรโบฟลาวิน อินโนซิทอล วิตามินซี ไรอามิน และวิตามินอี (Glencross, 2006) ในส่วนของแร่ธาตุที่ปลาจะพวงขาความต้องการจะแปรเปลี่ยนตามชนิดและวัตถุดิบอาหารที่ปลาได้รับ แม้ในอาหารที่ปลาได้รับจะปริมาณที่ค่อนข้างเพียงพอกับความต้องการอยู่แล้ว แต่ตัวที่มีความสำคัญโดยแร่ธาตุที่ปลาไม่ควรขาดได้แก่ ประกอบด้วย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และโคลีน

### 2.1.5 การใช้แหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลากะพงขาว

ปลาป่นจัดเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน โดยเฉพาะ ไลซีน เมทไธโอนีน และทริปโตเฟน ที่จัดเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายต้องการและสร้างไม่ได้ อีกทั้งยังเป็นแหล่งที่ดีของกลุ่มวิตามินบีรวม โดยเฉพาะวิตามินบี 12 วิตามินบี 2 และ โคลีน นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของแคลเซียม และฟอสฟอรัส เป็นวัตถุดิบอาหารที่เพิ่มความอยากกินอาหารของสัตว์ได้ดี (Samocho *et al.*, 2004) ปัจจุบันปลาป่นคุณภาพดีนั้นไม่มีราคาแพง เนื่องจากปริมาณการผลิตที่ไม่แน่นอน รวมทั้งมีการคาดการณ์ถึงอนาคตของปลาป่นที่จะยิ่งลดน้อยลงจากการนำทรัพยากรสัตว์น้ำจากทะเลขึ้นมาใช้ประโยชน์มากเกินไปจนเกิดการขาดแคลน รวมถึงปัญหาที่เกิดจากความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ ส่งผลให้มีความพยายามในการหาแหล่งโปรตีนสำรองเพื่อนำมาใช้เป็นทางเลือกทดแทนปลาป่น ปัจจุบันแหล่งโปรตีนทดแทนที่มีองค์ประกอบทางโภชนาการสามารถนำมาใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด โดยทั่วไปวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการเป็นวัตถุดิบโปรตีนในอาหารไม่ควรมีโปรตีนต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ โดยพบได้ทั้งแหล่งโปรตีนที่ได้จากพืช และสัตว์

#### 1) แหล่งโปรตีนทดแทนจากสัตว์

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์โดยรวมทั้งเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตของสัตว์ทะเล จัดเป็นโปรตีนทางเลือกที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนผลิตอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากมีโปรตีนคุณภาพที่สูง แต่ราคาต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับราคาของปลาป่นที่เพิ่มสูงขึ้นแหล่งวัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์ที่ถูกนำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ เนื้อป่น เนื้อและกระดูกป่น ไก่ป่น เลือดป่น ขนไก่ป่น และ เครื่องในปลาทูน่าป่น เป็นต้น (Millamena, 2002; Williams *et al.*, 2003; Chotikachinda, 2014 )

เนื้อป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเศษเนื้อ เอ็น พังคืด ของโรงงานผลิตเนื้อสัตว์ใหญ่นำมาผลิตเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ เนื้อป่นมีส่วนของกระดูกผสมอยู่น้อย ทำให้มีฟอสฟอรัสประมาณ 4.4 เปอร์เซ็นต์ และมีแคลเซียมอยู่ไม่เกินครึ่งของฟอสฟอรัสที่มีอยู่ และวัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาผลิตเนื้อป่นจะไม่รวมเลือด ขน เขา และหนังของสัตว์ ในขณะที่เนื้อ

และกระดูกป่น จะมีเศษเนื้ออยู่น้อยแต่มีกระดูกมาก โปรตีนมักพบน้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ฟอสฟอรัสจะสูง มีการศึกษาถึงการนำเนื้อป่นมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำ Williams และคณะ (2003) พบว่าสามารถนำเนื้อป่นที่มีโปรตีนที่ระดับ 52 เปอร์เซ็นต์ นำมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว ขณะเดียวกัน วรพรรณ (2555) ได้ศึกษาการใช้เศษไก่ป่นแทนปลาป่นที่เหมาะสมกับอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากะพงขาว พบว่าเศษไก่ป่นสามารถทดแทนปลาป่นในระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาทดลองขนาด 1.5 นิ้ว และสามารถใส่เศษไก่ป่นแทนปลาป่นได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาทดลองขนาด 3 นิ้ว เช่นเดียวกับปลาชนิดอื่นๆ Millamena (2002) ได้ศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยเนื้อป่นผสมเลือดป่นในอัตรา 4:1 ในอาหารปลาแก้วจุดน้ำตาล พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นผสมเลือดป่นทดแทนปลาป่นได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา ขณะที่ Shapawi และคณะ (2007) ได้ศึกษาระดับของการใช้ไก่ป่นทดแทนปลาป่นในอาหารปลาแก้ว พบว่าระดับที่เหมาะสมของไก่ป่นในการทดแทนปลาป่นได้ที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่ให้การเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกิน และการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างจากปลาที่กินอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีน สำหรับในปลากะพงขาว Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถนำไก่ป่นมาใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาวได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเสริมสารดึงดูดคาร์บอนอย่างเครื่องในปลาหูกาไฮโดรไลเสตในอาหาร ปัจจุบันมีการนำวัตถุดิบจากสัตว์บก เช่น เนื้อป่น และ ไก่ป่น มาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า เนื้อป่นแม้จะมีโปรตีนสูงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน แต่คุณภาพของเนื้อป่น หรือเนื้อและกระดูกป่น ก็ยังด้อยกว่าปลาป่นในส่วนของกรดอะมิโน เนื่องจากมีระดับของกรดอะมิโนไลซีน และเมทไธโอนีนต่ำ ดังนั้นเมื่อมีการนำเนื้อป่นมาใช้ผลิตอาหารต้องคำนึงถึงระดับของกรดอะมิโนในอาหารให้ครบถ้วนตามที่สัตว์น้ำต้องการ แม้จะสามารถใช้ได้ปริมาณสูงแต่ควรเพิ่มสารอาหารในส่วนที่ขาดไป เช่น กรดอะมิโนที่มีอยู่ในระดับต่ำ และอาจมีการเสริมสารดึงดูดคาร์บอนเพื่อเพิ่มความนำกินให้อาหารเพิ่มลงไปเพื่อเพิ่มการยอมรับอาหารของปลา

## 2) แหล่งโปรตีนจากพืช

สำหรับวัตถุดิบจากพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารปลาด้วยกันหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกัน วัตถุดิบพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน คือ กากถั่วเหลือง เรฟซีดป่น ข้าวโพดป่น และ ถูบีนป่น เป็นต้น

กากถั่วเหลืองจัดเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกที่มีแนวโน้มในการผลิตที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากราคาข้อมเขี้ยวเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่นหรือวัตถุดิบจากสัตว์อื่น ๆ วัตถุดิบที่ผลิตจากถั่วเหลืองมี



ระดับของโปรตีนที่สูง มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นใกล้เคียงกับปลาป่น ในอุตสาหกรรมการผลิตถั่วเหลืองมีหลายรูปแบบที่ถูกนำมาใช้ เช่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน โปรตีนถั่วเหลืองสกัด รวมถึงถั่วหมัก โดยวัตถุดิบส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันถั่วเหลือง เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบพืชต่างชนิดที่มีระดับของโปรตีนสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากากถั่วเหลืองมีปริมาณมากเพียงพอต่อความต้องการของตลาด และยังมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนดีกว่าแหล่งโปรตีนจากพืชชนิดอื่นๆ ขณะที่ในกลุ่มของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมแก่การนำมาใช้ผลิตอาหาร เนื่องจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันจะผ่านกระบวนการผลิตโดยใช้ความร้อนสูงทำให้สามารถยับยั้งสารต้านโภชนาการจำพวกทริปซินได้เกือบทั้งหมด ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัด ถั่วเหลืองจะถูกนำไปสกัดคาร์โบไฮเดรตออกเพื่อเพิ่มระดับของโปรตีนให้สูงขึ้น แต่ทั้งนี้ไขมันที่อยู่ในโปรตีนถั่วเหลืองสกัดจะลดลงจากขั้นตอนการผลิต โดยโปรตีนถั่วเหลืองสกัดจะมีโปรตีนตั้งแต่ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถั่วหมักเป็นการนำกากถั่วมาหมักกับจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก โดยแบคทีเรียจะทำการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรต ในกากถั่วให้เป็นกรดแลคติก ทำให้เพิ่มความสามารถในการย่อยของสัตว์ และลดสารต้านโภชนาการในกากถั่ว รวมทั้งฤทธิ์ของกรดแลคติก ยังช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคอีกด้วย เพียงแต่พลังงานในถั่วหมักจะไม่สูงเมื่อเทียบกับโปรตีนถั่วเหลือง และสารพิษในถั่วหมักไม่ถูกทำลายจากการหมักจึงไม่ได้รับความนิยมนิยม (พันทิพา, 2539)

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

Ai และ Xie (2006) ได้ทำการศึกษาระดับของกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปลาเซาเทิร์นแคทฟิช พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน มีค่าการใช้สารอาหารในร่างกาย (Specific dynamic action, SDA) ต่ำกว่า

ปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 52 และ 65 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน แต่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 26 เปอร์เซ็นต์โปรตีน มีค่าการใช้สารอาหารในร่างกายไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 13 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน นอกจากนี้ยังมีอีกหลายการศึกษาที่แสดงความเป็นไปได้ที่จะทดแทนปลาป่นเกือบทั้งหมดด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลาหลายชนิด เช่น ปลาอะพงขาวขนาด 0.93 กรัม สามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 17 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออาหารมีปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์เป็นองค์ประกอบ (จูอะดี และมะลิ, 2538) ปลาแรด ขนาด 2.52 และ 178 กรัม สามารถทดแทนกากถั่วเหลืองได้ 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออาหารมีปลาป่น 20 และ 33 เปอร์เซ็นต์เป็นองค์ประกอบ (ซุติฟังก์, 2540)

แม้กากถั่วเหลืองจะมีคุณค่าโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการนำมาใช้ทดแทนปลาป่นในสัตว์น้ำ แต่ Chuapochuk และคณะ (1997) ได้รายงานว่าการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณที่สูงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตลดลงและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงด้วย เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมีปัจจัยต่างๆ ทั้งความไม่สมดุลของกรดอะมิโน ในผลผลิตจากถั่วเหลืองทุกชนิดจะมีกรดอะมิโนเมทไธโอนินในปริมาณน้อย ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ในกระบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงทำให้กรดอะมิโนไลซีนลดลง อีกทั้งในถั่วเหลืองดิบยังมีเอนไซม์ยูรีเอสและสารต้านโภชนาการหลายชนิด และในอาหารที่ใช้โปรตีนทดแทนจากถั่วเหลืองในปริมาณสูงก็จะมีส่วนลดความน่ากินในอาหารลงไป จึงควรมีการเติมสารดึงดูดการกินอาหารเพื่อเพิ่มความน่ากินให้แก่อาหารลงไปด้วย

### 2.1.6 สารดึงดูดการกินอาหาร

สารที่ช่วยกระตุ้นความสนใจและความรู้สึกอยากกินอาหาร (Palatability) ของสัตว์น้ำอาจมีหรือไม่มีคุณค่าทางอาหาร สารในกลุ่มนี้พบมากในหมึกป่น หัวกุ้งป่น หรือสารสกัดต่างๆ ที่มีรายงานว่าสามารถกระตุ้นการอยากกินอาหารของสัตว์เพิ่มขึ้น โดยปกติอาหารที่ประกอบด้วยปลาป่นจะกระตุ้นความอยากอาหารของปลาให้เพิ่มขึ้น สารเคมีบางชนิด เช่น กรดอะมิโนอิสระ บีเทน กรดนิวคลีอิก และ อีโนซิน มีกลิ่นที่ดึงดูดความสนใจในการกินอาหารของปลา โดยลักษณะสำคัญของสารที่กระตุ้นการอยากกินอาหารต้องมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1,000 ดัลตัน มีความสามารถในการแพร่กระจายในสารตัวกลางได้ดี เสียรสภาพในธรรมชาติได้ยาก และมีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งกรดและด่าง (Carr, 1982) กลุ่มปลาที่กินเนื้อเป็นอาหารจะตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยสารที่มีความเป็นด่างและกลาง เช่น ไกลซีน โพลีน ทอรีน วาลีน และ บีเทน ส่วนปลากลุ่มที่กินพืชเป็นอาหาร ส่วนใหญ่ตอบสนองต่อสารกระตุ้นที่มีความเป็นกรด

เช่น กรดแอสพาร์ติก และกรดกลูตามิก มักเป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบในพันธะ เช่น นิวคลีโอไทด์ เปปไทด์ กรดอะมิโน และกลุ่มสารสกัดจากธรรมชาติ ชนิดของสารตั้งต้นการกินอาหารที่นิยมนำมาใช้กับอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ น้ำมันปลา น้ำมันตับหมึก เทอริน บีเทน และกลุ่มของยีสต์สกัด ในส่วนของสารตั้งต้นการกินอาหารจำพวกกรดอะมิโนผสมที่อยู่ในรูปแอลฟอร์ม เช่น หัวกุ้ง เปลือกกุ้ง เครื่องในทูน่า และน้ำนิ่งปลา นอกจากนี้ยังพบได้ในกลุ่มปลาหมึก และไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากสัตว์น้ำ Berge และ Storebakken (1996) ทดลองใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารลูกปลาแอตแลนติกแซลมอน ที่ความเข้มข้น 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักของปลาสูงกว่าการเลี้ยงด้วยปลาป่นเพียงอย่างเดียว

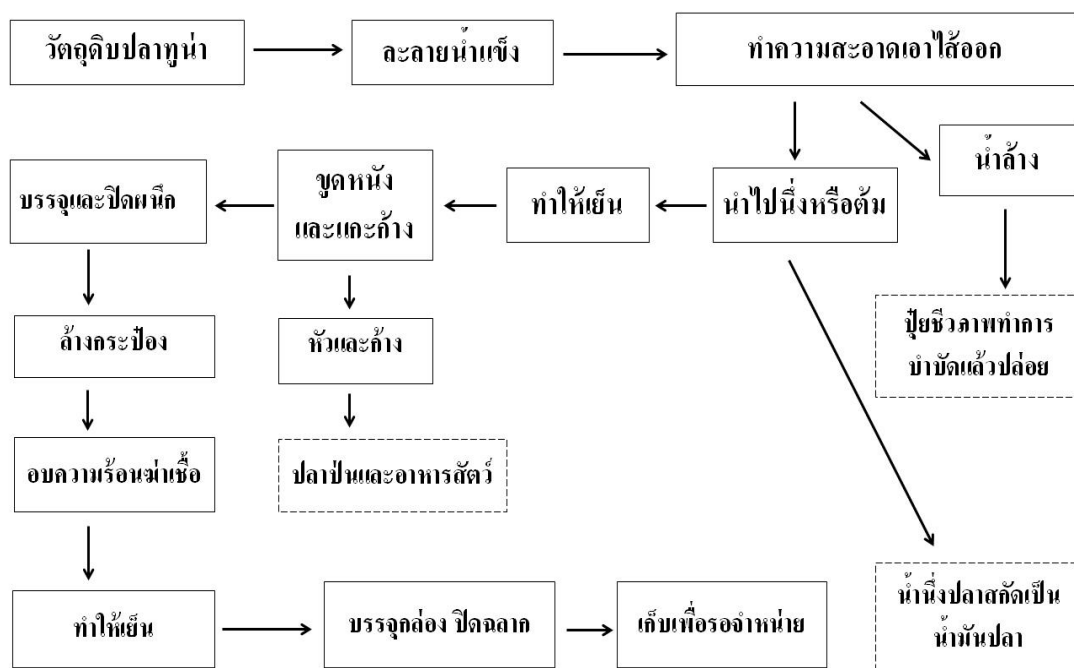
## 2.2 เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

### 2.2.1 แหล่งที่มาและองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่า

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

ในกระบวนการแปรรูปทูน่าและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง (ภาพที่ 4) จะมีแค่ส่วนของเนื้อขาวเท่านั้นที่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ ในขณะที่ตั้งแต่การนำทูน่าแช่แข็งเข้าสู่กระบวนการผลิต จะเกิดวัตถุดิบเศษเหลือ 2 ประเภท คือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง ได้แก่ หัว เครื่องในปลา กระดูก หนัง และเศษเนื้อดำ สำหรับวัสดุที่เป็นของเหลว ได้แก่ น้ำเลือด และน้ำนิ่งปลา อัจฉริยา (2542) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ พบว่าส่วนหัวปลาทูน่ามีองค์ประกอบหลักคือโปรตีน ไขมัน และเถ้า (น้ำหนักแห้ง) เท่ากับ 51.54, 22.08 และ 24.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนเครื่องในมีโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 76.68, 9.58 และ 11.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิภาวรรณ (2544) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอคริบเหลือง พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้า เท่ากับ 74.02, 5.10 และ 5.57 เปอร์เซ็นต์

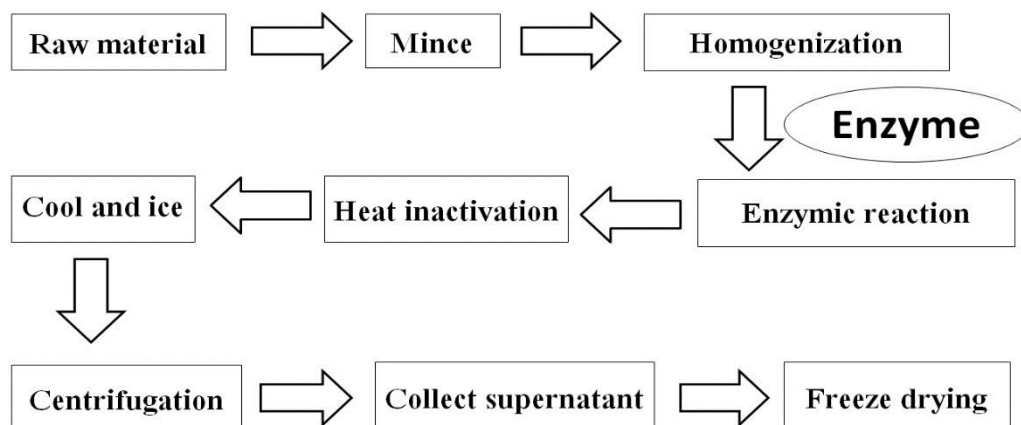
ตามลำดับ ปัจจุบันมีการนำเศษเหลือจากกระบวนการผลิตพูน้ากระป๋องมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต โดยนิยมใช้เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งปลาแซลมอนและเอนไซม์ทางการค้า เช่น นิวเทรต อัลลาเลส และฟาร์เวอไซม์ เป็นต้น เพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรไลเสต (Guérard *et al.*, 2001; Chotikachinda, 2014)



ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตพูน้ากระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่อเนื่อง  
ที่มา: สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป (2551)

### 2.2.2 การผลิตและการนำไปใช้

โปรตีนไฮโดรไลเสตเกิดจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงเป็นสายเปปไทด์สั้นๆ โดยการย่อยสลายด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ในกลุ่มโปรตีเอส กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์ (ภาพที่ 5) เริ่มจากนำวัตถุดิบมาคั่วให้ละเอียดและเติมน้ำลงไป ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ลงไป เพื่อทำการย่อยในสภาวะที่เหมาะสมพร้อมกับการเขย่าหรือกวน แล้วยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนและทำให้เย็น จากนั้นนำไปหมუნเหวี่ยง และเก็บสารละลายส่วนใสก่อนนำไปอบแห้ง (Kristinsson and Rasco, 2000)



ภาพที่ 5 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีการทางเอนไซม์

ที่มา : Kristinsson and Rasco (2000)

### 1) การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

เอนไซม์โปรตีเอสที่ใช้ในการผลิตสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ตามตำแหน่งที่เกิดการย่อยสลาย คือ เอนไซม์เอนโดเพปติเดส และเอกโซเพปติเดส โดยที่เอนไซม์เอนโดเพปติเดสจะทำการย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากภายในสายโปรตีนระหว่างกรดอะมิโนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดเปปไทด์ขนาดต่างๆ ส่วนเอกโซเพปติเดสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายด้านใดด้านหนึ่งของสายโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ ทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระขึ้น (Howell, 1996) ธรรมชาติของเอนไซม์และปริมาณของเอนไซม์เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีน Shahidi และคณะ (1995) ได้ศึกษาการย่อยสลายปลาแคบลินด้วยเอนไซม์โปรตีเอส 3 ชนิด คือ อัลคาเลส นิวเทรส และปาเปน พบว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสจะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้สูงกว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นิวเทรส และปาเปน ในขณะที่ Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปปลาแปซิฟิก ไวท์ทิง สูงกว่าเอนไซม์นิวเทรส

ในขณะที่สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตมีผลต่อคุณภาพของไฮโดรไลเสตที่ผลิตขึ้น การเตรียมวัตถุดิบก่อนนำไปย่อยสลายต้องทำให้รูปร่างของวัตถุดิบมีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ พิเอชและอุณหภูมิที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา รวมถึงช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยาล้วนมีความสำคัญ เนื่องจากพิเอชมีผลต่อการแตกตัวของอออนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามมิติซึ่งนำไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับวัตถุดิบหรือการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นในการทำงานของเอนไซม์ต้องควบคุมพิเอช ให้เหมาะสม โดยที่

ไม่ทำให้ปฏิกิริยาถูกยับยั้ง เนื่องจากเอนไซม์เป็น โปรตีนชนิดหนึ่ง ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา จะเกิดขึ้นเนื่องจาก โครงรูปสามมิติของเอนไซม์ มีการเรียงตัวอย่างมีระเบียบในทิศทางที่จะต้องจับ ที่บริเวณจับและบริเวณเร่งปฏิกิริยา ถ้าอุณหภูมิที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาขยับสูงเกินไป จะทำให้ พันธะที่มีแรงยึดเหนี่ยวต่ำ เช่น พันธะไฮโดรเจน หรือพันธะไฮโดรเจนเกิดการแตกตัว โครงรูปสามมิติ จะเสียหายทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ และสูญเสียความสามารถในการเร่ง ปฏิกิริยาไป ดังนั้นการเลือกสภาวะอุณหภูมิในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด ควรคำนึงถึง อัตราเร็วของการเกิดการย่อยสลายและความคงทนของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิด้วย Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปปลาแปซิฟิก ไวกิ้ง พบว่าอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลส ขณะที่เอนไซม์ นิวเทรสสามารถทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ขณะที่ Adler-Nissen (1986) ได้ อธิบายถึงระยะเวลาการย่อยต่อการผลิต พบว่าช่วงต้นของการย่อยสลายเอนไซม์จะดูดซับเข้าจับกับ โปรตีนอย่างรวดเร็ว เกิดการย่อยสลายจนเกิดเป็นเปปไทด์ขึ้น จากนั้นเมื่อเวลาการย่อยสลายมากขึ้น จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าระดับ การย่อยสลายเกิดขึ้นรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อย ในขณะที่ Chotikachinda (2014) พบว่า ชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้มีผลต่อระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis; DH) ที่เกิดขึ้น โดยการใส่เอนไซม์อัลคาเลสย่อยสลายเครื่องในปลาทูน่าที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะให้โปรตีน ไฮโดรไลสที่ระดับการย่อยสลาย 40 เปอร์เซ็นต์ และการใส่เอนไซม์ที่ระดับ 1.64 เปอร์เซ็นต์ จะ ให้ระดับการย่อยสลายที่ 60 เปอร์เซ็นต์

## 2) การนำโปรตีนไฮโดรไลสไปใช้ประโยชน์

ระยะแรก โปรตีนไฮโดรไลสถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ใน ห้องทดลอง ต่อมาเมื่อทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสมี คุณค่าทางโภชนาการที่ดี ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน และวิตามินในปริมาณที่สูง จึง ได้มีการนำมาทดลองใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในระยะวัยอ่อน เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลสเสด ส่วนใหญ่มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาจึงมีการศึกษาถึงการนำโปรตีนไฮโดรไลสเสด มาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในปลาหลายๆ ชนิด เช่น Cahu และคณะ (1999) นำโปรตีน ไฮโดรไลสเสดมาใช้เลี้ยงปลากะพงยูโรปายอ่อน (*Dicentrarchus labrax*) และพบว่าปลาที่ได้รับ อาหารที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลสเสดทดแทนปลาป่นที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ ให้การเจริญเติบโตไม่ แตกต่างกับชุดควบคุมซึ่งใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีน อีกทั้งยังพบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหาร เสริมเป็นไฮโดรไลสเสดมีอัตราการรอดตายสูงกว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม สุภาพร (2549) ได้ทำการศึกษานำโปรตีนไฮโดรไลสเสดจากวัสดุเศษเหลือโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้

ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว พบว่าเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 86.65 เปอร์เซ็นต์ และการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโครไลสเสตจากเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่ทำให้การเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มสูงกว่าการทดแทนด้วยระดับอื่นๆ

ในส่วนของ การนำมาใช้เป็นสารดึงดูดที่มีคุณสมบัติในการดึงดูดการกินอาหาร จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนไฮโครไลสเสต พบว่าโปรตีนไฮโครไลสเสตจากปลาประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในปริมาณที่สูง มีศักยภาพในนำไปเป็นการดึงดูดการกินอาหารของสัตว์ โดยอานัส และชุตินา (2551) ได้ทำการผลิตเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม พบว่ากุ้งมีพฤติกรรมการเข้าหาอาหารและกินอาหารในปริมาณที่สูงกว่าอาหารที่ไม่เสริมโปรตีนไฮโครไลสเสต และ ชุตินา และไพรัตน์ (2552) ได้ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตเป็นสารดึงดูดการกินอาหารในกุ้งขาวโดยใช้ฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่น พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสต 4 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารได้ดี สำหรับการนำโปรตีนไฮโครไลสเสตมาทดสอบการดึงดูดการกินอาหารในปลา วันชัย (2554) รายงานการผลิตและใช้โปรตีนไฮโครไลสเสตและสารสกัดจากปลา ซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารสัตว์มาใช้เป็นสารดึงดูดการกินในปลากดเหลือง พบว่าวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโครไลสเสต และระดับของโปรตีนไฮโครไลสเสตที่ใช้เคลือบเม็ดอาหาร มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลากดเหลือง โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เคลือบด้วยโปรตีนไฮโครไลสเสตจากเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสต 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณอาหารที่กินและการเจริญเติบโตของปลาที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเคลือบด้วยโปรตีนไฮโครไลสเสตจากหัวกุ้งกุลาดำ จากน้ำนิ่งปลาทูลำ และอาหารที่ไม่มีการผสมสารดึงดูด นอกจากนี้ Chotikachinda (2014) ได้ผลิตอาหาร โดยมีไก่ป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักเพื่อใช้เลี้ยงปลากะพงขาว โดยเสริมเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร พบว่าการเสริมเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสตลงในอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารปกติที่ไม่มีการเสริมเครื่องในปลาทูลำไฮโครไลสเสต

### 2.3 การเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ

การเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ คือ การลดลงของคุณภาพทางด้านต่างๆ เช่นกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการหรือไม่ยอมรับของผู้บริโภค การเสื่อมเสียเกิดจากสาเหตุหลายประการ อาจเกิดการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีในอาหารหรือปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบ (Mitchell and Henick, 1966) เมื่อเซลล์จุลินทรีย์มีการเจริญ มีการใช้สารอาหาร และเกิดเป็นสารประกอบต่างๆ หรือเกิดจากเอนไซม์ที่สร้างและหลั่งออกมาจากเซลล์ของจุลินทรีย์หลังจากเซลล์ตายแล้ว การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารจะมีระยะแรกเป็นระยะปรับตัว ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์เป็นไปอย่างช้าๆ เมื่อผ่านระยะนี้ไปก็จะเข้าสู่ระยะเพิ่มจำนวน โดยจุลินทรีย์จะมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วแบบอนุพันธ์ลอการิทึม จนมีจำนวนมากพอที่จะเป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย หลังจากผ่านช่วงนี้ไปได้ จะเป็นระยะคงที่ อัตราการเพิ่มจำนวนและการตายของจุลินทรีย์มีปริมาณเท่า ๆ กัน หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะการตาย จุลินทรีย์เริ่มลดจำนวนลง อัตราการตายมากกว่าการเพิ่มจำนวน เนื่องจากมีสารพิษสะสมมากขึ้น หากจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเจริญ เช่น มีสารอาหารอุดมสมบูรณ์ มีน้ำเพียงพอ และมีอุณหภูมิที่พอเหมาะ การเน่าเสียจากการเจริญของจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ของจุลินทรีย์จะทำให้เกิดลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น กลิ่น รส เนื้อสัมผัส การเกิดแก๊ส การไหลเยิ้มของของเหลว เป็นต้น โดยทั่วไปการเน่าเสียจากการเจริญของจุลินทรีย์จะเกิดได้รวดเร็วกว่าการเน่าเสียจากเอนไซม์ ที่หลั่งออกมาหลังจากเซลล์จุลินทรีย์ตายแล้ว ดังนั้นหากมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก็จะมีผลทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียได้เร็วขึ้น

การเสื่อมสภาพเกิดจากเอนไซม์ ซึ่งจัดเป็น โปรตีนที่พบในสิ่งที่มีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งที่มีชีวิต เช่น การสลายโมเลกุลของสารอาหารที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลง รวมทั้งเร่งการสังเคราะห์สารต่างๆภายในเซลล์ เมื่อพืชและสัตว์ ถูกเก็บเกี่ยวหรือฆ่าเพื่อนำเนื้อสัตว์มาใช้เป็นอาหาร เอนไซม์ที่ยังคงทำหน้าที่อยู่จะเป็นการเร่งการสลายโมเลกุลของอาหาร เช่น เร่งให้ผลไม้สุก สีเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ทำให้ผลไม้ไม่มีรสหวาน และมีเนื้อนิ่มลง ตัวอย่างการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์ เช่นเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์ไลพอกซิเดส เป็นเอนไซม์ที่เร่งการย่อยสลายของไขมัน พบทั่วไปได้ในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุทำให้น้ำมัน เนื้อสัตว์ พืช และอาหารสด ที่มีไขมันสูงเกิดกลิ่นหืน โดยเอนไซม์นี้จะเร่งการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ให้เป็นกรดไขมันอิสระ จากปัจจัยข้างต้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ ดังนี้



### 2.3.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

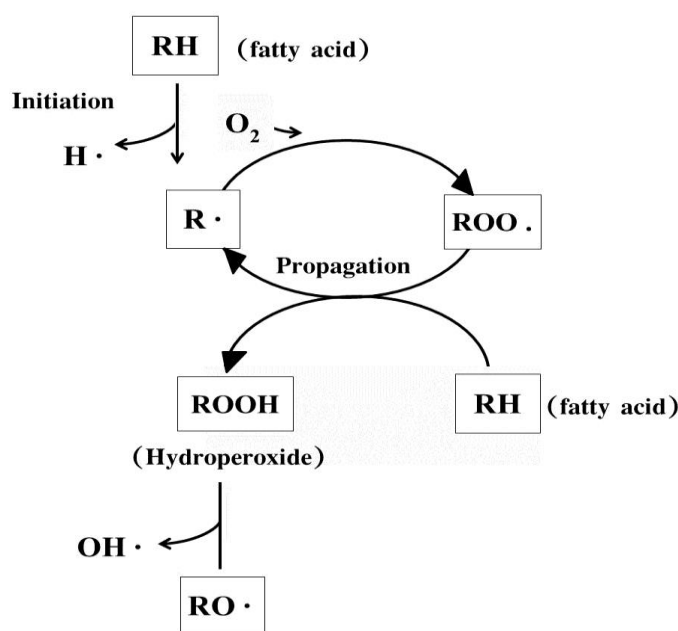
ปฏิกิริยาทางเคมีส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีในวัตถุดิบตามธรรมชาติ ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม การเสื่อมคุณภาพส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของวัตถุดิบในด้านต่างๆ เช่น เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน การเกิดการย่อยสลายของโปรตีน เกิดการเน่าเสีย และเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์

#### 1) การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี

อัตราเสื่อมสภาพของวัตถุดิบจะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ ระดับของอุณหภูมิและระยะเวลาของการเก็บรักษา ปริมาณและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีอยู่ในวัตถุดิบ ในขณะที่วัตถุดิบเริ่มเสีย โปรตีนจะถูกสลายเป็นเปปไทด์ กรดอะมิโนอิสระ เอมีน แอมโมเนียที่ระเหยได้ทั้งหมด และเอมีนที่ระเหยได้ทั้งหมด นอกจากนั้นยังเกิดกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชันของกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฮีสทีดีน ไลซีน อะซีนิน และไทโรซีน ให้กลายเป็นฮีสตามีน พูทรีซิน และไทรามีน ในวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นแหล่งโปรตีน พบการเสื่อมสภาพได้ในปลาหลังจากที่ถูกจับและตาย ในระยะเวลานั้นจะเกิดกระบวนการย่อยตัวเองทำให้ปลาเริ่มเน่าเสีย ขณะเดียวกันแบคทีเรียที่ติดมากับเหงือกจะเริ่มเจริญและแบ่งตัวหลังการย่อยตัวเอง แบคทีเรียที่ทำให้ปลาเน่าเสีย ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ทนต่อความเย็นได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส แต่ทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง - 5 องศาเซลเซียส การวัดเมแทบอลิต์ที่เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆ ในเมแทบอลิซึมของสารอาหารที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จากการกระทำของแบคทีเรียพวกนี้ เช่น การหาปริมาณรวมของค่าที่ระเหยได้ (Total volatile bases nitrogen, TVB-N) และไตรเมทิลอะมีน (Trimethylamine) นอกจากนี้ค่าแอมโมเนียในโตรเจน ( $\text{NH}_3$ ) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรียซึ่งก็เป็นองค์ประกอบในค่า TVB-N ค่าแอมโมเนียจึงเป็นอีกดัชนีที่บ่งบอกการเสื่อมในสัตว์น้ำได้ (สุทธวัฒน์, 2548) ค่า TVB-N สามารถใช้เป็นดัชนีบอกความสดของปลาได้ โดยปลาที่มีค่า TVB-N ต่ำกว่า 20 mgN/100g กรัม ถือว่ามีความสดมาก ค่า TVB-N ที่เกินกว่า 30 mgN/100g และหากมีค่าถึง 40 mgN/100g จัดเป็นปลาที่เสื่อมคุณภาพไม่เหมาะสมต่อการบริโภค อย่างไรก็ตาม นอกจากระดับของฮีสตามีนที่เกิดจากกรดอะมิโนฮีสทีดีนที่ถูกดีคาร์บอกซิเลชันจะแสดงถึงความสดของปลาได้แล้ว ยังแสดงถึงความเน่าในตัวของปลาได้ด้วย โดยกลุ่มปลาที่พบสารนี้ได้มากคือ ปลาโอ ปลาทูน่า เป็นต้น

## 2) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (ภาพที่ 6) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะเกิดคู่กัน สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเรียกว่า ตัวรีดิวซ์ และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดส์ ปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องกัน เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมายหลายชนิดและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไประหว่างออกซิเจนกับไขมันซึ่งหมายถึงไตรกลีเซอไรด์ ที่มีกรดไขมันชนิดชนิดไม่อิ่มตัวที่ ตำแหน่งพันธะคู่ ทำให้เกิดสารที่หักเหและรสที่ผิดปกติ เรียกว่า กลิ่นหืน (Lundberg, 1966) ซึ่งเป็นกลิ่นผิดปกติของไขมันหรือน้ำมัน เป็นการเสื่อมเสียของอาหาร เนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี



ภาพที่ 6 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ที่มา Hamilton (1994)

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

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

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

### 2.3.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

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

### 2.3.3 การเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติเชิงหน้าที่

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของโปรตีนที่อยู่ในตัววัตถุดิบ เช่น ชนิดและปริมาณการจัดเรียงของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ ความยาวและรูปร่างของสายเปปไทด์ สัดส่วนระหว่างความชอบน้ำและความไม่ชอบน้ำ และความสามารถของโมเลกุลโปรตีนในการทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ (Damodaran, 1996) ความสามารถในการละลายของโปรตีนจัดเป็นคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญ ในการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในสัตว์น้ำ ทั้งนี้เนื่องจากการละลายของกรดอะมิโนอิสระในวัตถุดิบโปรตีน จะเป็นตัวกระตุ้นให้สัตว์น้ำมุ่งเข้าหาอาหาร ในการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการละลายน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเสตพบว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นอยู่กับระดับการย่อยสลาย ความเป็น

กรด-ด่าง และชนิดของเอนไซม์ในการย่อยสลาย Quaglia และOrban (1987) ได้ศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลาซาร์ดีนด้วยเอนไซม์อัลคาเลสและเอนไซม์ปาเปน พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยสลายมีความสามารถในการละลายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากโปรตีนถูกย่อยสลายทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและจำนวนหมู่ที่มีขั้วเพิ่มมากขึ้น ซึ่งหมู่ที่มีขั้วเหล่านี้สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำได้ดีขึ้น โปรตีนไฮโดรไลสจึงมีความสามารถในการละลายได้ดีขึ้น ในขณะที่คุณสมบัติในการอุ้มน้ำแสดงถึงความสามารถของโปรตีนในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ในโครงสร้าง การย่อยสลายโปรตีนจะทำให้จำนวนหมู่ที่มีขั้วมากขึ้น เช่น หมู่คาร์บอกซิลและหมู่อะมิโน มากขึ้นทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ และกักเก็บโมเลกุลน้ำไว้ได้ดีขึ้น สำหรับคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมัน ปัจจุบันได้มีนักวิจัยหลายท่านศึกษาวิจัยพบว่า โปรตีนไฮโดรไลสจากปลามีความสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลสอาจทำหน้าที่เป็นสารจับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือเป็นสารจับอนุมูลอิสระ ความสามารถของโปรตีนไฮโดรไลสในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันขึ้นอยู่กับ ชนิด รูปแบบ จำนวน และการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในสายเปปไทด์ ความยาวของสายเปปไทด์ ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ สภาวะการย่อยสลาย และระดับการย่อยสลาย เป็นต้น (Hattori *et al.*, 1998)

## 2.4 การรักษาคุณภาพของวัตถุดิบ

การรักษาคุณภาพของวัตถุดิบคือการยืดอายุการเก็บรักษาวัตถุดิบให้คงสภาพเช่นเดียวกับหลังการผลิต ชะลอการเสื่อมเสียทางคุณภาพจากสาเหตุต่างๆ โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับการรักษาคุณภาพของวัตถุดิบดังต่อไปนี้

### 2.4.1 การลดปริมาณความชื้นในวัตถุดิบ

การลดความชื้นหรือน้ำอิสระออกไปจากอาหาร จนมีน้ำเหลือไม่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์จัดเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการป้องกันการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ การทำให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิระหว่าง 51-60 องศาเซลเซียส จะช่วยถนอมคุณภาพและวิตามินในผักและผลไม้ได้ดีกว่าการใช้อุณหภูมิสูง พบว่า ถ้าความชื้นหรือน้ำอิสระในอาหารเหลือน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งปฏิกิริยาชีวเคมีของอาหารได้ การทำให้วัตถุดิบมีความเข้มข้นขึ้น เช่น การผลิตนมผงจะมีขั้นตอนการทำน้ำนมให้เข้มข้น เพื่อเพิ่ม

ปริมาณของแข็งในน้ำมันสด จากเดิมประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ให้ได้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ให้อยู่ในรูปเข้มข้นก่อนที่จะทำให้อยู่ในรูปแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย การแยกน้ำบางส่วนออกจากอาหารเหลวที่มีปริมาณน้ำมาก ทำให้มีส่วนที่เป็นของแข็งมากขึ้น อาหารมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จะช่วยให้เกิดการถนอมอาหารและยืดอายุการเก็บรักษา ส่งผลให้อาหารมีค่า Water activity ลดต่ำลง ซึ่งจะควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (รุ่งนภา และไพศาล, 2545) วัตถุประสงค์ของโปรตีนไฮโดรไลสจากปลาหลังการผลิตจะมีความชื้นสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ มีรายงานการทำแห้งของโปรตีนไฮโดรไลสด้วยวิธีต่างๆ เช่น การทำให้อยู่ในรูปหนืด การอบแห้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นต้น Mahesh และคณะ (1993) พบว่าวัตถุประสงค์ที่ใช้กรรมวิธีทำแห้งที่ต่างกันจะให้สีของตัวผลิตภัณฑ์ที่ต่างกัน โดยการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลสเป็นผงที่มีสีขาวครีม ส่วนการทำแห้งแบบสุญญากาศทำให้ได้โปรตีนไฮโดรไลสเป็นผงที่มีสีน้ำตาล นอกจากนี้อนันต์ (2551) ได้ผลิตไฮโดรไลสจากเครื่องในปลาทูน่า เพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นการกินในอาหารสำหรับกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) โดยนำไฮโดรไลสมาทำแห้งโดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยน้ำออกจนได้ลักษณะขุ่นเหนียว หลังจากนั้นนำไฮโดรไลสในรูปหนืดที่ได้ผสมกับแป้งสาทิในอัตราส่วน ไฮโดรไลส 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อแป้งสาทิ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผลิตแห้งแบบผสมแป้งไม่ทำให้อุ้งประกอบทางเคมีของกุ้งแตกต่างจากการใช้ไฮโดรไลสแบบรูปเหลว

#### 2.4.2 การลดการสัมผัสของวัตถุดิบกับอากาศ

อากาศเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับวัตถุดิบ การลดการสัมผัสของวัตถุดิบกับอากาศจึงเป็นแนวทางที่จะลดการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบได้ ตัวอย่างการลดการสัมผัสอากาศในวัตถุดิบ เช่น การบรรจุด้วยระบบสุญญากาศเป็นการบรรจุที่มีการดูดอากาศในบรรจุภัณฑ์ออกไปก่อนปิดผนึกหรือปิดฝา ทำให้ภายในมีภาวะเป็นสุญญากาศ หรือกระบวนการบรรจุที่เป็นผลทำให้มีระดับออกซิเจนภายในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่มีปริมาณลดลงกว่าปกติ ซึ่งการที่ไม่มีออกซิเจนจะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญ ซึ่งมักเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหาร อีกทั้งช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร จึงลดการเกิดการเหม็นหืนและการเปลี่ยนสีทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษา รูปแบบการบรรจุแบบสุญญากาศที่นิยมนำมาใช้ คือ บรรจุตัวอย่างลงในถุงและใช้การหดตัวของถุงเพื่อดึงอากาศออก โดยเมื่อบรรจุตัวอย่างในถุงแล้ว จะทำการดึงอากาศออก แล้วปิดผนึกด้วยความร้อน หรือใช้ลวดรัดปลายทั้งสองเพื่อป้องกันการกลับเข้ามาของอากาศ ถุงนี้นิยมนำมาใช้ในการบรรจุแบบสุญญากาศมักทำจากฟิล์ม

พลาสติกที่สามารถหดตัวได้ เช่น โพลีเอททิลีน ไนลอน เป็นต้น ถึงแม้การบรรจุในรูปแบบสุญญากาศจะช่วยในการถนอมวัตถุดิบ ด้วยการลดปริมาณออกซิเจนที่จะเข้ามาสัมผัสกับวัตถุดิบ แต่ในขณะเดียวกันอาจเอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน โดยเฉพาะ แบคทีเรียชนิด *Clostridium botulinum* ซึ่งสามารถผลิตสารพิษที่มีชื่อว่า โบทูลิซึม แบคทีเรียชนิดนี้จะเจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในขณะที่เชื้อจุลินทรีย์ทั้งที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสีย และที่ทำให้เกิดโรคมักเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน โดย *C. botulinum* บางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิห้องเย็น แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคืออุณหภูมิห้อง ซึ่งสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ได้จากการควบคุมวัตถุดิบให้มีค่า aw ต่ำกว่า 0.86 และ pH ต่ำกว่า 4.6 ในขณะที่การใส่สารกำจัดออกซิเจนลงในบรรจุภัณฑ์ร่วมกับวัตถุดิบ ก็เป็นอีกทางเลือกในการลดปริมาณการสัมผัสของออกซิเจนกับตัวอย่าง สารกำจัดออกซิเจนมีสมบัติสามารถดูดซับออกซิเจนได้ อาจเรียกว่า Oxygen absorber โดยตัวเองทำปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง ชนิดที่นิยมใช้เป็นการค้าได้แก่ ผงไอออนออกไซด์ ซึ่งเป็น ธาตุเหล็ก หรือสารประกอบธาตุเหล็ก โดยไม่ได้ใช้ผสมลงไปในอาหาร โดยตรง แต่อาจบรรจุในซองเล็กแล้วใส่ไว้ภายในบรรจุภัณฑ์ชั้นใน หรือผสมในเนื้อพลาสติกที่ใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์ เช่น โพลีเอททิลีน เพื่อช่วยในการดูดซับออกซิเจนภายในบรรจุภัณฑ์เหมาะสำหรับใช้ในบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหารแห้ง

#### 2.4.3 การลดอุณหภูมิในการเก็บรักษา

อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลกระทบต่อระยะเวลาในการเก็บรักษาคุณภาพของวัตถุดิบ การแช่เยือกแข็ง เป็นกรรมวิธีการแปรรูปที่ได้รับความนิยม การลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส น้ำในอาหารจะเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็ง เป็นกรรมวิธีการถนอมอาหารที่คงความสด และรักษาคุณภาพอาหารได้ดีกว่าการถนอมอาหารด้วยการเก็บในอุณหภูมิปกติ ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งหลากหลายรูปแบบในท้องตลาด การแช่เยือกแข็งใช้ได้ดีกับอาหารแทบทุกชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ หรืออาหารที่ผ่านการปรุงสุก การแช่เยือกแข็งสามารถใช้ร่วมกับกรรมวิธีการแปรรูปอาหารวิธีอื่น เช่น การพาสเจอร์ไรส์ การทำให้เข้มข้น การฉายรังสี การหมัก เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารให้นานขึ้น การแช่เยือกแข็งไม่ได้เป็นกรรมวิธีที่มุ่งทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรค แต่เป็นการใช้อุณหภูมิต่ำเพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวน ผลิตภัณฑ์อาหารแช่เยือกแข็งต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส ตลอดเวลา เพื่อรักษาคุณภาพ ป้องกันการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์

### บทที่ 3

#### การทดลองที่ 1

#### ผลของรูปแบบและระยะเวลาการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าต่อคุณภาพและการนำมาใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)

##### 3.1 บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมีของตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ พบว่าระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ความชื้นของ D-TVH เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงความชื้นในตัวอย่าง C-TVH สำหรับปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N) และการออกซิเดชันของไขมัน (TBARS) พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีค่าทั้งสองเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ D-TVH มีค่า TVB-N เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป และมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 และลดต่ำลงในเวลาต่อมา ค่าสีของตัวอย่างทั้งสองรูปแบบแสดงการลดลงของความสว่าง ( $L^*$ ) ขณะที่ค่าที่แสดงความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และเหลือง ( $b^*$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตามระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่เก็บรักษา 3 ช่วงเวลา (0, 4 และ 8 สัปดาห์) เสร็จลงในอาหาร (ไม่มีปลาปน) ที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม นำไปเลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย  $2.19 \pm 0.02$  กรัมต่อตัว ที่ความหนาแน่น 8 ตัวต่อตู้ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวสุดท้ายเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปลาที่กินสูตรควบคุมซึ่งไม่มีส่วนผสมของปลาปนมีระดับต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปลาที่กินอาหารสูตรที่ไม่มีปลาปนแต่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ และสูตรอ้างอิงที่มีส่วนผสมของปลาปน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกพารามิเตอร์ ( $p > 0.05$ ) ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต แต่ไม่มีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารดึงดูดการกินอาหารของลูกปลากะพงขาว พบว่าโปรตีนใน D-TVH มีการลดลงและเสื่อมคุณภาพขององค์ประกอบทางเคมี การเน่าเสียและการเกิดการออกซิเดชันของไขมัน น้อยกว่า C-TVH ดังนั้นควรใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งเมื่อต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศ (22-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 สัปดาห์



### 3.2 บทนำ

โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส ในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี มีกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง เหมาะแก่การนำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนทางเลือกทดแทนแหล่งโปรตีนราคาแพงที่ใช้กันในปัจจุบัน (Kolkovski and Tandler, 2001) โปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถผลิตได้จากทั้งพืชและสัตว์ เพื่อเพิ่มระดับของโปรตีนในวัตถุดิบให้มีระดับกรดอะมิโนที่สูงขึ้น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสถูกนำมาใช้เพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับวัตถุดิบที่เป็นเศษเหลือจากภาคอุตสาหกรรม ในปัจจุบันประเทศไทยส่งออกปลาทูน่ากระป๋องมากเป็นอันดับต้นๆ ของโลก มีการเพิ่มขึ้นของภาคอุตสาหกรรมและโรงงานผลิต เกิดเป็นเศษเหลือในส่วนของอวัยวะของปลาที่ไม่ใช้ในการผลิตเครื่องในปลาทูน่าจึงเป็นของเหลือที่มีความเหมาะสมในการนำมาศึกษา เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง เมื่อผลิตเป็นเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตจะเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบ จนสามารถนำมาใช้ทดแทนแหล่งโปรตีนส่งเสริมการเจริญเติบโต อีกทั้งช่วยดึงดูดการกินอาหารในสัตว์น้ำได้ดี (Lee *et al.*, 2004) งานวิจัยต่างๆ ซึ่งให้เห็นว่าสามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในปลาทูน่ามาใช้ในอาหารสัตว์น้ำได้ดี (วันชัย, 2554; Cahu *et al.*, 1999) การนำมาใช้ในปลากระพงขาวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในระบบการเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวมีความพยายามลดการใช้ปลาป่นที่มีราคาสูง โดยการทดแทนด้วยวัตถุดิบโปรตีนอื่นๆ ทั้งจากพืชและสัตว์บก แต่ผลการทดแทนแหล่งโปรตีนกลับลดทอนความน่ากินของอาหารลง การนำวัตถุดิบโปรตีนต่างๆ มาทดแทนปลาป่นจึงใช้ได้เพียงปริมาณที่จำกัด Chotikachinda (2014) รายงานถึงการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหารในปลากระพงขาว พบว่าให้ผลที่ดีที่สุดต่อการเพิ่มการกินอาหารของปลา เมื่อใช้ร่วมกับอาหารใช้วัตถุดิบโปรตีนจากไก่ป่นและกากถั่วเหลือง แม้จะพบว่าเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมีความสามารถที่ดีในการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน หรือเป็นสารดึงดูดการกิน แต่ในภาคอุตสาหกรรมการผลิตจริง นอกจากคุณสมบัติในการนำมาใช้ยังต้องคำนึงถึงรูปแบบที่เหมาะสมของตัววัตถุดิบ และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่จะสามารถนำมาใช้งานได้ดี เนื่องจากวัตถุดิบโปรตีนมักมีการเสื่อมเสียและลดลงของคุณภาพไปตามเวลา การเสื่อมเสียมีสาเหตุได้จากหลายสาเหตุ ทั้ง การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บ และปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นจากตัวของวัตถุดิบเอง การเสื่อมสภาพมีรายงานในโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตได้จากส่วนหัวและไส้ปลาทรายแดง เมื่อพิจารณาจากปริมาณไขมันที่มีอยู่ในส่วนหัวและไส้ปลา พบว่าปริมาณไขมันที่สูงมีผลต่อสีและคุณภาพโปรตีนไฮโดรไลเสตภายหลังการเก็บ (ปราณี, 2539 อ้างโดย รุ่ง

อรุณ, 2545) เพื่อให้สามารถนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษานี้จึงเป็นการหารูปแบบเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้งาน โดยคำนึงถึงผลของอายุการเก็บรักษาอุณหภูมิบรรยากาศ ที่จัดเป็นอุณหภูมิทั่วไปที่เกษตรกรมักจะนำมาใช้เก็บรักษาวัตถุดิบต่างๆ รวมถึงความสามารถในการทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดการกินเมื่อผ่านการเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ เพื่อให้เกิดองค์ความรู้ต่อการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์น้ำต่อไป

### 3.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษารูปแบบและเวลาในการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อผลของคุณภาพของไฮโดรไลเสต และการนำไปใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้เศษเหลือของเนื้อและอวัยวะต่างๆ จากอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อวัว

### 3.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

##### 1) การเตรียมเครื่องในปลาทูน่า

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

##### 2) เอนไซม์

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

##### 3) การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต

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

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

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

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

โดยที่  $L_t$  ตัวอย่างที่สิ้นสุดการทำปฏิกิริยาที่ย่อยด้วยเอนไซม์ 1 ชั่วโมง

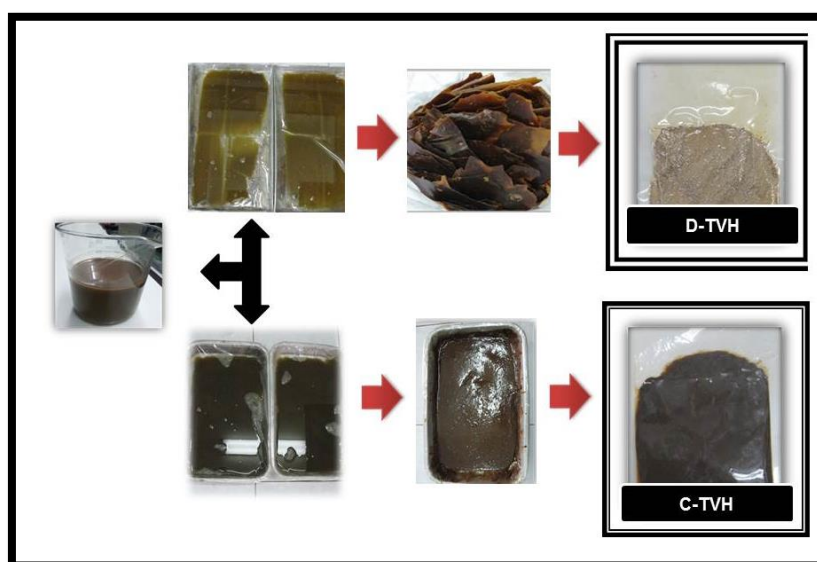
$L_0$  ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วยเอนไซม์

$L_{max}$  ตัวอย่างที่เริ่มทำปฏิกิริยาย่อยด้วย 6 M HCl 24 ชั่วโมง

#### 4) การผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบต่างๆ

รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการผลิตแสดงดังภาพที่ 7 โดยการผลิตในรูปแบบหนืด (C-TVH) นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปของเหลวมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อทำการระเหยน้ำออกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังผ่านการอบเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ได้ จะมีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำไปบรรจุลงในถุงโพลีเอททิลีนที่ปิดผนึกด้วยระบบสุญญากาศเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิบรรยากาศ ในขณะที่การผลิตเครื่อง

ในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบแห้ง(D-TVH) ดัดแปลงตามวิธีของ อานัส (2551) โดยทำการหาคำนวณน้ำหนักแห้งของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบของเหลวตามวิธีของ AOAC (1995) เติมน้ำเกลือลงในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตตามปริมาณน้ำหนักแห้งในอัตราส่วน เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตต่อแป้งสาลี 80:20 (w/w) นำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตและแป้งสาลีมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้งสนิท จากนั้นจึงนำไปบรรจุลงในถุงโพลีเอททิลีนที่ปิดผนึกด้วยระบบสุญญากาศเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิบรรยากาศ นำไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและพารามิเตอร์ต่างๆ โดยทำการเก็บตัวอย่างมาศึกษาทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลานาน 8 สัปดาห์



ภาพที่ 7 รูปแบบของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการผลิต

### 3.4.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ

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

### 1) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีของ AOAC (1995) เพื่อหาส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เกล็ด และความชื้น ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป (ภาคผนวก ก.)

### 2) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่า pH มักขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบ โดยมีผลต่ออายุการเก็บรักษาและความปลอดภัย โดยค่า pH จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนที่แตกตัวทำให้มีความรุนแรงของกรดหรือความสามารถในการลดค่า pH ได้แตกต่างกัน เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง pH ที่ต่างกัน หากวัตถุดิบมีค่าเป็นกรดต่ำอาจก่อให้เกิดโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จะเติบโตได้ ขั้นตอนการตรวจสอบ pH วิเคราะห์โดยวิธีของ Benjakul และคณะ (1997) (ภาคผนวก ข.)

### 3) ปริมาณน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ (aw)

ค่าน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการเจริญของจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้วัตถุดิบเกิดการเน่าเสีย ในทางปฏิบัติการวัดค่า aw คือ การวัดความชื้นสัมพัทธ์ที่สมดุล โดยใช้เครื่องวัดค่า aw วัดค่าโดยทำการบรรจุตัวอย่างในภาชนะเล็กๆ สอดภาชนะนั้นไว้ในช่องที่ปิดกั้นตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมภายนอก หัววัดภายในช่องจะทำหน้าที่วัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่อยู่เหนือตัวอย่าง หลังจากทิ้งไว้ระยะหนึ่งจนการวัดความชื้นสัมพัทธ์ให้ค่าคงที่ แสดงผลค่า aw อยู่ในช่วง 0 ถึง 1.0 (ภาคผนวก ข.)

### 4) ค่าการละลายของไนโตรเจน (NSI, เปอร์เซ็นต์)

การวิเคราะห์หาค่าการละลายของไนโตรเจนดัดแปลงตามวิธีศึกษาของ Morr และคณะ (1985) เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารโดยส่วนใหญ่คือน้ำ โปรตีนที่สามารถยึดจับน้ำหรือละลายน้ำได้จึงสามารถรวมตัวเข้ากับอาหารและแสดงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ได้ โปรตีนที่นำมาใช้ประโยชน์เชิงหน้าที่จึงควรจะสามารถในการละลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อนำมาใช้เป็นสารดึงดูดการกินของสัตว์ที่มีน้ำเป็นตัวกลาง ขั้นตอนการวิเคราะห์ NSI โดยนำตัวอย่างมาละลายในสารละลายเกลือ จากนั้นทำการหมุนเหวี่ยงแยกเพื่อศึกษาการละลายของไนโตรเจนในน้ำ ก่อนนำสารละลายส่วนใสที่ผ่านการกรองไปวิเคราะห์หาไนโตรเจนทั้งหมดอีกครั้ง (ภาคผนวก ข.)

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

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1995) เนื่องจากแบคทีเรียที่ทำให้ปลาเกิดการเน่าเสียอยู่ในพวกไฟโตโทรฟิคแบคทีเรีย การวัดเมตาบอลิซึมที่เกิดจากการกระทำของแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยการหาปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจึงเป็นดัชนีที่บ่งบอกการเสื่อมเสียในสัตว์น้ำหรือวัตถุดิบสัตว์น้ำได้ ขั้นตอนการหาวิเคราะห์โดยชั่งตัวอย่างนำมาผสมกับ MgO และน้ำกลั่นที่ปราศจากอ็อกซิเจน จากนั้นนำไปกลั่นในหลอดโปรตีน โดยใช้กรดบอริกเป็นสารดักจับไนโตรเจนที่ระเหย ก่อนนำสารที่ได้มาไทเทรตหาปริมาณของไนโตรเจน (ภาคผนวก ข.)

### 6) ระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (TBARS, mgMAD/kg)

ดัดแปลงตามวิธีของ Buege และ Aust (1978) เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นการเสื่อมเสียที่พบได้บ่อยๆ ในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ นำไปสู่การเกิดกลิ่นหืนในวัตถุดิบ สามารถตรวจวัดการเกิดได้ด้วยการวัดค่าการเกิดออกซิเดชันของไขมัน เปรียบเทียบผลที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ Malondialdehyde (ภาคผนวก ข.)

### 7) ค่าสี

การเปลี่ยนแปลงของสี ค่าสีเป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพที่มักถูกนำมาใช้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงสภาพไปของวัตถุดิบ นิยมวัดด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab ในระบบ Commission international del'clairage แสดงผลเป็น L\* a\* และ b\* ซึ่งมีหน่วยการแบ่งค่าสีเป็นช่วงสี โดย L\* คือ ค่าที่บอกความสว่าง (สีดำ = -L\* และ สีขาว = +L\*) a\* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีแดง และ เขียว (ค่า a+ คือ สีแดง และ ค่า a- คือ สีเขียว) และ b\* คือ ค่าที่บอกความเป็นสีเหลือง และ น้ำเงิน (ค่า b+ คือ สีเหลือง และ ค่า b- คือ สีน้ำเงิน) (ภาคผนวก ข.)

## 3.4.3 การนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารตั้งต้นการกินในอาหารปลากะพงขาว

### 1) การวางแผนการทดลอง

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

## 2) การเตรียมปลาทดลอง

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

## 3) การเตรียมอาหารทดลอง

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

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

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารในการทดลองที่ 1 (As-fed basis)

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

<sup>1</sup>วิตามิน (0.6%) ประกอบด้วย Thiamin HCl 60, Riboflavin 100, Pyridoxine HCl 40, Folic acid 15, Calcium pantothenate 100, Inositol 2000, Biotin 6, Vitamin B<sub>12</sub> 0.1, Menadione 50, Tocopherol acetate 100, Vitamin A D<sub>3</sub> ( 500 IU of A+100 IU of D<sub>3</sub>/mg) 8, Choline chloride 5000, Ascorbic acid 500 (มก/กก. อาหาร) และ แร่ธาตุรวม (4.0%) ประกอบด้วย CaHPO<sub>4</sub> 8, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>· 2H<sub>2</sub>O 15, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10, KCl 5 (ก./กก.อาหาร)

<sup>2</sup>เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบชนิดที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

<sup>3</sup>เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้งที่มีเครื่องในปลาทูน่าในรูปแบบแห้งต่อแป้งสาลี (80:20) ที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ



#### 4) การศึกษาการเจริญเติบโตและการใช้อาหาร

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

อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)

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

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม (เปอร์เซ็นต์)

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

อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

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

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

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

น้ำหนักอาหารที่ปลากิน

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

### 3.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการวัดคุณภาพของเครื่องในปลาทUNA ไฮโดรไลสเสดทั้ง 2 รูปแบบ ภายหลังจากเก็บรักษา และข้อมูลการเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วย อัตราการรอดตาย เพอร์เซ็นต์น้ำหนักปลาที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่ปลากิน นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย Tukey's HSD test และ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เพอร์เซ็นต์

### 3.5 ผลการทดลอง

#### 3.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตหลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ

เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผ่านการผลิตเป็น 2 รูปแบบคือ รูปหนืด (C-TVH) และรูปแห้ง (D-TVH) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่า C-TVH มีโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นในฐานน้ำหนักแห้ง เท่ากับ  $83.67 \pm 0.23$ ,  $4.56 \pm 0.03$ ,  $13.83 \pm 0.47$  และ  $39.55 \pm 0.44$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน D-TVH เท่ากับ  $73.15 \pm 0.51$ ,  $4.66 \pm 0.24$ ,  $11.94 \pm 0.25$  และ  $18.09 \pm 0.05$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนของคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์ใช้ในการเติบโต (aw) และค่าการละลายของไนโตรเจน (NSI) ของตัวอย่าง C-TVH เท่ากับ  $6.82 \pm 0.03$ ,  $0.72 \pm 0.00$  และ  $98.28 \pm 0.04$  ตามลำดับ เช่นเดียวกับตัวอย่าง D-TVH เท่ากับ  $6.47 \pm 0.01$ ,  $0.32 \pm 0.02$  และ  $96.32 \pm 0.41$  ตามลำดับ

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

##### 1) องค์ประกอบทางเคมี

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

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

## 2) ผลการเปลี่ยนแปลงของไอออน (pH)

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

## 3) ค่าปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์ใช้ในการเติบโต (aw)

ค่า aw แสดงดังตารางที่ 3 ตัวอย่าง C-TVH ภายหลังจากการผลิต เท่ากับ  $0.718 \pm 0.00$  เมื่อผ่านการเก็บรักษาโดยตู้โพลีเอทิลีนในระบบสุญญากาศภายใต้อุณหภูมิบรรยากาศ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นค่า aw จะลดลงอย่างช้าๆ จนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในสัปดาห์ที่ 8 วัดค่า aw ได้เท่ากับ  $0.708 \pm 0.00$  ขณะที่ตัวอย่าง D-TVH มีค่า aw ภายหลังจากการผลิตที่ระดับ  $0.317 \pm 0.02$  และมีค่า aw เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) วัดได้เท่ากับ  $0.347 \pm 0.01$

#### 4) ปริมาณการละลายของไนโตรเจน (NSI)

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

ตารางที่ 2 องค์ประกอบเคมีของเครื่องในปลาทูลาไฮโดรไลเสตรูปแบบชนิด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) (ฐานน้ำหนักแห้ง) ภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup> ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

ตารางที่ 3 ค่า pH aw และ NSI ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบชนิด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียกภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย 2 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยจำนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

<sup>2</sup>NSI (เปอร์เซ็นต์) = (ไนโตรเจนในสารละลาย (เปอร์เซ็นต์)/ไนโตรเจนในตัวอย่างทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์))x100

### 5) ปริมาณรวมของไนโตรเจนที่ระเหยได้ (TVB-N)

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

### 6) การเกิดออกซิเดชันของไขมัน (TBARS)

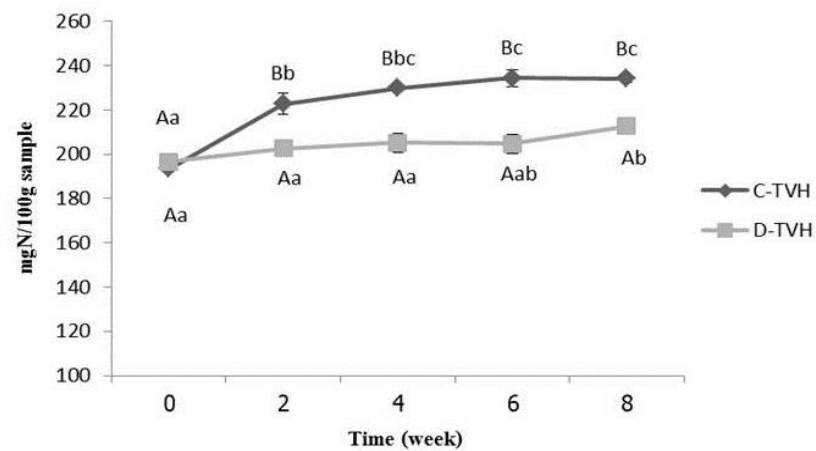
ค่า TVB-N ของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตภายใต้การเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์แสดงดังภาพที่ 9 พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีค่า TBARS หลังการผลิตเท่ากับ  $234.66 \pm 10.98$  mgMAD/kg และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 ที่มีค่า TBARS สูงที่สุดเท่ากับ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

### 7) ค่าสี

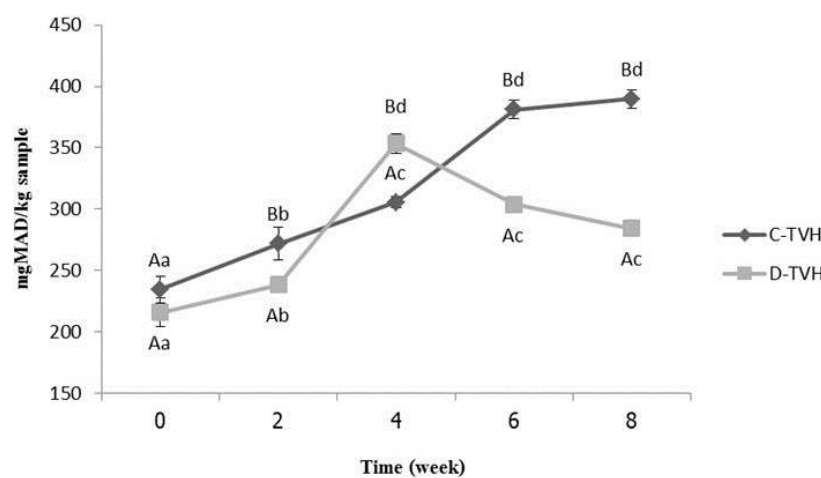
ค่าสีในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบ ภายใต้การเก็บรักษาแสดงดังตารางที่ 4 หลังทำการวัดค่าสีตัวอย่างในระบบ CEL ซึ่งแสดงผลเป็นค่า  $L^*$  (ค่าความสว่าง)  $a^*$  (ค่าความเป็นสีแดง) และ  $b^*$  (ค่าความเป็นสีเหลือง) พบว่า C-TVH หลังการผลิตมีค่า  $L^*$  เท่ากับ  $22.56 \pm$



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



ภาพที่ 8 ค่า TVB-N ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-test (ตัวอักษรพินน์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพินน์เล็ก) ในรูปน้ำหนักรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 9 ค่า TBARS ของตัวอย่างเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบหนืด (C-TVH) และแห้ง (D-TVH) ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วย T-Test (ตัวอักษรพินน์ใหญ่) Tukey's HSD test (ตัวอักษรพินน์เล็ก) ในรูปน้ำหนักรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์

**ตารางที่ 4** การเปลี่ยนแปลงของค่าสีในเครื่องในปลาทูลูน่าไฮโดรไลเสตรูปแบบชนิด (C-TVH) และรูปแบบแห้ง (D-TVH) ที่ตรวจสอบในรูปน้ำหนักเปียก ภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup> ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (P>0.05)

<sup>2</sup> L\*แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ L+ (ดำ) L- 100 (ขาว)

<sup>3</sup> a\* ที่เพิ่มแสดงค่าความเป็นสีแดงที่เพิ่มขึ้น และค่า a\* ที่ลดลงแสดงค่าความเป็นสีเขียวที่เพิ่มขึ้น

<sup>4</sup> b\* ที่เพิ่มแสดงค่าความเป็นสีเหลืองที่เพิ่มขึ้น และ ค่า b\* ที่ลดลงแสดงค่าความเป็นสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น

### 3.5.2 ผลของรูปแบบและระยะเวลาในการเก็บรักษา TVH ต่อความสามารถในการเป็นสารตั้งต้นการกินอาหารของปลากะพงขาว

#### 1) องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าอาหารทดลองทั้งหมดมีค่าโปรตีนที่วิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 44.02 - 42.02 เปอร์เซ็นต์ ค่าไขมันอยู่ในช่วง 11.21 - 12.10 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในช่วง 15.99 - 17.98 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นในอาหารอยู่ในช่วง 7.09 - 8.41 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับกับปริมาณของโปรตีน และ ไขมัน ที่กำหนดไว้ที่ระดับ 45 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

#### 2) ปริมาณการกินอาหาร และการเจริญเติบโต

ปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักสุดท้ายของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยไฮโดรไลเสต (TVH) 2 รูปแบบคือ รูปหนืด (C-TVH) และรูปแห้ง (D-TVH) ผ่านการเก็บรักษาในอุณหภูมิบรรยากาศ (22 - 28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาที่ต่างกัน (0 4 และ 8 สัปดาห์) ปริมาณอาหารที่ปลากินและน้ำหนักสุดท้ายของปลา แสดงดังตารางที่ 5 พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย TVH และสูตรอ้างอิงที่มีปลาปนเป็นส่วนประกอบ มีปริมาณการกินอาหารตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลองในระยะเวลา 4 สัปดาห์ สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีปลาปนและไม่มีการเสริม TVH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 ที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0 สัปดาห์ มีปริมาณการกินที่สูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ  $11.12 \pm 0.13$  กรัมต่อตัว โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับ TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาปนเป็นวัตถุดิบ ( $p > 0.05$ ) ขณะที่น้ำหนักสุดท้ายของปลาสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่กิน โดยปลาทดลองมีน้ำหนักสุดท้ายในชุดปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิงสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ให้น้ำหนักสุดท้ายสูงสุด เท่ากับ  $14.90 \pm 0.25$  กรัมต่อตัว แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาปนเป็นวัตถุดิบ ( $p > 0.05$ )

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 6 พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิงสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนัก

ที่เพิ่ม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันสูงที่สุด เท่ากับ  $583.20 \pm 16.02$  เปอร์เซ็นต์ และ  $6.86 \pm 0.08$  เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาปนเป็นวัตถุดิบ ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่สูตรควบคุมมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะน้อยที่สุด เท่ากับ  $347.28 \pm 4.56$  เปอร์เซ็นต์ และ  $5.34 \pm 0.34$  เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ ในส่วนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม TVH และสูตรอ้างอิงมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ที่เก็บเป็นเวลา 0 สัปดาห์ ให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด เท่ากับ  $0.87 \pm 0.03$  แต่ไม่พบความแตกต่างนี้ระหว่างปลาในกลุ่มที่ได้รับการเสริม TVH และชุดอ้างอิงที่มีปลาปนเป็นวัตถุดิบ ( $p > 0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงสุด เท่ากับ  $1.05 \pm 0.04$  ในขณะที่อัตราการรอดตายของปลาเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกชุดการทดลอง

ตารางที่ 5 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย และปริมาณอาหารที่กินของปลากะพงขาวในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูน่า ไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และ D-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0 4 และ 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup> ตัวเลขที่นำเสนมาเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

ตารางที่ 6 เปรอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม SGR FCR และ อัตราการรอดตายของปลากะพงขาวที่เลี้ยงในระยะเวลา 4 สัปดาห์<sup>1</sup> ด้วยอาหารที่เสริมเครื่องในปลาทูล่าไฮโดรไลเสต 2 รูปแบบ (C-TVH และD-TVH) ที่มีการเก็บรักษาระยะเวลา 0 4 และ 8 สัปดาห์

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

<sup>1</sup>ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยในสคหมักที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

### 3.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

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

หลังจากเก็บรักษา TVH เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โปรตีนในตัวอย่างของทั้ง 2 รูปแบบมีปริมาณลดลง สอดคล้องกับรายงานของ ฤทัยรัตน์ (2547) ที่ผลิตไฮโดรไลเสตจากหัวและไส้ของปลาทรายแดงในรูปแบบแห้ง ภายหลังจากเก็บรักษาพบว่าโปรตีนในไฮโดรไลเสตมีปริมาณโปรตีนลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งการลดลงของโปรตีนอาจเกิดจากการสลายของกรดอะมิโนอิสระโดยการเก็บเป็นเวลานานในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงจะเร่งการสลายของกลุ่มอะมิโน (March *et al.*, 1961) พบว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน เนื่องจากสารที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน เช่น มาลอนอัลดีไฮด์ (MAD) สามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่ที่มีความจำเพาะต่อกัน เช่น หมู่ซัลไฟไฮดริลของกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine-SH) หมู่อะมิโนของไลซีน (lysine-NH<sub>2</sub>) และปลายด้านอะมิโนของกรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) ทำให้โปรตีนมีการจับตัวเป็นโมเลกุลที่ใหญ่ขึ้น ทำให้ความไม่ชอบน้ำบนผิวของโมเลกุลโปรตีนเพิ่มมากขึ้น มีผลให้การละลายของไนโตรเจนลดน้อยลงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่า ตัวอย่าง C-TVH มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เก็บรักษา มีค่า NSI ลดลงสอดคล้องกับปริมาณการออกซิเดชันในไขมันที่เพิ่มขึ้น (



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

รูปแบบ และระยะในการเก็บรักษา TVH พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการละลายของไนโตรเจนกับการทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นการกิน ค่า NSI ในตัวอย่างทั้ง 2 รูปแบบมีค่าการละลายสูงกว่าร้อยละ 95 ขึ้นไปในทุกช่วงเวลาเก็บรักษา ผลที่ได้บ่งชี้ถึงความสามารถในการนำไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบมาใช้เป็นสารตั้งต้นการกินอาหารในปลากะพงขาวที่มีอวัยวะในการรับกลิ่นโดยผ่านตัวกลางคือน้ำ ยิ่งไนโตรเจนมีการละลายได้ดีปลาจะรับกลิ่นและว่ายน้ำเข้ามากินอาหารได้ดีขึ้น ในขณะที่ค่า TBARS ซึ่งเป็นค่าที่ใช้วัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอิสระที่อยู่ในไขมันที่ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันจะมีความสัมพันธ์กับค่า aw พบว่าในตัวอย่างที่มีค่า aw ระหว่าง 0.20 - 0.40 อัตราการเกิดการออกซิเดชันจะต่ำ ในขณะที่ตัวอย่างที่มีค่า aw อยู่ระหว่าง 0.40 - 0.75 จะมีอัตราการเกิดการออกซิเดชันอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าตัวอย่าง C-TVH ที่เกิดการออกซิเดชันของไขมันสูงกว่าตัวอย่าง D-TVH ที่มีค่า aw ต่ำกว่า เนื่องมาจากปริมาณน้ำในวัตถุดิบมีผลทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์และออกซิเจน ส่งผลต่อการเกิดการออกซิเดชัน (Nawar, 1996) ในตัวอย่าง D-TVH แม้จะมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ช้ากว่าเนื่อง C-TVH จากปริมาณของค่า aw ที่ค่อนข้างต่ำ แต่ก็ยังคงเกิดการออกซิเดชันขึ้นได้ เนื่องจากเครื่องในปลาท่อน้ำไฮโดรไลเสตยังคงมีไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงเป็นองค์ประกอบ ขณะที่ปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมดซึ่งเป็นตัวชี้วัดความเน่าเสียและการเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ (Arason, 1994) พบว่าตัวอย่าง TVH ที่ผลิตขึ้นทั้ง 2 รูปแบบ มีปริมาณ TVB-N หลังการผลิตอยู่ในช่วง 190 - 240 mg N/100g ค่า TVB-N ที่เกิดขึ้นสูงในวัตถุดิบเกิดจากส่วนของเครื่องในปลาที่เกิดกระบวนการออโตไลซิสได้รวดเร็วง่ายต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ภายหลังจากเก็บรักษา พบว่าตัวอย่าง C-TVH มีปริมาณของ TVB-N เพิ่มสูงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับตัวอย่าง D-TVH แสดงให้เห็นถึงว่าระดับความชื้นในวัตถุดิบมีผลต่อความเสื่อมสภาพของวัตถุดิบ และส่งผลต่อค่า TVB-N ที่เพิ่มสูงมากขึ้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งแสดงในลักษณะของสีที่เปลี่ยนแปลง โดยตัวอย่าง C-TVH มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) สูงกว่าตัวอย่าง D-TVH และเมื่อระยะเวลาผ่านไปพบว่าค่าความสว่างของ D-TVH ลดลงตามระยะเวลาที่เก็บมากกว่า C-TVH ในขณะที่ค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ซึ่งแสดงความเป็นสีแดง และสีเหลืองของเครื่องในปลาท่อน้ำไฮโดรไลเสตทั้ง 2 รูปแบบเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ ฤทัยรัตน์ (2547) ที่ผลิตไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาทรายแดงและเก็บรักษาในรูปแบบแห้ง เกิดการลดลงของค่าความสว่าง และมีการเพิ่มขึ้นของสีแดง และสีเหลืองในตัวอย่างที่เก็บเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดย Ranken (1994) ได้รายงานว่าการเกิดสีคล้ำใน

เนื้อสัตว์ที่ผ่านการเก็บรักษา เนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันกับไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์ เปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบินที่เป็นสีน้ำตาล ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลสได้จากการศึกษาครั้งนี้ผ่าน ความร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส และมีการแยกส่วนของไขมันออกไปในขั้นตอนการผลิต ก่อนเก็บรักษา อยู่ในอุณหภูมิ 22 - 28 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงทางของสีในผลิตภัณฑ์ไฮโดรไลสเดจึงควร เกิดขึ้นต่ำ เช่นเดียวกับ Bragadottir และคณะ (2004) รายงานถึงปริมาณของการเปลี่ยนแปลงของค่าสีใน ปลาป่นที่รับได้ไม่ควรเกิน 4 - 5 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ D-TVH ที่เกิดการออกซิเดชันของไขมันต่ำกว่า C-TVH กลับพบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าสีสูงถึง 5 - 7 ทั้งนี้เกิดจากตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ในการ เก็บรักษาตัวอย่างในรูป D-TVH เกิดการจับตัวกันของเนื้อผลิตภัณฑ์ทำให้ต้องทำการบดซ้ำอีกครั้งก่อน นำเข้าสู่กระบวนการวัดค่าสี การกระจายตัวและขนาดของเนื้อของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนไปจึงอาจส่งผล กับการตรวจวัดค่าสี ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าสีในช่วงที่กว้างขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ C-TVH ที่มีการเปลี่ยนของสีเพียง 1 - 3

ปริมาณการกินอาหารของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเดทั้ง 2 รูปแบบ ที่มีการเก็บรักษา 3 ช่วงเวลา (0 4 และ 8 สัปดาห์) และชุดอ้างอิงที่มีปลาป่น มีปริมาณ อาหารที่กินสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเด โดยปลากะพงขาวมีอัตราการ กินอาหารอยู่ในช่วง 4-7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน (คำนวณจากปริมาณอาหารที่กินทุกวัน) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chotikachinda (2014) ซึ่งพบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารเสริมด้วย โปรตีนไฮโดรไลสเดที่ระดับ 1-4 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร มีปริมาณการกินสูงกว่าชุดควบคุมเมื่อใช้ไก่ป่น เป็นแหล่งโปรตีนหลัก เช่นเดียวกับการศึกษาของ อานัส และชุตติมา (2551) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลสเด มีผลต่อการดึงดูดการกินอาหารในกึ่งกำกรมส่งผลให้กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีน ไฮโดรไลสเดมีปริมาณอาหารที่กินสูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลสเดเกิดจากการย่อย สลายกลุ่มของโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงจนเกิดเป็นกรดอะมิโนอิสระ Lee และคณะ (2004) รายงานถึง กรดอะมิโนที่พบได้มากในเครื่องในปลาทูน่าซึ่งประกอบด้วย ไกลซีน อะลานีน ลูซีน กรดแอสพาร์ติก และกรดกลูตามิก เมื่อนำมาย่อยให้อยู่ในรูปไฮโดรไลสเด ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่มีความสามารถในการ เป็นสารดึงดูดการกินก็ยังมีปริมาณเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ D'Abramo และคณะ (1997) ที่พบว่าสารที่มีส่วนประกอบของไนโตรเจน และโมเลกุลมีขนาดเล็กหรือน้ำหนักน้อยกว่า 1,000 ดัลตัน สามารถทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดการกินได้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ สุภาพร (2549) พบว่าเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเดที่มีปริมาณของ กรดกลูตามิกสูงสุด รองลงมาคือ อาร์จินีน ลูซีน และกรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ กรดอะมิโนอิสระเหล่านี้เป็นสารโมเลกุลเล็กที่มีไนโตรเจนเป็น องค์ประกอบหลัก และเมื่อเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ก็จะส่งเสริมการสลายโปรตีนทำให้เกิด กรดอะมิโนอิสระที่เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ Chotikachinda (2014) รายงานถึงระดับของกรดอะมิโนอิสระ

ในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเสตเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ลงไปในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลสเสต ซึ่งระดับการย่อยสลายที่สูงก็ยิ่งเพิ่มความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวได้ดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ที่ใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเสตที่ระดับการย่อยสลายที่ 60 เปอร์เซ็นต์

ในการศึกษานี้มีการใช้เนื้อป่นที่ได้จากเศษเหลืออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อโคเป็นแหล่งโปรตีนในอาหาร โดยไม่มีปลาป่นในอาหาร ผลการเจริญเติบโตพบว่าเมื่อมีการเสริมอาหารด้วย TVH การเจริญเติบโตของปลาไม่ได้รับผลกระทบจากการใช้เนื้อป่น ผลการนำเนื้อป่นมาใช้สอดคล้องกับศึกษาในปลาชนิดต่างๆ เช่น ในปลาเก๋าลายจุด ที่สามารถใช้เนื้อป่นผสมเลือดป่นได้สูงสุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Millamena, 2002) ในขณะที่พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นทั้งโปรตีน 60 และ 52 เปอร์เซ็นต์ ในฟาร์มเลี้ยงปลากะพงขาว ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ได้โดยการกินและเจริญเติบโตของปลาไม่แตกต่างจากอาหารทั่วไปที่ใช้อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวที่ประกอบด้วยปลาป่นในปริมาณสูง (Williams *et al.*, 2003) จากการศึกษาปลากะพงขาว พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ SGR ของปลามีค่าสูงกว่าปลาในสูตรควบคุม สอดคล้องกับรายงานของ Berge and Storebakken (1996) ซึ่งพบว่าปลาแซลมอนที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลสเสตจากปลาที่ระดับ 5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มีการกินอาหารได้ดี มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มและ SGR สูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลสเสต ในขณะที่ค่า FCR ของกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย TVH มีการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำเพียง 0.89-0.94 ใกล้เคียงกับ Chotikachinda (2014) รายงานถึงค่า FCR ในปลากะพงขาวที่ได้รับเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเสตในระดับที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนอิสระปริมาณมากในเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลสเสต สามารถดึงดูดให้ปลากะพงขาวยอมรับอาหารที่ใช้วัตถุดิบทดแทนปลาป่นได้ดี เช่นเดียวกับการศึกษาของ Khosravi และคณะ (2015) ที่เลี้ยงปลาทรายแดงด้วยอาหารที่ลดปลาป่นและทดแทนด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลือง เสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลสเสตที่ผลิตจากปลานิล พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลสเสตมีการกินอาหารและการเจริญเติบโตในทุกพารามิเตอร์สูงกว่าปลาที่ไม่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลสเสต

### 3.7 สรุปผลการทดลอง

ช่วงเวลาในการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตทั้งรูปแห้ง (C-TVH) และรูปหนืด (D-TVH) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต โดยตัวอย่าง D-TVH มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพภายหลังการเก็บรักษาน้อยกว่าตัวอย่าง C-TVH แต่ยังคงพบปัญหาเกี่ยวกับการนำมาใช้งานเนื่องจากเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้นกลับพบการจับตัวของเนื้อผลิตภัณฑ์ เพื่อลดปัญหาการดูดความชื้นกลับเข้าสู่เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตอาจทำการเพิ่มแป้งสาตินขั้นตอนการผลิตให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปแห้ง และอาจลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาเพื่อรักษาคุณภาพทางเคมีให้เปลี่ยนแปลงน้อยลง สำหรับการนำเครื่องในปลาทูน่าทั้ง 2 รูปแบบที่เวลาการเก็บรักษา 0 4 และ 8 สัปดาห์ มาเสริมในอาหารและเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ารูปแบบและเวลาในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการนำเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการเลี้ยงปลากะพงขาว

## บทที่ 4

### การทดลองที่ 2

**การศึกษาระดับการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่เหมาะสมโดยใช้เครื่องในปลาทูลาไฮโดรไลเสตเป็นสารดีดุดูดการกินต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch)**

#### 4.1 บทคัดย่อ

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

สามารถใช้อาหารที่มีเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเสริม D-TVH เป็นสารดึงคุณค่าการกินอาหารที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ของอาหาร

#### 4.2 บทนำ

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) เป็นปลาน้ำกร่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตไว เมื่อมีรสชาติดี ปัจจุบันการเลี้ยงปลาชนิดนี้มีการขยายตัวมากขึ้น ทั้งการเลี้ยงในกระชัง บ่อดินในเขตน้ำจืด น้ำกร่อย และชายฝั่งทะเล จากความต้องการทางตลาดที่เพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงภายหลังจึงนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารสด อาหารสำเร็จรูปนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี มีกรดอะมิโนที่เหมาะสมครบถ้วน เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็น อีกทั้งมีความน่ากินต่อสัตว์น้ำ แต่จากราคาของปลาป่นที่สูงขึ้นในปัจจุบันส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของต้นทุนค่าอาหาร ทำให้เกิดการมองหาแหล่งโปรตีนเข้ามาทดแทนปลาป่น โดยมุ่งที่จะเลือกใช้วัตถุดิบที่ผลิตได้ตามท้องถิ่นเพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการผลิตอาหาร เพื่อให้ได้มาซึ่งแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูก มีคุณภาพดี และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่สมดุลตามความต้องการของสัตว์น้ำ

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

Chotikachinda (2014) พบว่าสามารถใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อใช้เป็นสารดึงดูดคาร์กินอาหารในปลากระพงขาวได้ดี การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาปริมาณของการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในระดับที่เหมาะสมต่อการยอมรับอาหาร การเจริญเติบโต และการนำอาหารไปใช้ประโยชน์ โดยใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตเป็นสารดึงดูดคาร์กินในอาหารปลากระพงขาวที่ใช้แหล่งโปรตีนหลักจากเนื้อปลา เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนในด้านอาหารส่งเสริมอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงปลากระพงในอนาคต

### 4.3 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของอาหารที่มีการลดปริมาณปลาป่นและทดแทนด้วยโปรตีนจากกากถั่วเหลืองและโปรตีนถั่วเหลืองสกัดโดยมีการเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแห้งต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลากระพงขาว

### 4.4 วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีการทดลอง

#### 4.4.1 การวางแผนการทดลอง

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

#### 4.4.2 การเตรียมปลา

นำปลากระพงขาวน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.5 กรัม/ตัว จำนวน 3,000 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1 ตัน จำนวน 4 ถัง ให้อาหารสำหรับอนุบาลที่ผลิตขึ้นเองกับลูกปลากระพงขาว วันละ 3 มื้อ เพื่อฝึกให้ปลาสามารถรับอาหารที่มีลักษณะใกล้เคียงกับอาหารทดลอง ให้ออกซิเจนตลอดเวลา เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน และคัดขนาดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อลดการกินกันเอง จากนั้นคัดปลาที่มีน้ำหนักประมาณ 2 กรัม จำนวน 15 ตัว ใส่ในตู้ทดลอง เพื่อให้ปลาคู่กันอยู่กับสภาพแวดล้อมในตู้ทดลองและ

ปรับเวลาในการให้อาหารเป็น 2 มื้อ โดยให้อาหารแบบกินจนอิ่มเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นคัดปลาที่มีสุขภาพแข็งแรงและมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ประมาณ 2-3 กรัม/ตัว จำนวน 12 ตัว/ตู้ โดยสลับปลาด้วยน้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร/น้ำ 1 ลิตร เพื่อชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นเป็นรายตัว และบันทึกน้ำหนักเริ่มต้น

#### 4.4.3 การเตรียมอาหารทดลอง

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

สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) ใช้เนื้อป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก และมีปลาป่น 15.03 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหาร ไม่มีการเสริม D-TVH

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

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

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

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

ส่วนประกอบของอาหารทดลองดังในตารางที่ 8 ซึ่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามส่วนประกอบอาหารแต่ละสูตร ผสมวัตถุดิบในเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมน้ำสะอาด 25-30 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ผสมจนกระทั่งวัตถุดิบเข้ากันเป็นเนื้อเดียวเป็นเวลา 20 นาที ทำการอัดเม็ดผ่านหน้าแวนขนาด 0.2 และ 0.5 มิลลิเมตรให้เหมาะกับขนาดปากของปลาที่จะโตขึ้นในช่วง 8 สัปดาห์ นำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปร่อนก่อนบรรจุลงในถุงพลาสติก เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง ตามวิธีของ AOAC (1995)



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

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

<sup>1</sup> วิตามิน (0.6%) ประกอบด้วย Thiamin HCl 60, Riboflavin 100, Pyridoxine HCl 40, Folic acid 15, Calcium pantothenate 100, Inositol 2000, Biotin 6, Vitamin B<sub>12</sub> 0.1, Menadione 50, Tocopherol acetate 100, Vitamin AD<sub>3</sub> (500 IU of A+100 IU of D<sub>3</sub>/มก) 8, Choline chloride 5000, Ascorbic acid 500 (มก/กก.อาหาร) และ แร่ธาตุรวม (4.0%) ประกอบด้วย CaHPO<sub>4</sub> 8, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O 15, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10, KCl 5 (ก./กก.อาหาร)

<sup>2</sup> Carboxymethyl cellulose (CMC)

<sup>3</sup> DL-Methionine

<sup>4</sup> เครื่องในปลาทุบรูปแห้ง

#### 4.4.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

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

##### 1) อัตราการรอดตาย

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

##### 2) พารามิเตอร์ของการเจริญเติบโต

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

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

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

##### 3) พารามิเตอร์ของประสิทธิภาพการใช้อาหาร

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

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

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

#### 4.4.5 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

##### 1) การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปลากะพงขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยคให้อาหารปลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการเก็บตัวอย่างเพื่อให้ทางเดินอาหารปราศจากอาหาร เก็บตัวอย่างปลาชุดการทดลองละ 8 ตัว สลับปลาด้วยน้ำมันกานพลูและผ้าตัดช่องท้องเพื่อแยกกระเพาะอาหาร ลำไส้ และไส้ติ่ง ชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่างไส้ลงในหลอด cryotube ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วเก็บรักษาตัวอย่างในไนโตรเจนเหลวทันทีเพื่อรักษาสภาพสำหรับสกัดเอนไซม์ต่อไป

##### 2) การสกัดเอนไซม์

สกัดเอนไซม์เปปซินจากกระเพาะอาหาร ส่วนเอนไซม์ที่สกัดจากลำไส้และไส้ติ่งใช้ในการวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และแอลฟา-อะไมเลส โดยใช้น้ำกลั่นเย็นในการสกัดตัวอย่าง ขณะที่สกัดเอนไซม์จากบรัชบอร์เคอร์เมมเบรนเพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ตามวิธีการของ Srichanun และคณะ (2013) และเก็บส่วนใสไว้ในตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมเอนไซม์ต่อไป (ภาคผนวก ก)

##### 3) การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร

เอนไซม์ที่ศึกษาประกอบด้วย เปปซิน ทริปซิน แอลฟา-อะไมเลส ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยรายงานค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทุกตัวในหน่วย ยูนิต/มิลลิลิตร ยกเว้น ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ที่รายงานในหน่วย ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

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

กิจกรรมเอนไซม์ทริปซิน ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีของ Erlengel และคณะ (1961) โดยใช้ 0.05 M Tris –HCl (pH 2.8) ผสมด้วย 0.02 M CaCl<sub>2</sub> เป็นบัฟเฟอร์ N $\alpha$ -Benzoyl-DL-arginine-4- nitro anilide hydrochloride (BAPNA) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ เป็นซับสเตรท หยุดปฏิกิริยา กรดไตรคลอโรอะซิติก วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร (ภาคผนวก ค.)

กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีของ Rick และ Stegbauer (1974) วัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจากการเพิ่มขึ้นของการย่อยสารละลายแป้ง

ด้วย 3, 5 dinitrosalicylic acid ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมอลโตสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้สารละลายแป้งเป็นซับสเตรท (ภาคผนวก ก.)

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

กิจกรรมของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่มีการดัดแปลงจากวิธีการของ Bessey และคณะ (1946) ที่อ้างโดย Kvåle และคณะ (2007) โดยใช้ *p*-nitro-phenyl-phosphate (7 mM) เป็นซับสเตรท และ 30 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  (pH 10.75) เป็นบัฟเฟอร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ทุก 20 วินาที นาน 5 นาที จากนั้นนำค่าความยาวคลื่นที่ได้เทียบกับสารละลายมาตรฐานของ *p*-nitrophenol (ภาคผนวก ก)

#### 4.4.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

## 4.5 ผลการทดลอง

### 4.5.1 การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย

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

ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอดตายของปลากะพงที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

<sup>2</sup>น้ำหนักที่เพิ่ม = ((น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม)-น้ำหนักปลาเริ่มต้น(กรัม)/น้ำหนักปลาเริ่มต้น(กรัม))×100

<sup>3</sup>อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) = ((ln น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย-ln น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น)/(จำนวนวันที่เลี้ยง))×100

<sup>4</sup>อัตราการรอดตาย = (จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)/จำนวนปลาเริ่มต้น(ตัว))×100

#### 4.5.2 ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

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

#### 4.5.3 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และ โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV)

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

ตารางที่ 9 ปริมาณอาหารที่กิน FCR PER และ PPV ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

<sup>2</sup>อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม/ตัว) / น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)

<sup>3</sup>ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) = น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม) / น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)

<sup>4</sup>โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (PPV) = (โปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น(กรัม/ตัว) / โปรตีนที่ปลากิน (กรัม/ตัว)) × 100



#### 4.5.4 กิจกรรมของเอนไซม์

##### 1) กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน ทริปซิน และแอลฟา-อะไมเลส

กิจกรรมของเอนไซม์เปปซินที่พบในกระเพาะอาหารของปลากะพงขาว หลังจากได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยแสดงผลกิจกรรมเอนไซม์เป็น ยูนิต/มิลลิลิตร ดังภาพที่ 8 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์เปปซินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  $17.55 \pm 2.55$  ยูนิต/มิลลิลิตร ( $p < 0.05$ ) ยกเว้นชุดการทดลองที่ 2 ที่มีการลดปลาปนลง 33 เปอร์เซ็นต์ และทดแทนด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง (ตารางที่ 10) กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในลำไส้ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ มีค่าใกล้เคียงกันในช่วง 0.06 - 0.10 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ของเอนไซม์ทริปซินบริเวณไส้ตั้งของปลา โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับ  $0.33 \pm 0.09$  ยูนิต/มิลลิลิตร และพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการทดแทนปลาปน 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่ระดับ  $0.11 \pm 0.02$  ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่ไม่พบความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่บริเวณลำไส้และไส้ตั้ง โดยกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ลำไส้อยู่ในช่วง 2.09 - 3.93 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ไส้ตั้งอยู่ในช่วง 2.33 - 3.70 ยูนิต/มิลลิลิตร

##### 2) กิจกรรมของเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

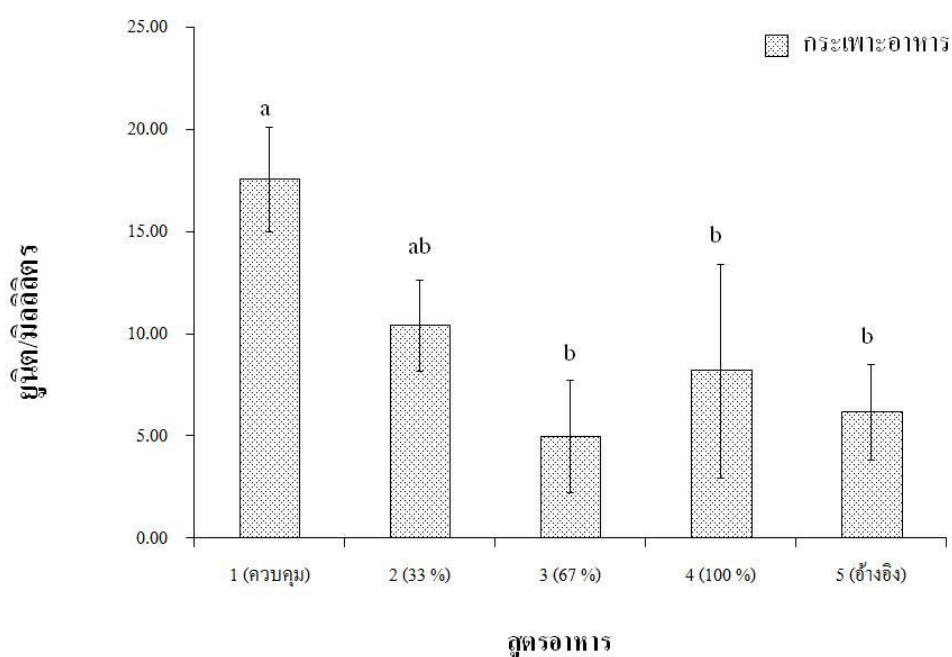
กิจกรรมของเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบริเวณลำไส้และไส้ตั้งของปลากะพงขาวแสดงผลดังตารางที่ 11 พบว่า ไม่มีความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสที่บริเวณลำไส้ โดยกิจกรรมอยู่ที่ระดับ 0.23 - 0.33 ยูนิต/มิลลิลิตร และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสมีความแตกต่างกันที่บริเวณไส้ตั้งปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสสูงสุดที่สุด ( $0.54 \pm 0.10$  ยูนิต/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ชุดควบคุมมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสต่ำสุดที่ระดับ  $0.26 \pm 0.04$  ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสไม่มีความแตกต่างกันในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม D-TVH ( $p > 0.05$ ) โดยระดับของกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดสอยู่ในช่วง 0.36 - 0.54 ยูนิต/มิลลิลิตร ขณะที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์ ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส เมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณในหน่วยของยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน

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

ตารางที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของปลากระพงที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาปนและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p>0.05$ )



ภาพที่ 10 กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน (ยูนิต/มิลลิลิตร) ในกระเพาะปลากระพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาปนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 11 กิจกรรมของลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลากระพง  
 ขาวที่ได้รับอาหารที่มีการลดปลาปนและเสริมด้วย D-TVH เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>ตัวเลขที่นำเสนอมือเป็นค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

#### 4.6 วิจารณ์ผลการศึกษา

การใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในอาหารสำหรับปลากะพงขาวในระดับสูงอาจจะทำให้การกินอาหารของปลาลดลง เนื่องจากอาหารดังกล่าวมีกลิ่นที่ไม่ชวนกินสำหรับปลากะพงขาวซึ่งจัดเป็นปลาล่าเหยื่อ (Boonyaratpalin *et al.*, 1998) จากการศึกษาครั้งนี้ ปลากะพงขาวได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาปนด้วยผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ 33 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาปน และเสริมด้วยเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแท่ง (D-TVH) ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หลังจากการเลี้ยงปลาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่ 2 - 4 ซึ่งมีการทดแทนปลาปนด้วยผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ปลายังคงมีปริมาณการกินอาหารใกล้เคียงกับสูตรควบคุมที่มีปลาปนที่ระดับสูงสุด เมื่อมีการเสริมอาหารด้วย D-TVH เพื่อทำหน้าที่ดึงดูดการกิน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Chotikachinda (2014) ซึ่งรายงานการทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดการกินของเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตรูปแท่ง พบว่าเมื่อเสริมในอาหารที่มีไก่ป่นเป็นแหล่งโปรตีน ที่ระดับ 1-4 เปอร์เซ็นต์ สามารถดึงดูดการกินอาหารได้ดี ดังนั้น D-TVH ที่ใช้เสริมในอาหารที่มีการทดแทนปลาปนในการศึกษาครั้งนี้จึงมีสมบัติในการเป็นสารดึงดูดการกินอาหารที่ดี เนื่องจาก D-TVH ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีขนาดเล็ก ซึ่งมีส่วนประกอบของไนโตรเจน และมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 1,000 ดัลตัน (D'Abramo *et al.*, 1997) โดยระดับของกรดอะมิโนที่พบได้มากในเครื่องในปลาทูน่าประกอบด้วย ไกลซีน อะลานีน ลิวซีน กรดแอสพาร์ติก และ กรดกลูตามิก เมื่อนำเครื่องในปลาทูน่ามาย่อยให้อยู่ในรูปโปรตีนไฮโดรไลเสต ขนาดของโปรตีนชิ้นใหญ่จะถูกตัดให้มีขนาดเล็กประกอบด้วยกรดอะมิโนเหล่านี้ (Lee *et al.*, 2004) จากการศึกษาของ สุภาพร (2549) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาทูน่ามีปริมาณกรดกลูตามิกสูงที่สุด รองลงมาคือ อาร์จินีน ลูซีน และ กรดแอสพาร์ติก ตามลำดับ โปรตีนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปกรดอะมิโนอิสระด้วยการเพิ่มระดับการย่อยสลายจากกรดหรือเอนไซม์ลงไป การย่อยในกระบวนการไฮโดรไลซิสทำให้เกิดกรดอะมิโนอิสระเพิ่มสูงขึ้นตามระดับการย่อยสลายพันธะ เช่นเดียวกับ Chotikachinda (2014) พบว่าระดับของกรดอะมิโนอิสระจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อัลคาเลสลงไปในช่วงตอนการผลิตเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสต ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตได้ โดยสามารถใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผลิตในระดับการย่อย 60 เปอร์เซ็นต์เพียง 2.5 เปอร์เซ็นต์ก็มีความสามารถในการดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวได้ใกล้เคียงกับการใช้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตที่ผ่านการย่อยสลายที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองในครั้งนี้ D-TVH ผ่านการย่อยสลายที่ระดับ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้น

ไป จึงทำให้ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตมีสมบัติที่ดีและสามารถนำมาใช้เป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากะพงขาวได้

มีการรายงานถึงการเจริญเติบโตของปลาที่ลดลงเมื่อมีการนำกากถั่วเหลืองมาใช้แทนปลาป่นในปริมาณมาก เนื่องจากผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มซัลเฟอร์ต่ำ (เมทไธโอนีน และ ซีสทีน) ทำให้การนำมาใช้ในปริมาณมากจึงมีข้อจำกัด ความไม่สมดุลของกรดอะมิโนจึงเป็นส่วนสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสารอาหารไปใช้ (NRC, 2011) Liu และคณะ (2016) รายงานถึงการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในปริมาณสูงในอาหารสำหรับปลา จีเบล คาร์ฟ (*Carassius auratus gibelio*) ทำให้กรดอะมิโนในอาหารไม่สมดุลส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้มีการนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในปริมาณสูง จึงมีการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารทดลองเพื่อป้องกันการขาดกรดอะมิโนชนิดนี้ ซึ่งระดับของเมทไธโอนีนที่เหมาะสมสำหรับปลากะพงขาวเท่ากับ 2.24 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน (Millamena *et al.*, 1994 อ้างโดย Glencross, 2006) หากปลาได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอต่อความต้องการจะส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา และอาจก่อให้เกิดโรคตาเป็นต่อในปลาได้ (ชุตินา, 2549) ในการทดลองครั้งนี้ปลาที่มีการเจริญเติบโตที่ไม่ผิดปกติ สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของปลา โดยเฉพาะปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นลดลง 33 เปอร์เซ็นต์และสูตรอ้างอิงที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาสูงที่สุด ซึ่งอาหารทั้งสองสูตรมีปริมาณโปรตีนจากเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณวัตถุดิบเนื้อสัตว์ (ปลาป่น และ เนื้อป่น) ที่ระดับ 54-55 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หรือ 73 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในอาหาร ใกล้เคียงกับรายงานของ Williams และคณะ (2003) ที่พบว่าสามารถใช้เนื้อป่นในอาหารสำหรับปลากะพงขาวได้ที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยการกินอาหารและเจริญเติบโตของปลาไม่แตกต่างจากอาหารที่มีปลาป่นในปริมาณสูง ในขณะที่สูตรอาหารที่มีการลดปลาป่นที่ระดับ 67 และ 100 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด แสดงให้เห็นว่าสามารถนำผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองมาใช้ในการทดลองได้ที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีน หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของปลากะพงขาว สอดคล้องกับการทดลองของ Boonyaratpalin และคณะ (1998) ที่รายงานผลการการใช้อากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันทดแทนปลาป่นที่ ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา ทั้งนี้การเสริมเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรเสตเพื่อดึงดูดให้ปลากินอาหาร และการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารทำให้สามารถเพิ่มปริมาณการนำวัตถุดิบจากการถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารได้สูงขึ้น เช่นเดียวกับ Alam และคณะ (2012) ที่ศึกษาการ

นำกากถั่วเหลืองมาใช้ในปลากระพงดำ พบว่าเมื่อมีการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีน และไลซีน ลงในอาหาร สามารถช่วยเพิ่มระดับการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในอาหารได้สูงขึ้น

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

แม้ในกลุ่มปลากระพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณปลาปนลดลง และเสริมด้วย D-TVH จะมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม แต่การนำวัตถุดิบโปรตีนจากพืชมาใช้ในปริมาณมากส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อย และกิจกรรมของเอนไซม์ (วีรพงศ์, 2536; Glencross, 2006) เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในอาหารมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาปนตั้งแต่ระดับ 67 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีกิจกรรมเปปซินที่เกิดขึ้นในกระเพาะ

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

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



ป็น แต่การลดลงของกิจกรรมของเปปซินและทริปซินยังมีระดับต่ำที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถนำผลิตภัณฑ์จากกากถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ 100 หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในอาหาร เมื่อมีการใช้ร่วมกับ D-TVH ที่ช่วยเพิ่มการกินอาหารของปลา

กิจกรรมของเอนไซม์ลิวซิโนอะมิโนเปปติเดส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่พบบริเวณไส้ติ่งของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย D-TVH ทุกสูตรมีระดับสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและกิจกรรมของเอนไซม์ที่พบที่บริเวณไส้ติ่งมีค่าสูงกว่าลำไส้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Harpaz และคณะ (2005) ซึ่งรายงานว่เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีในไส้ติ่งสูงกว่าในลำไส้ จากการศึกษาของ Tibaldi และคณะ (2006) พบว่าอาหารสำหรับปลากะพงสายพันธุ์ยุโรป (*Dicentrarchus labrax*) สามารถนำกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ 25 เปอร์เซ็นต์โดยไม่กระทบต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลิวซิโนอะมิโนเปปติเดส ซึ่งเป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกับปริมาณผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่นำมาทดแทนปลาป่นสูงสุดในการทดลองในครั้งนี้ การที่ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่พบต่ำสุดอยู่ในสูตรควบคุมที่ไม่มีผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองในสูตรอาหาร ชี้ให้เห็นว่า D-TVH ที่เสริมลงไปอาจมีความจำเพาะกับการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ลิวซิโนอะมิโนเปปติเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยโปรตีนที่ปลายสายซึ่งในขั้นตอนสุดท้ายของการย่อยโปรตีนเพื่อให้ได้กรดอะมิโนอิสระ และช่วยในการดูดซึมกรดอะมิโนที่ได้ (Klein *et al.*, 1998) ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทำหน้าที่หลักในการแยกหมู่ฟอสเฟสออกจากสารประกอบในเซลล์ และทำหน้าที่ดูดซึมสารอาหาร โดยกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับระดับของกรดอะมิโนที่ปลาได้รับ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในบริเวณไส้ติ่งจึงมีแนวโน้มที่ดีในปลาที่กินอาหารที่มี D-TVH แม้จะมีรายงานถึงความเสียหายของระบบย่อยอาหารซึ่งจะส่งผลกระทบต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองเป็นปริมาณมาก (Hinnebusch *et al.*, 2004) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองที่มีแนวโน้มที่ดีในปลาที่ได้รับ D-TVH เสริมลงในอาหารสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่ปลากิน

#### 4.7 สรุปผลการศึกษา

สามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอาหารได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีระดับสูงที่สุดถึง 26.74 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร หรือ 33 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนที่มีในอาหาร โดยใช้

เป็นแหล่งโปรตีนร่วมกับเนื้อปลา และเสริมด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร เพื่อเป็นสารดึงดูดการกินในอาหารปลากะพงขาว ทำให้มีปริมาณการกินอาหารที่ดี และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และกิจกรรมของเอนไซม์ในปลา

## บทที่ 5

### สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการศึกษา

##### 5.1.1 รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพของ TVH

TVH ที่ผลิตในรูปแบบ C-TVH และ D-TVH เก็บรักษาในอุณหภูมิบรรยากาศเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า TVH ในรูปแบบ D-TVH จะช่วยรักษาคุณภาพทั้งทางด้านกายภาพ และทางเคมีที่ใกล้เคียงกับช่วงเวลาตั้งต้นหลังการผลิตได้ดีกว่าการเก็บรักษาสภาพไว้ในรูปแบบ C-TVH เนื่องจาก C-TVH มีการเกิดปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพ เช่น การลดลงของโปรตีน การระเหยของไนโตรเจน และการเกิดการออกซิเดชันของไขมันที่รวดเร็วกว่า D-TVH

##### 5.1.2 รูปแบบและช่วงเวลาในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการเป็นสารตั้งต้นการกินอาหาร

ความสามารถในการทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นการกินของ TVH เมื่อนำมาผสมลงในอาหารปลากระพงขาว พบว่า TVH สามารถนำมาใช้เสริมในอาหารเพื่อเป็นสารกระตุ้นการกินได้ดีทั้ง 2 รูปแบบ และช่วงเวลา 8 สัปดาห์ของการเก็บรักษาในอุณหภูมิบรรยากาศยังมีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นการกินได้ดี

##### 5.1.3 การนำ TVH เสริมในอาหารที่มีวัตถุดิบโปรตีนทดแทน

สามารถใช้วัตถุดิบเนื้อป่นจากเศษเหลือเนื้อหนังจากอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อวัวทดแทนปลาป่นในอาหารปลากระพงขาวได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นได้ทั้งหมดโดยไม่กระทบต่อการกินอาหาร และการเจริญเติบโตของปลา เมื่อมีการเสริม TVH ในอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากเนื้อป่นและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่มีระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นเพียงพอต่อความต้องการของปลา

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

##### 5.2.1 การผลิต TVH ในรูปแบบที่เหมาะสม

ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการผลิตและเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตในรูปแบบแห้ง ด้วยวิธีการทำแห้งแบบอื่นๆ เพิ่มเติมจากการอบ เพื่อให้ได้เครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไล

เสตในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษา เนื่องจาก D-TVH แม้จะสามารถรักษาคุณภาพให้สดใหม่ได้นานกว่า C-TVH แต่ยังมีประสพปัญหาในการนำ D-TVH มาใช้งานเมื่อต้องเก็บเป็นเวลานานกว่า 6 สัปดาห์เป็นต้นไป เนื่องจากเนื้อของตัวอย่างการดูความชื้นเข้าไปในตัวอย่าง

### 5.2.2 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยในปลา

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหารในปลาที่มีการใช้วัตถุดิบทดแทนปลาป่นจากเนื้อป่น และวัตถุดิบจากถั่วเหลือง เนื่องจากการนำวัตถุดิบจากพืชมาใช้ในปริมาณมากกับปลาที่มีลักษณะระบบย่อยรองรับสำหรับการกินเนื้อ อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อวิทยาของปลาได้ แม้ปลาจะสามารถยอมรับอาหารที่ผลิตขึ้นได้ดีจากการเสริมวัตถุดิบที่ช่วยดึงดูดการกินอาหารของปลาไปในอาหาร

## เอกสารอ้างอิง

- จوزهดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน. 2538. การใช้แหล่งโปรตีนพืชบางชนิดในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2538. สงขลา: สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. 12 หน้า.
- ชุตติพงศ์ ว่องส่งสาร. 2540. การทดลองเลี้ยงปลาแรดโดยใช้กากถั่วเหลืองแทนปลาป่น. เอกสารวิชาการฉบับที่ 28/2540. ระยะเวลา: กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 14 หน้า.
- ชุตติมา ตันตีกิตติ. 2549. เอกสารคำสอนอาหารสัตว์น้ำชั้นสูง. สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 209 หน้า.
- ชุตติมา ตันตีกิตติ และไพรัตน์ โสภโณคร. 2552. การใช้เครื่องในปลาทูลูน่าไฮโดรไลเสตเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารและทดแทนปลาป่นด้วยฮีโมโกลบินป่นที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารกึ่งขาว (*Litopenaeus vannamei*). สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุทรวัดน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 344 หน้า.
- สุปราณี แยมพราย. 2539. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากของเหลือจากโรงงานซูริมิเพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 119 หน้า.
- สุภาพร มหันต์กิจ. 2549. การใช้วัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีน ทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 104 หน้า.
- พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์. 2539. หลักการอาหารสัตว์ เล่ม 2: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์. กรุงเทพมหานคร: คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 576 หน้า.
- รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และไพศาล วุฒิจำนงค์. 2545. การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. เอกสารประกอบการสัมมนา-อบรมวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สถาบันอาหาร. 3 หน้า.
- รุ่งอรุณ ตรีการชัชวรงค์. 2545. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตไขมันต่ำ จากของเหลืออุตสาหกรรมการผลิตซูริมิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 112 หน้า.

- ฤทัยรัตน์ หวานฉ่ำ. 2547. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตผงแห้งจากเศษเหลือของโรงงานซูริมิ: การผลิตระดับนำร่อง วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 108 หน้า.
- วันชัย เกียรติพิมล. 2554. การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและสารสกัดจากปลาจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 88 หน้า.
- วิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล. 2544. การประยุกต์ใช้เอนไซม์จากเครื่องในปลาทูลูนาในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและปุยน้ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 117 หน้า.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 216 หน้า.
- วรพรรณ มณีอินทร์. 2555. การทดแทนปลาป่นด้วยเศษไก่ป่นในอาหารสำหรับปลากะพงขาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 106 หน้า.
- อังกริยา เชื้อช่วยชู. 2542. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากหัวและเครื่องในปลาโอแถบ โดยวิธีการทางเอนไซม์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 107 หน้า.
- อานัส แซะอาหลี. 2551. การใช้เครื่องในปลาทูลูนาไฮโดรไลเสตเป็นสารดึงดูดการกินในอาหารกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่มีฮีโมโกลบินป่นทดแทนปลาป่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สงขลา: สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 104 หน้า.
- อานัส แซะอาหลี และชุตินา ตันตีกิตติ. 2551. โปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูลูนาที่ผลิตแตกต่างกันเพื่อเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*). วารสารการประมง 61: 73-80.
- Adler-Nissen, J. 1986. Enzymic Hydrolysis of Food Protein. UK: Elsevier Applied Science Publishers, Barking. 427 p.
- Ai, Q. and Xie, X. 2006. Effects of dietary soybean protein levels on metabolic response of the southern catfish, *Silurus meridionalis*. Aquaculture 144: 41–47.
- Alam, M.S., Watanabe, W.O., Sullivan, K.B. and Rezek, T.C. 2012. Replacement of menhaden fish meal protein by solvent-extracted soybean meal protein in the diet of juvenile black seabass

- supplemented with or without squid meal, krill meal, methionine, and lysine. *North American Journal of Aquaculture* 74: 251-256.
- Allen, J.C. and Hamilton, R.J. 1994. *Rancidity in Foods*. 3<sup>rd</sup> Edition. London: Blackie Academic and Professional. 290 p.
- Arason, S. 1994. Production of fish silage. *In Fisheries Processing: Biotechnological Applications*. (Martin, A. M., Editor), pp. 224-274. London: Chapman and Hall.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International*. 16<sup>th</sup> Edition. Arlington, VA: The Association of Official Analytical Chemists. 96 p.
- Bassompierre, M. 1997. *In vitro* Protein Digestion in Fish. Doctoral Dissertation. Denmark: Department of Civil Engineering, Aalborg University. 126 p.
- Benjakul, S. and Morrissey, M.T. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3423-3430.
- Bergmeyer, H.U., Brent, E., Schmidt, E. and Stork, H. 1974. *D-Glucose* determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *In Methods of Enzymatic Analysis*. vol. III. (Bergmeyer, H.U. and Grabi, M., Editors), pp. 134-138. New York: Academic Press.
- Berge, G.M. and Storebakken, T. 1996. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture* 145: 205-212.
- Boonyaratpalin, M., Suraneiranat, P. and Tunpibal, T. 1998. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 161: 67-78.
- Bragadottir, M., Palmadottir, H. and Kristbergsson, K. 2004. Composition and chemical changes during storage of fish meal from capelin (*Mallotus villosus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* 52: 1572-1580.
- Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 52: 302-304.
- Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., Quazuguel, P. and Le Gall, M.M. 1999. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture* 171: 109-119.

- Calabotta, D.F. and Shermer, W.D. 1985. Controlling feed oxidation can be rewarding. *Feedstuffs* 25: 24-32.
- Catacutan, M.R. and Coloso, R.M. 1997. Growth of juvenile Asian seabass, *Lates calcalifer*, fed varying carbohydrate and lipid levels. *Aquaculture* 149: 137-144.
- Catacutan, M.R. and Pagador, G.E. 2004. Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture Research* 35: 299–306.
- Carr, J.G., 1982. Cocoa. *In Fermented Foods: Economic Microbiology*, vol. VII. (Rose, A.H., Editor), pp. 275–292. London: Academic Press.
- Chotikachinda, R. 2014. Production of protein hydrolysate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) viscera as feeding stimulants in diets for Asian seabass (*Lates calcarifer*). Doctor of Philosophy, Department of Aquatic Sciences, Prince of Songkla University. 165 p.
- Chuapoehek, W., Piadang, S. and Tinnungwattana, W. 1997. Pond feeding of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.) with irradiated activated sludge from the beer industry. *Thai Journal of Agricultural Science* 30: 389-397.
- D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama, D.M. 1997. *Crustacean Nutrition*. Louisiana: World Aquaculture Society. 587 p.
- Daly, K., Al-Rammahi, M., Moran, A., Marcello, M., Ninomiya, Y. and Shirazi-Beechey S. P. 2013. Sensing of amino acids by the gut-expressed taste receptor T1R1-T1R3 stimulates CCK secretion. *American Journal of Physiology* 304: 271–282.
- Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptides and proteins. *In Food Chemistry*. (Fennema, O.R., Editor), pp. 8-10. New York: Marcel Dekker.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J. and Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine* 11: 81-128.
- Erlangel, B.F., Kokowski, N. and Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two chromogenic substances of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 95: 271-278.



- Furutani, T., Masumoto, T. and Fukada, H. 2012. Response of cholecystokinin and digestive enzyme mRNA levels to various feed ingredients in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science* 78: 1075-1082.
- Gerking, S.D. 1994. *Feeding Ecology of Fish*. New York: Academic Press. 415 p.
- Glencross, B.D. 2006. The nutritional management barramundi, *Lates calcarifer*- a review. *Aquaculture Nutrition* 12: 291-309.
- Gray, J.I., Pearson, A.M. and Monahan, F.J. 1994. Flavor and aroma problems and their measurement in meat, poultry and fish products. *In Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*. Vol. IX. (Pearson, A.M. and Dutson, T. R., Editors:), pp. 184-201. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Guérard, F., Dufosse, L., De La Broise, D and Binet, A. 2001. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 11: 1051-1059.
- Gunstone, F.D. 1996. *Fatty Acid and Lipid Chemistry*. Great Britain: Chapman and Hall. 252 p.
- Hamilton, R.J. 1994. The chemistry of rancidity in foods. *In Rancidity in Foods*. 3<sup>rd</sup> Edition. (Allen, J.C. and Hamilton, R.J., Editor), pp. 1-21. London: Blackie Academic and Professional.
- Harpaz, S., Hakim, Y., Slosman, T. and Eroldogan, O.T. 2005. Effects of adding salt to the diet of Asian sea bass *Lates calcarifer* reared in fresh or salt water recirculating tanks, on growth and brush border enzyme activity. *Aquaculture* 248: 315–324.
- Hattori, M., Tsukamoto, K.M., Kumagai, H., Feng, Y. and Takahashi, K. 1998. Antioxidative activity of soluble elastin peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2167-2170.
- Hinnebusch, B.F., Siddique, A., Henderson, J.W., Malo, M.S., Zhang, W., Athaide, C.P., Abedrapo, M.A., Chen, X., Yang, V.W. and Hodin, R.A. 2004. Enterocyte differentiation marker intestinal alkalinephosphatase is a target gene of the gut-enriched Kruppel-like factor. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 286: 23–30.
- Hoyle, N.T. and Merritt, J.H. 1994. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science* 59: 76-79.

- Howell, N.K. 1996. Chemical and enzymatic modifications. *In* Food Proteins: Properties and Characterization. (Nakai, S. and Modler, H.W., Editors), pp. 235-280. New York: VCH Publishers.
- Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee, C.R., Bui, H.T.D., Jeong, J.B. and Lee, K.J. 2015. Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. *Journal of Fish and Shellfish Immunology* 45: 858-868.
- Klein, S., Cohn, S.M. and Alpers, D.H., 1998. The alimentary tract in nutrition. *In* Modern Nutrition in Health and Disease. 9<sup>th</sup> Edition. (Shile, M.E., Olson, A.J., Shike, M. and Ross, A.C., Editors:), pp. 1635-1638. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Kolkovski, S and Tandler, A. 2001. The use of squid protein hydrolysate as a protein source in micro diet for gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture Nutrition* 6: 11-15.
- Kvåle, A., Mangor-Jensen, A., Moren, M., Espe, M. and Hamre, K. 2007. Development and characterization of some intestinal enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture* 264: 457-468.
- Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A. 2000. Fish protein hydrolysate: production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40: 43-81.
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. and Baeverfjord, G. 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 9: 361–371.
- Kussi, T., Nikkila, O.E. and Sarolainin, K. 1975. Formation of malonaldehyde in frozen Baltic herring and its influence on changes in protein. *Zeitschrift for Lebensmittel Untersuchung and Forschung* 159: 285-286.
- Lall, S.P. 2000. Nutrition and health of fish. *In* Cruz-Sciavez. *Advances on Nutricion Acuicola v. Memorias del V. Simposium Internacional de Nutricion de Acuicola*. 19-22 November, 2000. Merida, Yucatan, Mexico. (Rique-Marie, L.E., Tapia- Saiazar, S., Olvera-Novoca, M., and Civera-Cerecedo, M.A., Editors), pp. 13-23. Mexico: Universidad Autónoma de Nuevo León.

- Lee, M. S., Kim, K. D. and Kim, T. J. 2004. Utilization of fermented skipjack tuna viscera as a dietary protein source replacing fish meal or soybean meal for juvenile abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research* 23: 1059-1063.
- Li, Y., Ai Q.H., Mai, K.S., Xu, W. and Cheng, Z.Y. 2014. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). *Aquaculture Research* 45: 1051–1060.
- Liu, H., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J. and Xie, S. 2016. Effect of substitution of dietary fishmeal by soya bean meal on different sizes of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): nutrient digestibility, growth performance, body composition and morphometry. *Aquaculture Nutrition* 22: 142–157.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the follin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.
- Lundberg, W.O. 1966. *Autoxidation and Antioxidation*. 2 Edition. New York: Interscience Publishers. 1968 p.
- Luo, S.W. and Hultin, H.O. 1986. In vitro lipid oxidation modifies proteins and functional properties of sarcoplasmic reticulum. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 18: 315-323.
- Mae, R.C. and Gregorial, E.P. 2004. Partial replacement of fish meal by defatted soybean meal in formulated diets for the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture* 35: 299-306.
- Mahesh, T., Setty, T.M.R., Shetty, T.S. and Ravishankar, C.N. 1993. Studies on the preparation of functional fish protein concentrate from *Nemipterus japonicus* by enzymatic method. *Fishery Technology* 30: 57-61.
- March, B.E., Biely, J., Goudie, C., F. and Tarr, H.L.A. 1961. The effect of storage temperature and antioxidant treatment on the chemical and nutritive characteristics of herring meal. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 38: 80-84.
- Maroux, S., Louvard, D. and Baratti, J. 1997. The aminopeptidase from hog intestinal brush border. *Biochimica et Biophysica Acta* 321: 282-295.

- Millamena, O.M. 2002. Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 204: 75-84.
- Mitchell, J.H. and Henick, A.S. 1966. Rancidity in food products. *In* Autoxidation and Antioxidation. 2 edition. (Lundberg, W.O., Editor), pp. 543-592. New York: Interscience Publishers.
- Morr, C.V., German, B., Kinsella, J.E., Regenstein, J.M., Van Buren, J.P.A., Kilara, B.A., Lewis and Mangino, M. E.. 1985. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science* 50: 1715-1718.
- Murashita, K., Fukada, H., Takahashi, N., Hosomi, N., Mathunari, H., Furuita, H., Oku, H and Yamamoto, T. 2015. Effect of feed ingredients on digestive enzyme secretion in fish. *Bulletin of Fisheries Research Agency* 40: 69-74.
- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. 16 p.
- Nawar, W.W. 1996. Lipids. *In* Food Chemistry. 3<sup>rd</sup> Edition. (Fennema, O.R., Editor), pp. 225-319. New York: Marcel Dekker.
- Quaglia, E. and Orban, E. 1987. Enzymic solubilisation of proteins of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 38: 263-296.
- Rafsgaard, H.H.F., Tsai, L. and Stadtman, E.R. 2000. Modifications of protein by polyunsaturated fatty acid peroxidation products. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 611-616.
- Ranken, M.D. 1994. Rancidity in meat. *In* Rancidity in Foods. 3<sup>rd</sup> Edition. (Allen, J. C. and Hamilton, R. J., Editors) pp. 191-201. London: Blackie Academic and Professional.
- Rick, W. and Stegbauer, H.P. 1974. Alpha amylase measurement of reducing groups. *In* Methods of Enzymatic Analysis. 2<sup>nd</sup> Edition, Vol II. (Bergmeyer, H.V., Editor), pp. 929-944. New York: Academic Press.
- Román-Gavilanes, A.I., Martínez-Montaña, E. and María T.V. 2015. Comparative characterization of enzymatic digestion from fish and soybean meal from simulated digestive process of Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*. *World Aquaculture Society* 46: 409-420.

- Samocha, T.M., Davis, D.A., Soud, I.P. and Debaut, 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.
- Shahidi, F., Xiao-Qing, H. and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysate from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry* 53: 285-293.
- Shapawi, R., Ng, W. K. and Mustafa, S. 2007. Replacement of fish meal with poultry by product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileps altivelis*. *Aquaculture* 278: 118-126.
- Srichanun, M., Tantikitti, C., Utarabhand, P. and Kortner, T.M. 2013. Gene expression and activity of digestive enzymes during the larval development of Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 165: 1-9.
- Srichanun, M., Tantikitti, C., Kortner, T.M., Krogdahl, A. and Chotikachinda, S. 2014. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture* 428-429: 195-202.
- Takiguchi, A.G.J. 1992. Lipid oxidation and brown discoloration in niboshi during storage at ambient and low temperature. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 58: 489-494.
- Tantikitti, C., Sangpong, W. and Chiavareesajja, S. 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 248: 41-50.
- Taheri, A., Abedian Kenari, A., Motamedzadegan, A and Habibi R. M. 2010. The relationship between different protein hydrolysate diets by growth, digestive enzymes and resistance to an *Aeromonas salmonicida* bacterial challenge in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevine. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 4: 264-274.
- Tibaldi, E., Hakim, Y., Uni, Z., Tulli, F., Francesco, M.D., Luzzana, U. and Harpaz, S. 2006. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 261: 182- 193.

- Tolome, A., Crear, B. and Johnston, D. 2003. Diet immersion time: effects on growth, survival and feeding behaviour of juvenile southern rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture* 219: 303-316.
- Williams, K.C. 1998. Fishmeal Replacement in Aquaculture Feed for Barramundi. Project 93/120, Final Report to Fisheries R&D Corporation. Canberra: Fisheries R&D Corporation. 298 p.
- Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., Hockings, I., Agcopra, C. and Ruscoe, I. 2003. Potential of meat meal to replace fish meal in extruded dry diets for barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch) *Aquaculture Research* 34: 23-32.
- Xu, Q.Y., Wang, C.A., Zhao, Z.G. and Luo, L. 2012. Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25: 1588-1594.

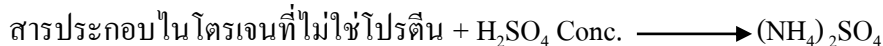
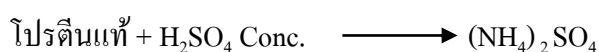
## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก.

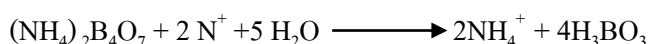
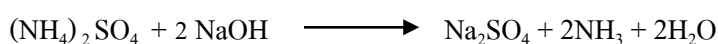
#### การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบเคมีของวัตถุคิบและอาหารทดลอง

##### 1. การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบเปอร์เซ็นต์โปรตีน

สมการในการย่อย : ใช้กรดกำมะถันเข้มข้นย่อย มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังสมการ



สมการในการกลั่น : ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ขับแก๊สแอมโมเนียออกจากแอมโมเนียมซัลเฟตแล้วใช้กรดบอริกจับก๊าซแอมโมเนียไว้



#### สารเคมี

- 1) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 93-98 เปอร์เซ็นต์
- 2) สารเร่งรวม (catalyst mixture) เตรียมด้วยการชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4$ ) 7 กรัม ผสมให้เข้ากันกับโปแทสเซียมซัลเฟต ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) 100 กรัม
- 3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$ ) 45 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 450 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
- 4) สารละลายกรดเกลือ ( $\text{HCl}$ ) 0.1 N เตรียมโดยละลายกรดเกลือเข้มข้น 9 มิลลิลิตรในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร
- 5) สารละลายกรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) 4 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายกรดบอริก 40 กรัมในน้ำกลั่น ต้มจนกระทั่งละลายหมดปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
- 6) อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลินบลู (methylene blue) 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทิลินบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดทึบ

- 7) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยอบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260-270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 1.325 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร
- 8) เมทิลออเรนจอินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator) เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัมในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

### อุปกรณ์

- 1) ชุดเครื่องย่อยโปรตีน (Gerhardt รุ่น Kjeldatherm)
- 2) ชุดเครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt รุ่น Vapodest 1)
- 3) หลอดย่อยโปรตีน
- 4) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5) กระดาษชั่งสาร
- 6) ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 7) บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตรพร้อมขาตั้ง

### ขั้นตอนการวิเคราะห์

- 1) ขั้นตอนการย่อย

ซึ่งตัวอย่างด้วยกระดาษชั่งสารที่ปราศจากไนโตรเจน ให้ได้น้ำหนัก 0.3-0.5 กรัม บันทึกน้ำหนักโดยละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ตัวอย่างลงในขวดวิเคราะห์โปรตีน เดิมสารเร่งรวม 3 กรัม เดิมกรดกำมะถันเข้มข้น 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 375-420 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายในขวดวิเคราะห์ใส (สีเขียวมรกต) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

- 2) ขั้นตอนการกลั่น

นำหลอดโปรตีนที่เย็นและมีสารละลายตัวอย่างเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับชุดเครื่องกลั่นที่มีขวดรูปชมพู่บรรจุกรดบอริก 40 มิลลิลิตร (ใส่อินดิเคเตอร์รวม 2-3 หยด) โดยให้ปลายของท่ออยู่ที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริก เติม 45 เปอร์เซ็นต์  $\text{NaOH}$  ลงในขวดวิเคราะห์ห้อยๆ จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีดำ ทำการกลั่นไปจนกระทั่งไม่มีก๊าซแอมโมเนียออกมา เมื่อกรดบอริกเปลี่ยนเป็นสีเขียวแล้วจึงทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาทีจากนั้นนำขวดรูปชมพู่ออกจากเครื่องกลั่น





## 2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวม

### สารเคมี

สารละลายไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene)

### อุปกรณ์

- 1) วิเคราะห์ไขมัน (Soxtec System HT6)
- 2) ถ้วยสกัดไขมัน (cup) และลูกแก้ว
- 3) ไม้กรองสาร (thimble)
- 4) โถดูดความชื้น
- 5) ตู้อบ
- 6) ลูกแก้ว
- 7) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

### วิธีการวิเคราะห์

- 1) อบถ้วยสกัดไขมัน (cup) ที่มีลูกแก้ว 2-3 เม็ด และตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส อบจนแห้งแล้วตั้งทิ้งไว้เย็นในโถดูดความชื้น
- 2) ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วให้ได้น้ำหนักคงที่ ( $W_1$ )
- 3) ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรอง ประมาณ 1-2 กรัม ( $W_2$ ) ห่อให้มีดซิดใส่ลงในไม้กรองสารที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน
- 4) นำถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วที่ชั่งไว้แล้วเติมสารละลายไตรคลอโรเอทิลีน 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องสกัดไขมันให้เรียบร้อย
- 5) เปิดเครื่องสกัดไขมัน ปรับอุณหภูมิไปที่ 180 องศาเซลเซียส เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์วเลื่อนปั๊มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที
- 6) เลื่อนปั๊มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที
- 7) ปิดวาล์ว เปิดสวิตซ์อากาศ เลื่อนปั๊มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหยออกไป 5 นาที
- 8) ปิดเครื่อง ปิดอากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปั๊ม evaporation กลับที่เดิม นำถ้วยสกัดไขมันออกจากเครื่องวางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนแห้ง
- 9) นำถ้วยสกัดไขมันออกมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมา ชั่งน้ำหนัก ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{(W_3 - W_1)}{W_2} \times 100$$

โดยที่  $W_1$  คือ น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้ว

$W_2$  คือ น้ำหนักตัวอย่าง

$W_3$  คือ น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วและตัวอย่างหลังการอบ

**3. การวิเคราะห์ความชื้น****อุปกรณ์**

- 1) ถ้วย crucible
- 2) เตาอบ
- 3) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 4) โถดูดความชื้น

**วิธีการ**

- 1) นำถ้วย crucible เข้าสู่อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 2) ชั่งและบันทึกน้ำหนักของ crucible โดยละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 3) ชั่งตัวอย่างใส่ ถ้วย crucible ประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด
- 4) นำตัวอย่างเข้าสู่อบโดยใช้อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
- 5) นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง
- 6) จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่โดยน้ำหนักที่หายไป คือน้ำหนักของความชื้น

การคำนวณ

$$\text{ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(a - b)}{a} \times 100$$

โดย  $a$  คือ น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

$b$  คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้ง

#### 4. การวิเคราะห์ปริมาณถ้ำ

##### อุปกรณ์

- 1) ถ้วย crucible
- 2) เตาเผา
- 3) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 4) โถดูดความชื้น

##### วิธีการ

- 1) ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ถ้วยกระเบื้องเคลือบ บันทึกน้ำหนักโดยละเอียด
- 2) นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนถ้ำเป็นสีขาว นำเข้าโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น นำออกมาชั่งน้ำหนักโดยละเอียด

##### การคำนวณ

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

โดย a คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b คือ น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของถ้ำหลังการเผา

w คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

## ภาคผนวก ข.

### การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเครื่องในพู่नाไฮโดรไลสเสต

#### 1. การหาค่าความเป็นกรดต่าง

Benjakul และคณะ (1997)

##### อุปกรณ์

- 1) เครื่องวัด pH
- 2) บีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร
- 3) กระบอกตวง 50 มิลลิลิตร
- 4) เครื่องปั่นละเอียดเนื้อเยื่อ

##### วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปั่นละเอียดเนื้อเยื่อเป็นเวลา 2 นาที วัดค่าความเป็นกรดต่างด้วยเครื่องวัด pH

#### 2. การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี

##### อุปกรณ์

เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตียี่ห้อ Novasina รุ่น Thermoconstanter TH200

##### วิธีการวิเคราะห์

ตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตีให้ได้ 30 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์บรรจุลงในตลับพลาสติกให้ได้ปริมาตรร้อยละ 80 ของตลับ นำตลับตัวอย่างใส่ลงใน Measuring chamber รอจนกว่าค่าจะแสดงผล โดยค่าที่เครื่องวัดได้จะเป็นค่าของ Equilibrium Relative Humidity (ERH) เมื่อหารด้วย 100

### 3. การหาค่าการละลายของไนโตรเจน

ดัดแปลงจากวิธีของ Morr และคณะ (1985)

#### อุปกรณ์

- 1) กระจกทรงวัตแมน เบอร์ 1
- 2) เครื่องกลั่นโปรตีน (Gerhardt รุ่น Vapodest 1)
- 3) หลอดย่อยโปรตีน
- 4) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5) ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 6) บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตรพร้อมขาตั้ง

#### วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่าง 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และนำมาปรับค่า pH เป็น 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 นอร์มัล ทำการผสมด้วยเครื่องกวนแบบแท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่  $2560 \times g$  อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรองวัตแมน เบอร์ 1 และนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1995)

#### การคำนวณ

$$\text{ร้อยละการละลายของไนโตรเจน} = \frac{\text{ปริมาณไนโตรเจนในสารละลายส่วนใส} \times 100}{\text{ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง}}$$

#### 4. การวัดค่าสี

##### อุปกรณ์

เครื่องวัดค่าสียี่ห้อ Hunter lab รุ่น Color Flex

##### วิธีการวิเคราะห์

เตรียมตัวอย่างทั้งแบบแห้งและแบบหนืดวางลงบนเพลตสำหรับใส่ตัวอย่าง วางตัวอย่างลงในแท่งวัด และอ่านค่าสีโดยใช้ระบบ CIL Lab โดยค่าที่วัดได้จะแสดงผลเป็นค่า  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$

#### 5. การหาค่า TVB-N ด้วยวิธีการกลั่น (MgO Distillation Method)

##### สารเคมี

- 1) MgO
- 2) Boric acid (1 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ bromocresol green / methyl red indicator)  
ละลาย boric acid 50 กรัม ในน้ำกลั่น 4 ลิตร ผสม 50 มิลลิลิตร bromocresol green (50 มิลลิกรัม bromocresol green ละลายใน 50 มิลลิลิตร ethanol) และ 35 มิลลิลิตร methyl red (35 มิลลิกรัม methyl red ละลายใน 35 มิลลิลิตร ethanol) และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 5 ลิตรและผสมให้เข้ากัน
- 3) 0.03 N  $H_2SO_4$   
ดูด  $H_2SO_4$  เข้มข้น 0.9 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วย 0.03 N  $Na_2CO_3$  โดยชั่งผง  $Na_2CO_3$  0.3975 กรัม(ที่ผ่านการอบที่ 180 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง)

##### อุปกรณ์

- 1) หลอดและเครื่องกลั่น ไปรติน
- 2) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- 3) ไปเปตและบิวเรต
- 4) น้ำกลั่น และ deionized water (free of  $CO_2$ )





## อุปกรณ์

- 1) เตาไฟฟ้า
- 2) หลอดฝาเกลียว
- 3) ปีกเกอร์
- 4) เครื่องหมุนเหวี่ยง
- 5) Micropipette
- 6) Water bath

## วิธีการ

- 1) ชั่งตัวอย่างที่มีน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1 กรัม ในสารละลาย TBA ปริมาณ 5 มิลลิลิตร
- 2) ต้มสารละลายผสมในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที
- 3) ทำให้เย็นโดยน้ำไหล
- 4) เหวี่ยงแยกสารละลายที่ความเร็วรอบ 3600 ×g เป็นเวลา 20 นาที
- 5) วัดค่า OD ที่ 532 นาโนเมตร (หากสารละลายที่ได้ขุ่น ควรทำการทดลองใหม่ เพราะจะส่งผลให้ผลการทดลองผิดพลาดได้)
- 6) คำนวณปริมาณ TBARS (thiobarbituric reactive substances) ในรูปของ malonaldehyde โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน รายงานค่า TBARS เป็น mg malonaldehyde/kg sample โดยกราฟมาตรฐานใช้สารละลาย MDA solution ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของสารละลายแตกต่างกัน

## การเตรียมสารละลาย MDA solution เพื่อทำ standard TBARS

- stock solution

1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร → ชั่ง 0.1 กรัม ใน 100 มิลลิลิตร = 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร



เจือจางเป็น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดย ผสมสารละลายมา 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100

มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น



นำสารละลายที่ได้มาเจือจางที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

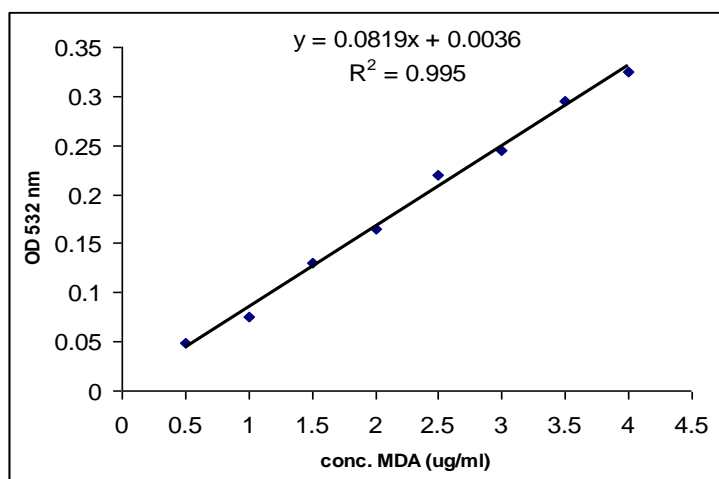
Conc.(µg/ml)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
MDA (µl)	0	50	100	150	200	250	300	350	400
Water (µl)	1,000	950	900	850	800	750	700	650	600

ผสม 5 มิลลิลิตร ของ TBA solution เขย่าให้เข้ากัน และตั้งที่ 100 องศาเซลเซียส



ทำให้เย็น และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้สร้างกราฟเพื่อหาค่าสมการของกราฟ

ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน



วิธีการคำนวณ (รายงานค่าเป็น mg MAD/ kg sample)

$$\text{ความเข้มข้น} = \frac{\text{ค่า OD ที่ได้}}{\text{ค่าความเข้มข้นที่ได้จากกราฟ (m)}} = X \text{ } \mu\text{g/ml (X mg/1,000 ml)}$$

แสดงว่าสารละลาย 1,000 ml มี malonaldehyde X mg (เทียบ 1 g = 1 ml)

$$\text{ถ้ามีตัวอย่างสารละลาย TCA 5 ml + น้ำหนักปลาป่น Z g = Y ml มี malonaldehyde} = \frac{X \times Y}{1,000} \text{ mg}$$

$$\text{จากตัวอย่าง Z g มี malonaldehyde อยู่} \frac{X \times Y}{1,000} \text{ mg}$$

$$\text{ถ้ามีตัวอย่าง } 1,000 \text{ g มี malonaldehyde} = \frac{X \times Y}{Z} \text{ mg malonaldehyde / kg sample}$$

หมายเหตุ

ปลาปนเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลาย TCA ก็จะมีสี จึงส่งผลให้ ค่า OD ที่ได้มีความผิดพลาด ดังนั้นจึงต้องหาค่า Blank ของปลาปนในแต่ละตัวอย่าง โดยใช้สารละลาย 15 เปอร์เซ็นต์ trichloroacetic acid and 0.25 นอร์มัล HCl (ไม่ผสมผง TBA) และทำการทดลองเหมือนกันแล้วนำค่า OD ที่ได้คำนวณเหมือนกันตามสูตร แล้วจึงนำค่าที่คำนวณได้ของตัวอย่างลบกับค่า blank ของแต่ละตัวอย่าง ก็จะได้ค่า TBA ที่เกิดขึ้นในปลาปนแต่ละตัวอย่าง)

## ภาคผนวก ก.

### การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

#### 1. การเก็บตัวอย่างปลาทดลอง

ผ่าตัด กระเพาะ ลำไส้ และไส้ติ่งของปลาทะเลในหลอดไมโครทิวป์ชนิดฝาเกลียว และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้สกัดเอนไซม์

#### 2. การสกัดเอนไซม์

##### 2.1 การสกัดเอนไซม์เพื่อวิเคราะห์ เปปซิน ทริปซิน และ แอลฟา-อะไมเลส

สกัดเอนไซม์จากกระเพาะอาหาร ไส้ติ่ง และลำไส้ โดยใช้ น้ำกลั่นเย็นในสัดส่วน 1/5 น้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) บดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุม อุณหภูมิที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ดูดสารละลายส่วนใสเก็บในหลอดไมโครทิวป์แล้วเก็บใน ตู้แช่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเพื่อรอวิเคราะห์

##### 2.2 สกัดเอนไซม์จากบรัชบอร์ดอร์เมมเบรน (Srichanun *et al.*, 2013)

สกัดเอนไซม์จาก ไส้ติ่ง และลำไส้ เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส และ อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยสกัดเอนไซม์จากลำไส้ปลาโดยใช้ Tris (2 มิลลิโมลาร์) – mannitol (50 มิลลิโมลาร์) pH 7.0 ในสัดส่วน 30 ปริมาตรต่อน้ำหนัก (v/w) บดเป็นระยะเวลา 30 วินาที แล้วจึงเติม  $\text{CaCl}_2$  (100 มิลลิโมลาร์) นำตัวอย่างหมุนเหวี่ยงที่  $9,000 \times g$  เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสใส่ในหลอดใหม่ และนำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ  $34,000 \times g$  เป็นเวลา 20 นาที เทสารละลายส่วนใสทิ้ง และละลายตะกอนขาวขุ่นที่ได้ด้วย Tris (5 มิลลิโมลาร์) – HEPES (5 มิลลิโมลาร์) – KCl (10 มิลลิโมลาร์) – DTT (1 มิลลิโมลาร์) พีเอช 7.5 เก็บตัวอย่างเอนไซม์ที่ได้ในตู้แช่ อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและกิจกรรมเอนไซม์ต่อไป

### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

1) Tris (2 มิลลิโมลาร์) – mannitol (50 มิลลิโมลาร์) pH 7.0

ซึ่ง Tris (MW 121.14 กรัม/โมล) ปริมาณ 0.1211 กรัม mannitol 4.5543 กรัม ละลายด้วยน้ำ DDW ผสมให้เข้ากัน ปรับ pH เป็นถึง 7.0 เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ถึง 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2)  $\text{CaCl}_2$  (100 มิลลิโมลาร์)

ซึ่ง  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (MW 147.02 กรัม/โมล) 1.4702 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3) Tris (5 มิลลิโมลาร์) – HEPES (5 มิลลิโมลาร์) – KCl (10 มิลลิโมลาร์) – DTT (1 มิลลิโมลาร์) pH 7.5

ซึ่ง Tris (MW. 121.14 กรัม/โมล) 0.030 กรัม ซึ่ง HEPES (MW. 238.30 กรัม/โมล) 1.1915 กรัม ซึ่ง KCl (MW. 121.14 กรัม/โมล) 0.037 กรัม และ DTT (MW. 154.25 กรัม/โมล) 0.1543 กรัม ละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 7.5 ก่อนปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3. การวัดปริมาณโปรตีนของ crude enzyme (Lowry *et al.*, 1951)

ใช้ไมโครเพลท ขนาด 300 ไมโครลิตรในการทำปฏิกิริยา โดย ปิเปตน้ำกลั่น 48 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างเอนไซม์ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม alkaline copper solution 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน รอทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม follin phenol reagent 150 ไมโครลิตร รอทำปฏิกิริยาอีกครั้งเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้มาคำนวณปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ผ่านการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยน้ำกลั่น ปิเปต BSA แต่ละความเข้มข้นปริมาณ 50 ไมโครลิตร และเติมสาร และตั้งรอเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวอย่างเอนไซม์ ก่อนนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรง เพื่อใช้เปรียบเทียบหาความเข้มข้นของปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

## ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน BSA

สารละลาย BSA 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของ BSA (ไมโครโมล/มิลลิลิตร)
0	1000	0.00
40	960	0.40
100	900	0.10
200	800	0.20
300	700	0.30
400	600	0.40
600	400	0.60
800	200	0.80
1000	0	1.00

## สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

## 1) Alkaline copper solution

ชั่ง NaOH 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น (ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการต้ม) ประมาณ 400 มิลลิลิตร  
เติม  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ลงไป 5 กรัม ชั่ง  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.05 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร  
(a) ชั่ง Sodium tartrate 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร (b) นำสารละลายทั้ง a และ  
b มาผสมลงไปในสารข้างต้น และปรับปริมาตรต่อไปให้เป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารในขวดที่บ  
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 2) Follin phenol reagent

ปีเปต Follin phenol reagent 1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรเก็บไว้ในขวดที่บ  
แสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 3) Bovine serum albumin, BSA (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ชั่ง BSA 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสารให้เป็น 10 มิลลิลิตร เก็บ  
รักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 4. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์

##### 4.1 กิจกรรมของเอนไซม์เปปซิน (ดัดแปลงตามวิธีของ Bergmeyer *et al.*, 1974)

วิเคราะห์โดย เติม 0.2 M Glycine –NaCl HCl pH 2.8 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติม 1 เปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบิน 250 ไมโครลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์สกัดปริมาณ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยา ด้วยการเติม 5 เปอร์เซ็นต์ Trichloroacetic acid ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5000 รอบ/นาที ที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร โดยใช้เปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ *L*-Tyrosine นำไปเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆก่อนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร เพื่อใช้ในการสร้างกราฟเส้นตรง เพื่อเปรียบเทียบระดับของเปปซินที่มีในเอนไซม์

##### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

1) 0.2 โมลาร์ Glycine-NaCl HCl pH 2.8

ชั่ง Glycine (MW. 75.07 กรัม/โมล) 1.5014 กรัม ชั่ง NaCl (MW. 58.44 กรัม/โมล) 1.1688 กรัม ชั่ง HCl 1.657 มิลลิลิตร ละลายทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 2.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โนมัล ก่อนปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2) 1 เปอร์เซ็นต์ hemoglobin (Bovine)

ชั่ง hemoglobin 0.50 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดที่บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3) 5 เปอร์เซ็นต์ Trichloroacetic acid

ชั่ง Trichloroacetic acid 2.50 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดที่บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4) *L*-Tyrosine 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ใช้สำหรับกราฟมาตรฐาน)

ชั่ง *L*-Tyrosine 0.050 กรัม ละลายในน้ำกลั่น (เย็น) 3-4 มิลลิลิตรจนได้เป็นสารละลายขาวขุ่น เติมกรดไฮโดรคลอริก 2 โนมัล 0.5-1 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายมีลักษณะใสทำการปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ก่อนนำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อสร้างเป็นกราฟมาตรฐานให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

#### 4.2 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน (ดัดแปลงตามวิธีของ Erlengel *et al.*, 1961)

ใช้  $N\alpha$ -Benzoyl-DL-arginine-4- nitro anilide hydrochloride (BAPNA) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ เป็นซับสเตรท โดยใช้สารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ BAPNA (ละลายใน 1 เปอร์เซ็นต์ dimethyl sulfoxide 0.05 โมลาร์ Tris-HCl pH 8.2 ที่ผสมด้วย 0.02 โมลาร์  $CaCl_2$ ) 900 ไมโครลิตรผสมกับสารละลายเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย 30 เปอร์เซ็นต์ Trichloroacetic acid 100 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็น blank และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์ วัดผลทุกๆ 20 วินาที เป็นเวลา 5 นาที

#### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

- 1) 0.05 โมลาร์ Tris – HCl pH 8.2 ที่ผสมด้วย 0.02 M  $CaCl_2$   
ชั่ง Tris (MW. 121.14 กรัม/โมล) 1.5142 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ชั่ง  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (MW 147.02 กรัม/โมล) 0.7350 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกัน และปรับ pH ให้เป็น 8.2 ก่อนปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 2) Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- 3) 1 มิลลิโมลาร์  $N\alpha$ -Benzoyl-DL-arginine-4- nitro anilide hydrochloride (*BAPNA*)  
ชั่ง *BAPNA* (MW. 434.9 กรัม/โมล) 0.0021 กรัม ละลายใน DMSO 50 ไมโครลิตร เดิมบัฟเฟอร์ (0.05 โมลาร์ Tris – HCl pH 8.2 ที่ผสมด้วย 0.02 M  $CaCl_2$ ) และปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร

#### 4.3 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Rick and Stegbauer, 1974)

บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ 0.05 โมลาร์ Tris – HCl pH 8.0 ที่ผสมด้วย 0.01 M NaCl ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร เอนไซม์ (เจือจางให้ความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่สามารถวัดได้) 0.1 มิลลิลิตร ก่อนเติมซับสเตรทคือ 1 เปอร์เซ็นต์ สารละลายแป้ง (Starch solution) 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที เติม 1 เปอร์เซ็นต์ Dinitrosalicylic acid (DNS) ซึ่งเป็น color reagent 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและบ่มที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 20 นาที และนำสารละลายที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโตส



### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

- 1) 0.05 โมลาร์ Tris – HCl pH 8.0 ที่ผสมด้วย 0.01 M NaCl  
 ชั่ง Tris (MW. 121.14 กรัม/โมล) 0.6057 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ชั่ง NaCl (MW 58.4527 กรัม/โมล) 0.0585 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกัน และปรับ pH ให้เป็น 8.0 ก่อนปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 2) 1 เปอร์เซ็นต์ สารละลายแป้ง  
 ชั่ง สารละลายแป้ง 1 กรัม ละลายด้วยบัฟเฟอร์ (0.05 โมลาร์ Tris – HCl pH 8.0 ที่ผสมด้วย 0.01 M NaCl) ต้มที่ 100 องศาเซลเซียสจนกว่าสารละลายจะใส
- 3) 1 เปอร์เซ็นต์ Dinitrosalicylic acid (DNS)  
 ชั่ง 3, 5 dinitrosalicylic acid 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 40 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอ้มล ลงไปอีก 40 มิลลิลิตร ชั่ง Potassium sodium tartrate (282.1 กรัม/โมล) 30 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 100 มิลลิลิตร
- 2) Maltose 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ใช้ทำกราฟมาตรฐาน)  
 ชั่ง Maltose 0.025 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสารเป็น 25 มิลลิลิตร ปริมาณความเข้มข้นต้องเทียบเท่ากับตัวอย่างที่ใช้ทำปฏิกิริยา (เอนไซม์และบัฟเฟอร์) หลังเจือจาง Maltose ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-600 ไมโครลิตร นำสารที่เจือจางเข้าสู่ขั้นตอนเดียวกับการวัดผลในเอนไซม์

### 4.4 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส (ดัดแปลงตามวิธีการของ Maroux *et al.*, 1973)

นำ sodium phosphate buffer (80 มิลลิโมลาร์) ที่ pH 7.5 ผสมกับ *L-leucine p*-nitroanilide (2 มิลลิโมลาร์) ละลายใน DMSO (0.1 มิลลิโมลาร์) หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ที่ได้มาจากการสกัด ผสมให้เข้ากัน ก่อนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ทุกๆ 20 วินาที เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ *para*-nitroanilide

### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

- 1) Sodium phosphate buffer (80 มิลลิโมลาร์) pH 7.5  
 ชั่ง สาร  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (MW. 268.06 กรัม/โมล) 10.7224 กรัม และ ชั่ง  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (MW. 156.01 กรัม/โมล) 6.2404 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 7.5 และปรับปริมาตรสารให้เป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2) *L-leucine p-nitroanilide* (ใน 0.1 มิลลิโมลาร์ DMSO)

ชั่ง Leu-*p*-Nan (MW. 251.28 กรัม/โมล) 0.025 กรัม ละลายด้วย DMSO 200 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย Sodium phosphate buffer (80 มิลลิโมลาร์) pH 7.5 จนได้ปริมาณเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 3) 0.1 M Tris buffer pH 7.5

4) *para*-nitrosnillide (กราฟมาตรฐาน)

โดยชั่ง *para*-nitrosnillide 0.001 กรัม ละลายด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ DMSO 10 ไมโครลิตร เติม 0.1 โมลาร์ Tris buffer pH 7.5 ปริมาณ 990 ไมโครลิตร จะได้สารละลายสีเหลืองขุ่น เจือจางด้วย 0.1 โมลาร์ Tris buffer pH 7.5 เพิ่มปริมาณให้ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองใส หลังจากนั้นจึงนำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นในระดับต่างๆ โดยใช้ sodium phosphate buffer (80 มิลลิโมลาร์) pH 7.5 ผสมสารละลายแต่ละความเข้มข้นให้เท่ากัน นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงเพื่อใช้หาความเข้มข้นของเอนไซม์ลิวซีนอะมิโนเปปติเดส

## ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน para-nitrosnillide

para-nitrosnillide 1.448 ไมโครโมล/มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	ใช้ sodium phosphate buffer (80 มิลลิโมลาร์) pH 7.5 (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของ สารละลาย para-nitrosnillide (ไมโครโมล/มิลลิลิตร)
0	300	0.0000
2	298	0.0097
4	296	0.0193
6	294	0.0290
8	292	0.0386
10	290	0.0483
15	285	0.0724
20	280	0.0965
25	275	0.1207
30	270	0.1448
40	260	0.1931
50	250	0.2413

#### 4.5 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสเฟต (ดัดแปลงตามวิธีการของ Bessey *et al.*, 1946)

นำ p-nitrophenyl-phosphate (7 มิลลิโมลาร์) ผสมกับ  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  buffer (30 มิลลิโมลาร์) pH 10.75 และเติมเอนไซม์ที่สกัดได้ ผสมก่อนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 407 นาโนเมตร ทุกๆ 20 วินาที เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ p-nitrophenol

### สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

- 1)  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  buffer (30 มิลลิโมลาร์) pH 10.75

ชั่งสาร  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (MW. 105.99 กรัม/โมล) 1.5899 กรัม และชั่ง  $\text{NaHCO}_3$  (MW. 84.01 กรัม/โมล) 1.2602 กรัม ละลายกับน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 10.75 และปรับปริมาตรสารให้เป็น 500 มิลลิลิตร เก็บสารไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- 2)  $\text{MgCl}$  (1 มิลลิโมลาร์)

ชั่ง  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (MW. 203.30 กรัม/โมล) 0.0051 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสารให้เป็น 25 มิลลิลิตร

- 3) 7 มิลลิโมลาร์ *p*-nitrophenyl-phosphate solution (p-NPP)

ชั่ง pNPP (MW.371.14 กรัม/โมล) 0.130 กรัม ละลายด้วย  $\text{MgCl}$  (1 มิลลิโมลาร์) 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  buffer (30 มิลลิโมลาร์) pH 10.75 จนปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

- 4) *p*-nitrophenol (ใช้ทำกราฟมาตรฐาน)

โดยชั่ง *p*-nitrophenol 0.005 กรัม ละลายด้วย 2-propanol 500 ไมโครลิตร (71.8856 ไมโครโมล/มิลลิลิตร) จากนั้นเจือจางสารละลาย para-nitrophenol 20 เท่า (โดยการปิเปตสารละลาย para-nitrophenol 25 ไมโครลิตร ผสม 2-propanol 475 ไมโครลิตร จากนั้นเจือจางอีกครั้งอีก 10 เท่า โดยการปิเปตสารละลาย para-nitrophenol 50 ไมโครลิตร ผสม 2-propanol 475 ปริมาณ 450 ไมโครลิตร) สารที่ได้จะมีลักษณะใสไม่มีสี หลังจากนั้นจึงนำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นในระดับต่างๆ โดยใช้  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$  buffer (30 มิลลิโมลาร์) pH 10.75 ผสมสารละลายแต่ละความเข้มข้นให้เท่ากัน นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 407 นาโนเมตร

## ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน para-nitrophenol

<i>p</i> -nitrophenol 0.3594 ไมโครโมล/มิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / NaHCO <sub>3</sub> buffer (30 มิลลิโมลาร์) pH 10.75 (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของ สารละลาย <i>p</i> -nitrophenol (ไมโครโมล/มิลลิลิตร)
0	300	0.0000
2	298	0.0024
4	296	0.0048
6	294	0.0072
8	292	0.0096
10	290	0.0120
15	285	0.0180
20	280	0.0240
25	275	0.0300
30	270	0.0359
40	260	0.0479
50	250	0.0599
75	225	0.0899
100	200	0.1198

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวธีราพรรณ ตาห์ลี

รหัสนักศึกษา 5510620027

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วาริชศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2552

ทุนการศึกษาที่ได้รับระหว่างเรียน

- ทุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2558 รหัส NAT 5807815 โครงการรูปแบบและการเก็บรักษาเครื่องในปลาทูน่าไฮโดรไลเสตสำหรับเสริมในอาหารปลากะพงขาวที่มีการใช้วัตถุดิบพืชทดแทนปลาป่น
- ทุนอุดหนุนบัณฑิตวิทยาลัย คณะทรัพยากรธรรมชาติ

ผลงานตีพิมพ์

ธีราพรรณ ตาห์ลี และชุติมา ตันติกิตติ. ผลของรูปแบบและระยะเวลาการเก็บรักษาโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าต่อคุณภาพและการนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นการกินอาหารของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch). วารสารการประมง 6 : (ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์)