บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ในกระบวนการแปรรูปอาหารทะเล ไม่ว่าจะเป็นการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องหรือผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็งซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ส่งออกที่สำคัญและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ในปัจจุบันพบว่ามีการจับปลาทูน่าทั่วโลกถึง 100 ล้านตันและพบว่า 30% ของปลาที่จับได้มีมูลค่าต่ำ ดังนั้นจึงนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์และในกระบวนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องจะมีวัสดุเศษเหลือเกิดขึ้นมากมายซึ่งมีปริมาณมากถึง 64% ของน้ำหนักปลา (Kim *et al*., 1997) วัสดุเศษเหลือเหล่านี้มีทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว โดยวัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็งได้แก่ เครื่องใน เศษเนื้อดำและหนัง หัวและก้างปลา สำหรับวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวคือ เลือดปลา น้ำนึ่งปลาทูน่า (Prasertsan *et al*., 1988) ส่วนในอุตสาหกรรมการผลิตกุ้งแช่แข็งจะมีการปอกเปลือกและเอาส่วนหัวทิ้งไปซึ่งมีมากกว่า 33% ของกุ้งทั้งตัวและมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่มีการนำเอาหัวกุ้งไปทำกุ้งป่นเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ (Fagbenro and Bello-Olusoji, 1997) วัสดุเศษเหลือเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง (Shahidi *et al*., 1995) ดังนั้นจึงมีการนำวัสดุเศษเหลือดังกล่าวมาใช้ให้ก่อประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่า ซึ่งการนำวัสดุเศษเหลือจากปลามาใช้นั้นได้รับความสนใจมานานกว่า 10 ปีแล้ว โดยการนำเอาวัสดุเศษเหลือมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต (protein hydrolysate) และสารสกัดจากปลา (fish extract) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์โปรติเอส (Kim *et al*., 1997)

ในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตอาจใช้กรดหรือด่างและเอนไซม์ในการย่อยสลาย แต่การใช้กรดด่างในการสกัดทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตลดลง จึงมีการแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยการใช้เอนไซม์เช่น เอนไซม์อัลคาเลสซึ่งสามารถย่อยปลาคอดได้ไนโตรเจนที่ละลายน้ำ (soluble nitrogen) 85-90% และให้รสขมน้อย (Lalasidis *et al*., 1978) และมีการใช้เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากไส้ติ่งของปลาทูน่าในการย่อยโปรตีนจากปลาคอด (Kim *et al*., 1997) ส่วน Kristinsson and Rasco (2000) ได้สกัดเอนไซม์เซอรีนโปรติเอส (serine protease) จากไส้ติ่งของปลาแอตแลนติกแซลมอนเพื่อใช้ในการย่อยกล้ามเนื้อปลาแซลมอนและมีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาเฮอริ่งโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสและปาเปน (Hoyle and Merritt, 1994) นอกจากนี้ยังมีการใช้เอนไซม์นิวเทรสในการย่อยสลายปลาคาเพลิน (Capelin) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 71-78% (Shahidi *et al*., 1995) และผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีคุณค่าทาง

โภชนาการสูงสามารถใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังมีศักยภาพช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต, กระตุ้นการกินอาหาร และในโปรตีนไฮโดรไลเสตยังมีสารที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Gildberg and Stenberg, 2001) และเป็นตัวเพิ่มความน่ากิน (Teles *et al*., 1999) จึงมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารเลี้ยงปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon) โดยแทนที่กรดอะมิโนในปลาป่นที่ระดับ 5% และ 8% พบว่าปลาแซลมอนมีอัตราการเจริญเติบโต (3.20%, 3.14%) และน้ำหนักปลา (12.40, 11.40 กรัม) สูงกว่าการเลี้ยงด้วยปลาป่น (3.03% และ 9.90 กรัม) ตามลำดับ (Berge and Storebakken, 1996) ส่วน Kolkovski และคณะ (2000) ได้ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากกุ้งเคย (krill hydrolysate) เป็นสารดึงดูดการกินในปลาวัยอ่อนและลูกปลา โดยการเคลือบบนอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาซึ่งพบว่าการเจริญเติบโตของลูกปลาเพิ่มขึ้นเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้เคลือบโปรตีนไฮโดรไลเสต (734 กรัม และ559 กรัม ตามลำดับ) นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเสตยังมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Hartati and Briggs, 1993) และมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในปริมาณสูงเพื่อแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาเทอโบท (turbot) (Teles *et al*., 1999) ซึ่งการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำได้ก็จะสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิตอาหารได้ ปัจจัยสำคัญลำดับแรกของประสิทธิภาพการใช้อาหารคือต้องมั่นใจว่าอาหารที่ให้นั้นปลาและกุ้งสามารถกินได้อย่างเต็มที่และรวดเร็ว ปัจจัยที่สองคืออาหารจะต้องมีองค์ประกอบหรือสารอาหารที่จำเป็นเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต (Goddard, 1996) ซึ่งในโปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณค่าทางโภชนาการสูงสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ ในปัจจุบันจึงมีการนำเอาวัสดุเศษเหลือจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเลมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสตและผลิตภัณฑ์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก

งานวิจัยนี้มุ่งผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือของโรงงานแปรรูปอาหารทะเลและศึกษาผลการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเพื่อเพิ่มปริมาณการกินอาหารของปลาซึ่งจะเป็นผลดีต่อเกษตรกรในแง่ของการลดต้นทุนการผลิต จึงเป็นแนวทางการศึกษาที่น่าสนใจอย่างยิ่ง

ตรวจเอกสาร

1. แหล่งที่มาและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเศษเหลือ

1.1 เครื่องในและน้ำนึ่งปลาทูน่า

ตลาดการค้าปลาทูน่าทั่วโลกมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 0.5 ล้านตันในปี ค.ศ. 1950 และปลาทูน่าสายพันธุ์ครีบเหลือง (*Thunnus albacares*) ก็ได้รับความสนใจเป็นลำดับสองซึ่งมีการจับถึง 610,000 ตันในปี ค.ศ. 1984 โดยมีการจับที่มหาสมุทรอินเดียประมาณ 100,000 ตันในปี ค.ศ. 1985 (Stequert and Marsac, 1989) อุตสาหกรรมการแปรรูปปลาทูน่ากระป๋องมีความสำคัญอย่างมากในภาคพื้นอาเซียน ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้จะถูกส่งไปขายทั่วโลกซึ่งปลาทูน่าที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตได้จากภายในประเทศและมีการนำเข้าจากต่างประเทศด้วย จากรายงานพบว่ามีการจับปลาทูน่าประมาณ 3% ของการผลิตปลาทั่วโลก และมีปลาทูน่าหลายพันธุ์ที่มีความสำคัญในการผลิตปลาทูน่ากระป๋อง ในปี ค.ศ. 1984 มีการจับปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ 1.05 ล้านตัน, พันธุ์ครีบเหลือง 599,000 ตัน, พันธุ์ตาโต 190,000 ตัน, พันธุ์อัลบาคอล์ 186,000 ตันและพันธุ์ครีบน้ำเงิน 73,000 ตัน และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 3.1 ล้านตันในปี ค.ศ. 1994 มีการจับปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลืองประมาณ 1.1 ล้านตันคิดเป็น 35% ของปลาทูน่าทั้งหมดที่จับ และประเทศที่มีความต้องการปลาทูน่ามากที่สุดคือ ญี่ปุ่น รองลงมาคือ สหรัฐอเมริกา, สเปน, ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย ตามลำดับ (Hotrabhavananda, 1987) ส่วนในประเทศไทยมีการนำเข้าปลาทูน่าพันธุ์โอแถบประมาณ 90% และอีก 8% เป็นปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลือง และมีปลาทูน่าชนิดอัลบาคอล์ปะปนมาบ้างไม่เกิน 2% (คณะทำงานศึกษาการประมงปลาทูน่า, 2534) มีเพียงส่วนเนื้อขาวของปลาทูน่าเท่านั้นที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง ที่เหลือส่วนใหญ่จะเป็นส่วนที่ไม่มีประโยชน์ซึ่งประกอบด้วย เครื่องใน หัว หนัง กระดูกและเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 70% ของวัตถุดิบเริ่มต้น (Guerard *et al*., 2001)

กระบวนการแปรรูปปลาทูน่ากระป๋อง (ภาพที่ 1) ซึ่งในระหว่างการผลิตปลาทูน่ากระป๋องมีผลพลอยได้เกิดขึ้น 45% จำแนกเป็นส่วนต่างๆ คือ หัวปลา หางปลา ก้างปลา และหนังปลามีปริมาณ 28-30%, ไส้ปลา 5-7%, เลือดปลา 10-12% นอกจากนี้ยังมีวัสดุเศษเหลือได้แก่ น้ำนึ่งปลาจากกระบวนการทำให้ปลาสุกมีปริมาณ 20% ของน้ำหนักปลา (สุมาลัย ศรีกำไลทอง และคณะ, 2537 อ้างโดย พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542)

อัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนหัวและเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ พบว่าส่วนหัวปลาทูน่ามีองค์ประกอบหลักคือโปรตีน ไขมัน และเถ้า (โดยน้ำหนักแห้ง)

51.54, 22.08 และ 24.07% ส่วนเครื่องในปลาทูน่ามีโปรตีน ไขมัน และเถ้า 76.68, 9.58 และ 11.63% ตามลำดับ ส่วนวิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลือง พบว่ามีปริมาณโปรตีน 74.02% ไขมัน 5.10% และเถ้า 5.57% ในกระบวนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง มีวัสดุเศษเหลือทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลว ส่วนของแข็งได้แก่ เครื่องใน หนัง หัวและก้างปลา สำหรับวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวได้แก่ เลือดปลา น้ำนึ่งปลาทูน่า (Prasertsan *et al*., 1988) ดังนั้นจึงมีการนำเอาเครื่องในปลาทูน่ามาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตสอดคล้องกับรายงานของ Guerard และคณะ (2001) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลืองโดยใช้เอนไซม์อัลคาเลส ส่วนวิภาวรรณ ไตรรัตนานุกูล (2544) ได้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าเช่นเดียวกัน แต่ไม่มีการเติมเอนไซม์ลงไป นอกจากนี้มีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากกล้ามเนื้อปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar*) โดยใช้เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสและเอนไซม์ที่สกัดได้จากไส้ติ่งของปลาแอตแลนติกแซลมอน (Kristinsson and Rasco, 2000) ส่วนน้ำนึ่งปลาทูน่าได้จากการนึ่งปลา (pre-cooking) เป็นขั้นตอนการทำให้สุก ก่อนนำไปแปรรูปมีจุดมุ่งหมายเพื่อไล่น้ำออกจากตัวปลา ทำให้แยกเนื้อออกจากกระดูกได้ง่ายและช่วยลดปริมาณ จุลินทรีย์ก่อนการแปรรูป วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำนึ่งปลา เป็นน้ำที่ออกจากโปรตีนกล้ามเนื้อของปลาจึงมีปริมาณสารอินทรีย์สูง ในการให้ความร้อนโดยการนึ่งด้วยไอน้ำ ทำให้น้ำ ไขมัน และสารประกอบพวกโปรตีนที่ละลายน้ำเช่น เจลาติน ถูกสกัดออกจากตัวปลาและสะสมอยู่ในน้ำนึ่งปลาทูน่า ส่วนสารประกอบที่ระเหยได้จะออกไปทางท่อไอน้ำ น้ำนึ่งปลาทูน่ามีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีความหนืด มีกลิ่นคาวจัดและมีชั้นไขมันบางๆลอยอยู่บริเวณผิวหน้า (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542) จากการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิตจำกัด (มหาชน) น้ำนึ่งปลาทูน่ามีสีน้ำตาลและไขมันบางๆ สีขาวลอยอยู่ ค่าพีเอชในน้ำนึ่งปลาทูน่ามีค่า 6.06 และมีไขมันอยู่ในปริมาณน้อยคือเท่ากับ 0.17% โปรตีน 4.76% เกลือ 0.36% และของแข็งทั้งหมด 7.44% (อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกูล, 2542) และได้นำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสกัดจากปลา (fish extract) (Jantaro, 2000)

Process stages	Residue
Frozen tuna	
↓	
Thawing	waste water
↓	
Viscera	head, viscera cavity
↓	
Washing	waste water
↓	
Pre-cooking	condensed water
↓	
Cooling	waste water
↓	
Packing	bones, skin, dark meat
↓	
Oil or brine filling	waste oil or brine
↓	
Sealing	
↓	
Can washing	waste water
↓	
Sterilization	waste water
↓	
Canned tuna	

ภาพที่ 1 ขั้นตอนกระบวนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องและวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้น

Figure 1 The scheme for processing of tuna canning and wastes

Source : Hotrabhavananda (1987)

1.2 กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำที่จับได้ประมาณ 20-30% ของกุ้งทั่วโลกมาจากประเทศแถบอาเซียน กุ้งทั้งหมดจะใช้ในการบริโภคภายในประเทศและเป็นสินค้าส่งออกซึ่งส่วนใหญ่จะแปรรูปเป็นกุ้งแช่แข็งและกุ้งบรรจุกระป๋อง ในปี ค.ศ 1983-1985 ประเทศไทยถือว่าเป็นผู้ผลิตกุ้งบรรจุกระป๋องรายใหญ่ที่สุดของโลกและมีปริมาณการส่งออกเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ตลาดที่สำคัญสำหรับการส่งออกกุ้งแช่แข็งของประเทศไทยได้แก่ สหรัฐอเมริกา, ฝรั่งเศส และแคนาดา (Hotrabhavananda, 1988) การเพาะเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่อยู่ในภาคใต้ของประเทศไทย กองเศรษฐกิจการประมง กรมประมง รายงานว่าใน 2-3 ปีที่ผ่านมา ผลผลิตกุ้งกุลาดำมีประมาณ 270,000 ตันให้วัสดุเศษเหลือที่เป็นหัวกุ้ง 38% เปลือกกุ้ง 7% และหางกุ้ง 5% คิดเป็นปริมาณวัสดุเศษเหลือสูงถึง 50% หรือเท่ากับ 135,000 ตันต่อปี (สุมาลัย ศรีกำไลทอง, 2541 อ้างโดย พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542) จากข้อมูลปี 2539-2541 ในจำนวนกุ้งที่ส่งออกเป็นกุ้งกุลาดำราว 80% กุ้งส่งออกส่วนใหญ่เป็นกุ้งสดแช่เย็นแช่แข็งในรูปกุ้งชนิดไม่เด็ดหัวออก ไม่ปอกเปลือก กุ้งเด็ดหัวแต่ไม่ปอกเปลือก กุ้งเด็ดหัวปอกเปลือกไม่ไว้หางและผ่าหลังเอาไส้ออก เนื้อกุ้งเป็นชิ้น กุ้งชุบแป้ง กุ้งต้ม กุ้งแห้ง (บางเขน 1074, 2542) จากแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมกุ้งแช่เย็นและกุ้งแช่เยือกแข็งที่เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้มีปริมาณของวัสดุเศษเหลือเพิ่มมากขึ้น ผลผลิตกุ้งที่ได้แต่ละปีใช้บริโภคภายในประเทศประมาณ 5% ส่วนที่เหลือเป็นวัตถุดิบของกุ้งสดแช่เย็น แช่เยือกแข็ง กุ้งแห้ง กุ้งต้มสุกแช่เย็นหรือแปรรูปเป็นกุ้งกระป๋องเพื่อส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ การแปรรูปเป็นกุ้งกระป๋องมีขั้นตอนการผลิตและวัสดุเศษเหลือ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ Gildberg และ Stenberg (2001) กล่าวว่าในอุตสาหกรรมกุ้งจะมีส่วนเนื้อที่ใช้ประโยชน์ได้เพียง 25% (w/w) ในขณะที่ 40% เป็นวัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง

โดยทั่วไปองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้ง ประกอบด้วยโปรตีน 1/3 (มี crude protein 32-35% และเป็น true protein 25-28%) และมีแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) 1/3 และมีไคติน 1/3 แต่สัดส่วนขึ้นกับพันธุ์และฤดูกาล (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542) เสาวลักษณ์ วนิชสุวรรณ (2543) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี เปลือกของหัวกุ้งกุลาดำพบว่าประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า ไคติน ความชื้น 17.34, 1.07, 40.96, 23.26และ 9.41% ตามลำดับ ส่วนเปลือกของส่วนลำตัวประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน เถ้า ไคติน ความชื้น 29.43, 1.11 31.53, 24.74 และ 10.99% ตามลำดับ ส่วน ไตรตะวัน คงแก้ว (2542) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่าในหัวกุ้งกุลาดำมีความชื้น โปรตีน ไขมันและเถ้า 71.03, 44.32, 21.81 และ 24.99% ตามลำดับ และได้นำหัวกุ้งกุลาดำมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้

เอนไซม์อัลคาเลส นิวเทรสและปาเปน (ไตรตะวัน คงแก้ว, 2542) เช่นเดียวกับ Gildberg และ Stenberg (2001) ได้นำเอาวัสดุเศษเหลือจากกุ้ง *Pandalus borealis* มาเพิ่มมูลค่าโดยการผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเสต

Process stages	Residue
Reception of fresh shrimp	
↓	
Washing	waste water
↓	
Peeling	cephalothorax, shell, waste water
↓	
Cleaning	waste water
↓	
Pre-cooking	condensed water and waste water
↓	
Cooling	waste water
↓	
Drying	air
↓	
Packing	
↓	
Filling with brine	waste brine
↓	
Sealing	
↓	
Washing	waste water
↓	
Sterilization	waste water
↓	
Canned shrimp	

ภาพที่ 2 ขั้นตอนกระบวนการผลิตกุ้งบรรจุกระป๋องและวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้น

Figure 2 The scheme for processing of shrimp canning and wastes

Source : Hotrabhavananda (1988)

2. ผลิตภัณฑ์โปรตีนจากปลาและวัสดุเศษเหลือจากปลา

คุณประโยชน์ที่สำคัญของสัตว์น้ำคือเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญ ประกอบด้วยกรด อะมิโนที่สามารถให้ประโยชน์แก่ร่างกายได้สูงสุด สามารถย่อยและดูดซึมได้ง่ายในร่างกายมนุษย์ (Nettelton, 1985) ดังนั้นโปรตีนจากปลาจึงนิยมนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ

2.1 ปลาป่น

ปลาป่นเป็นส่วนของแข็งที่ได้จากการกำจัดน้ำและไขมันออกจากปลาที่มีคุณค่าทาง เศรษฐกิจต่ำและวัสดุเศษเหลือจากปลา โดยวิธีการบีบอัดหรือการปั่นเหวี่ยงส่วนน้ำและไขมันออกไป มีคุณค่าทางโภชนาการสูง สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ Ockerman (1992) รายงานว่าปลาป่นประกอบด้วยโปรตีน 50-77% ความชื้น 6-12% ไขมัน 5-15% เถ้า 8-33% เส้นใยน้อยกว่า 1% และมี กรดอะมิโนจำเป็นที่สำคัญคือ ไลซีน นอกจากนี้ยังมีวิตามินบางชนิดได้แก่ บี 12, โคลีน, กรดแพนโททินิก และไนอะซิน เป็นต้น

2.2 ปลาหมัก

ปลาหมักเป็นของเหลวที่ได้จากการหมักปลาหรือวัสดุเศษเหลือจากปลาด้วยเอนไซม์ตามธรรมชาติ เช่น เปปซิน (pepsin) คาเทปซิน (cathepsin) เป็นต้น ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดซึ่งอาจเติมกรดฟอร์มิกหรือกรดโปรปิโอนิกลงไปโดยตรงหรือใช้วิธีการหมักให้ได้กรดแลคติกเพื่อหลีกเลี่ยงการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ เนื่องจากระหว่างกระบวนการผลิตไม่มีการควบคุมการย่อยสลายจึงมักได้เปปไทด์ขนาดเล็กหลายชนิดและกรดอะมิโนอิสระ (Hall and Ahmad,1992) การหมักปลามีกระบวนการผลิตคล้ายกับการผลิตน้ำปลาแต่ในการผลิตปลาหมักจะไม่มีการเติมเกลือ ในกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองของการผลิตปลาหมักจะเกิดขึ้นเร็วกว่าการผลิตน้ำปลาซึ่งของเหลวที่ได้จากการหมักปลาจะมีรสขมซึ่งไม่เหมาะสำหรับการนำไปให้มนุษย์บริโภค (Gildberg, 1993)

2.3 โปรตีนปลาเข้มข้น

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อการบริโภคโดยการสกัดเอาไขมัน และกำจัดสารที่ละลายได้นอกเหนือจากโปรตีนออกจากปลาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เช่น แอลกอฮอล์ เฮกเซน และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ ภายใต้อุณหภูมิ 50-75 องศาเซลเซียส 2-3 ครั้ง ระเหยเอาส่วนน้ำและสารละลาย

สกัดที่ตกค้างออกทำให้ได้โปรตีนที่เข้มข้น นำไปทำแห้งและบดเป็นผงละเอียด ผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Mackie, 1994)

2.4 โปรตีนปลาสกัด

เป็นผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้จากปลาและวัสดุเศษเหลือจากปลา โดยอาศัยคุณสมบัติการละลายของโปรตีนในที่มีค่าพีเอชที่เหมาะสมหรือสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม แยกส่วนที่ไม่ละลายออกได้แก่ กระดูก เกล็ด หนัง และพังผืด เป็นต้น ออกจากสารละลายโดยการหมุนเหวี่ยงหรือการกรอง นำสารละลายส่วนใสมาปรับสภาวะให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน และการกำจัดส่วนที่ไม่ต้องการได้แก่ สี กลิ่น ไขมัน เกลือ และตัวทำละลาย เป็นต้น (Meinke *et al*., 1972)

2.5 โปรตีนไฮโดรไลเสต

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของโปรตีนโดยการตัดสายเปปไทด์ที่มีสายโซ่ยาวให้เป็นกรดอะมิโนอิสระหรือเปปไทด์สายสั้นๆ การเร่งปฏิกิริยาสามารถทำได้โดยการใช้กรด-ด่างหรือเอนไซม์ (Adler-Nessen, 1986) นอกจากนี้พบว่าการเติมเอนไซม์ไม่ได้ช่วยทำให้ผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเสตเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์ภายในเครื่องในหรือตัวปลามีอย่างเพียงพอ และจำเป็นต้องควบคุมสภาวะเช่น ระยะเวลา อุณหภูมิ พีเอช เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายตามความต้องการ (Mackie,1982)

3. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

3.1 การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต โดยทั่วไปกระทำได้ 3 วิธี ได้แก่

3.1.1 การเกิดตามธรรมชาติ

การเกิดโปรตีนไฮโดรไลเสตตามธรรมชาติอาศัยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของปลาอันเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อยู่ในลำไส้ปลา และเอนไซม์ของพวกกล้ามเนื้อ ตัวอย่างประเภทนี้ได้แก่ น้ำจากปลาที่กำจัดไขมันออก (stick water) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมปลาป่น (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542)

3.1.2 การย่อยสลายด้วยสารเคมี

Jaswal (1990) กล่าวว่าการย่อยด้วยกรดและด่างไม่สามารถกำหนดอัตราการย่อยสลายพันธะได้อย่างมีประสิทธิภาพ และการย่อยสลายด้วยด่างหรือกรดจะทำลายกรดอะมิโนที่จำเป็นบางชนิด เช่น ทริปโตเฟน ซีสเตอีน และซีสตีน นอกจากนี้ซีรีนและทรีโอนีนอาจถูกทำลายเช่นกันรวมทั้งมีผลทำให้เกิดเรซีไมเซชั่น (racemization) ของกรดอะมิโนซึ่งเปลี่ยนจาก L-form เป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดต่ำลง (Hall and

Ahmad, 1992) ดังนั้นการใช้เอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีนจึงมีบทบาทมากกว่าการย่อยสลายด้วยสารเคมี

3.1.3 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส

การใช้เอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตมีความจำเพาะสูงและเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและพีเอชปานกลางซึ่ง กิจกรรมที่เหมาะสมของเอนไซม์สามารถกำหนดระดับการย่อยสลายและขนาดของเปปไทด์ที่เกิดขึ้น (Adler-Nessen, 1986)โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีสีสว่าง มีปริมาณ คลอไฮดริน (chlorhydrins) ปริมาณเถ้าต่ำ และยังมีกลิ่นรสที่ไม่รุนแรง

เอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต คือเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส (Hall and Ahmad, 1992) ซึ่งมี 2 กลุ่มคือ

1. เอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในโมเลกุลของโปรตีนเป็นสายโซ่เปปไทด์สั้นๆ เอนไซม์กลุ่มเอนโดเปปติเดสจากพืชหรือจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง เนื่องจากมีความจำเพาะแบบกว้าง ทำให้สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว

2. เอกโสเปปติเดส (Exopeptidase) เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะเปปไทด์ด้านปลายของโมเลกุลถ้าเป็นการสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มกรดอะมิโนเรียกว่า อะมิโนเปปติเดส ขณะที่การสลายพันธะทางปลายด้านกลุ่มคาร์บอกซิลเรียกว่า คาร์บอกซิเปปติเดส ตัวอย่างเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล

Table 1 Type of protease for production of protein hydrolysate from seafood processing wastes

Raw materials	Enzymes	Reference
Atlantic salmon frames	Protamex™ protease	Liaset และคณะ (2002)
Shrimp waste	Alcalase	Gildberg และ Stenberg (2001)
Yellowfin tuna wastes	Alcalase	Guerard และคณะ (2001)
Pacific whiting solid wastes	Alcalase	
	Neutrase	Benjakul และ Morrissey (1997)

Cod frame	Tuna pyloric caeca	
	crude proteinase	Kim และคณะ (1997)
Crayfish processing by- products	Commercial protease	Beak และ Cadwallader (1995)
Deboned cod filleting offal	Alcalase	Lalasidis และคณะ (1978)

3. 2 เอนไซม์โปรติเอสจากสัตว์น้ำ

3.2.1 แหล่งที่มา

Kim และคณะ (1997) กล่าวว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนปลาส่วนใหญ่ได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ที่ได้จากทางทะเลมีค่อนข้างน้อย เอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากอวัยวะต่างๆในระบบทางเดินอาหารได้แก่ ไส้ติ่ง และตับซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ทริปซิน (trypsin), ไคโมทริปซิน (chymotrypsin), คอลลาเจนเนส (collagenase), อีลาสเตส (elastase) คาร์บอซีเปปติเดส (carboxypeptidase) และคาร์บอซิลเอสเทอร์เรส (carboxylesterase) และยังมีการสกัดเอนไซม์เซอรีนโปรติเอส (serine protease) จากไส้ติ่งของปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar*)

Gildberg และ Quan (1994) เก็บเกี่ยวเอนไซม์ทริปซินจากน้ำปลาโดยการใช้ ultrafiltration ซึ่งทำการเก็บเกี่ยวในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งใช้เครื่องในสดจากปลาแอตแลนติกคอด (Atlantic cod) เป็นวัตถุดิบ เมื่อผลิตได้ทำการเก็บรักษาโดยการทำแห้ง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีโปรตีน เถ้าและความชื้น 27, 67 และ 4% ตามลำดับ ส่วนไขมันไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยการสกัดโดยวิธีซอคเลต (soxhlet extraction) นอกจากการเก็บเกี่ยวเอนไซม์จากเครื่องในสดจากปลาแอตแลนติกคอด แล้วยังมีการเก็บเกี่ยวเอนไซม์โปรติเอสจากเครื่องในปลาแซลมอน (*Salmo salar*), เครื่องในปลาเมคเคอเรล (*Scomber scombrus*) และเครื่องในปลาคอด (*Gadus morhua*) ยกเว้นตับที่จะต้องตัดทิ้งไป ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเครื่องในจากปลาคอด, เมคเคอเรล และปลาแซลมอนเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเอนไซม์โปรติเอสจากวัสดุเศษเหลือจากปลา ส่วนกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จะต่ำกว่าเอนไซม์เปปซินและเอนไซม์ทริปซินทางการค้า อย่างไรก็ตามในกระบวนการทำบริสุทธิ์จะเสียค่าใช้จ่ายน้อยและสามารถนำวัสดุเศษเหลือมาใช้ให้เกิดประโยชน์ซึ่งเอนไซม์ที่ได้ก็สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมปลาและอุตสาหกรรมอาหารได้ (Reece, 1988)

3.2.2 คุณสมบัติของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้

Doke และ Ninjoor (1987) สกัดและศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเนสและเอนไซม์เอกโซเปปติเดสจากกล้ามเนื้อของกุ้งขาวอินเดีย (*Penaeus indicus*) พบว่าเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเนสทำงานได้ดีที่พีเอช 8 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิที่ 40-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 250 กิโลดาลตัน(KDa) ส่วนเอนไซม์เอกโซเปปติเดสจะตัดกรดอะมิโนเนฟทิลเอไมด์ (naphthylamide) ที่พีเอช 6.8 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ชนิดนี้เป็นเอนไซม์ในกลุ่มอะมิโนเปปติเดสเพราะว่าจะมีความไวต่อเบสตา ติน (bestatin) และเพอโรไมซิน (puromycin) ต่อมาได้มีการสกัดเอนไซม์ทริปซินจากไส้ติ่งของปลาแอตแลนติกคอด เอนไซม์ที่สกัดได้มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงและมีความคงตัวที่พีเอชเป็นด่าง แต่ กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงครึ่งหนึ่ง ถ้าบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และได้วิเคราะห์องค์ประกอบกรดอะมิโนในเอนไซม์ทริปซินพบว่ามีซีรีน, ไกลซีน, กลูตาเมตและแอสพาเตตในปริมาณที่สูง และพบว่ามีเมตไทโอนีนในปริมาณน้อย (Simpson *et al*., 1990)

3.2.3 การนำเอนไซม์โปรติเอสสกัดจากวัสดุเศษเหลือมาใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต

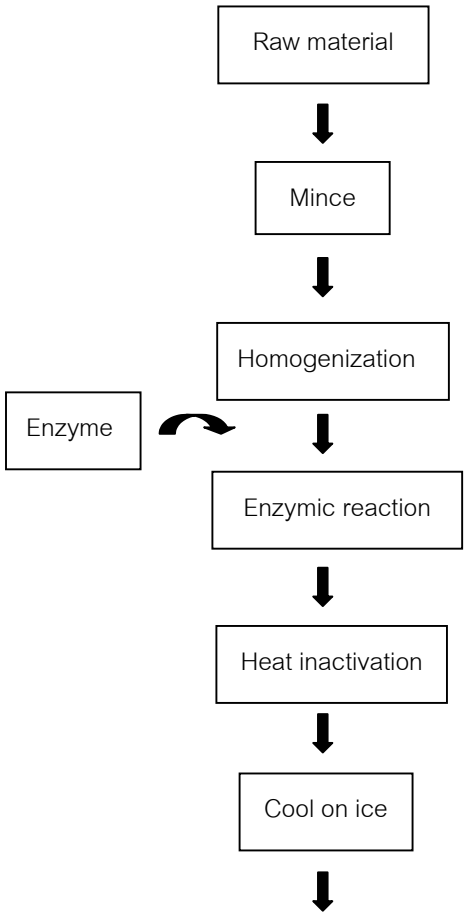
Kim และคณะ (1997) เก็บเกี่ยวเอนไซม์โปรติเอสจากไส้ติ่งปลาทูน่า (*Thunnus thynnus*) เพื่อใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากส่วนที่เหลือหลังการแล่เนื้อปลาคอด (cod frame) พบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้มีกิจกรรมในการย่อยสูงกว่าเอนไซม์โปรเนสอี (pronase E), ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) และเอนไซม์ปาเปน (papain) และพบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จากไส้ติ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มอัลคาไลน์โปรติเอส เช่นเดียวกับ Kristinsson and Rasco (2000) ซึ่งใช้อัลคาไลน์โปรติเอสและเซอรีนโปรติเอสจากเครื่องในปลาแอตแลนติกแซลมอนให้มีกิจกรรมของเอนไซม์เท่าๆกันเติมลงไป เพื่อย่อยสลายกล้ามเนื้อปลาแอตแลนติกแซลมอน พบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้มีประสิทธิภาพในการย่อยกล้ามเนื้อปลาแอตแลนติกเซลมอนดีกว่าเอนไซม์ฟลาเวอร์ไซม์ (Flavourzyme 1000L), โคโรเลส (Corolase PN-L) และเอนไซม์อัลคาเลส (Alkalase 2.4L)

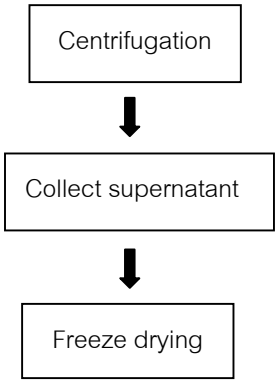
ส่วน Jantaro (2000) ใช้เอนไซม์ที่สกัดได้จากเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลืองมาใช้ในการผลิตสารสกัดจากปลา (fish extract) โดยใช้น้ำนึ่งปลาทูน่าเป็นวัตถุดิบเปรียบเทียบกับเอนไซม์ ทริปซินและไคโมทริปซินทางการค้า ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกับการใช้เอนไซม์ทางการค้า เช่นเดียวกับการทดลองของ Ramakrishma และคณะ (1987) ที่นำเอนไซม์ไคโมทริปซินที่สกัดได้จากม้ามของปลาดอกฟิช (dogfish; *Squalus acanthias*) เพื่อนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากกล้ามเนื้อปลา และเปรียบเทียบกับเอนไซม์ไคโมทริปซินทางการค้าซึ่งพบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จากปลาดอกฟิชมีประสิทธิภาพการย่อยพันธะเปปไทด์ได้สูงกว่าเอนไซม์ทางการค้า ซึ่งใน

กระบวนการย่อยโปรตีนโดยใช้เอนไซม์นั้น มีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้แก่ อุณหภูมิ, พีเอช, การกวน, ความจำเพาะของเอนไซม์, ความเข้มข้นของเอนไซม์และโปรตีน (Linder *et al*., 1995)

3.3 ขั้นตอนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีทางเอนไซม์

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตเกิดจากการกระบวนการย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงเป็นสายเปปไทด์สั้นๆ โดยการย่อยสลายด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส (Mackie, 1982) ขั้นตอนหลักๆ ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้เอนไซม์ (ภาพที่ 3) เริ่มจากนำวัตถุดิบมาบดให้ละเอียดแล้วเติมน้ำลงไป ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมเอนไซม์ลงไป ทำการย่อยในสภาวะที่เหมาะสมพร้อมกับการเขย่าหรือกวน แล้วยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยใช้ความร้อนและทำให้เย็น นำไปหมุนเหวี่ยงและเก็บสารละลายส่วนใสและนำไปทำแห้ง (Kristinsson and Rasco, 2000)





ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยวิธีทางเอนไซม์

Figure 3 Processing of protein hydrolysate produced by enzymatic method

Source : Kristinsson and Rasco (2000)

3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอส

การย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอส มีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้อง เช่น สับสเตรต (substrate) เอนไซม์ พีเอช อุณหภูมิ ระยะเวลาการย่อย เป็นต้น

1. สับสเตรต ชนิดของสับสเตรต การเตรียมสับสเตรตและความเข้มข้นของสับสเตรตมีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอสและมีผลต่อความเข้มข้นของโปรตีนที่ได้ (Nakajima *et al*., 1992) ชนิดและลักษณะของสับสเตรตมีผลต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ ถ้าโปรตีนมีการยึดเกาะหนาแน่นทำให้ไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ การเตรียมสับสเตรตก่อนนำไปย่อยสลายต้องทำให้รูปร่างของโปรตีนมีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายของเอนไซม์ โดยทั่วไปจึงมีการเติมน้ำในอัตราส่วนเท่ากับสับสเตรตเพื่อให้เกิดการกระจายตัวของเอนไซม์ (Mohr, 1980)

2. เอนไซม์ ธรรมชาติของเอนไซม์และปริมาณของเอนไซม์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอส โดยทั่วไปเอนไซม์เอนโดเปปติเดสที่ผลิตจากจุลินทรีย์เช่น อัลคาเลสโปรติเอสซึ่งสามารถผลิตได้จากเชื้อ *Cellulomonas flavigena* NTOU 1 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการย่อยวัสดุเศษเหลือจากกุ้ง (Chen *et al*., 1992) Benjakul และ Morrissey (1997) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลา แปซิฟิกไวทิง (Pacific whiting; *Merluccius productus*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าเอนไซม์ นิวเทรส นอกจากนี้เอนไซม์อัลคาเลสยังสามารถย่อยปลาเฮอริ่งได้ดีกว่าเอนไซม์ปาเปน และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสขมน้อยกว่าเอนไซม์ปาเปน (Hoyle and Merritt, 1994)

3. พีเอช พีเอชมีผลต่อการแตกตัวของอิออนของหมู่ prototropic ที่อยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติซึ่งนำไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับ สับส

เตรตหรือการเร่งปฏิกิริยา ในบางกรณีพีเอชมีผลทำให้ผลผลิตตกต่ำเนื่องจากการแตกตัวของ อิออนของผลผลิต ดังนั้นในการทำงานของเอนไซม์ต้องควบคุมพีเอชให้เหมาะสม ที่ไม่ทำให้แอคติวิตี้ถูกยับยั้งไปไม่ว่าด้วยวิธีการใด (Whitaker, 1994) การย่อยสลายโปรตีนมีความสัมพันธ์กับพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่เลือกใช้ อัญชลี สาระโบก และ อรัญ หันพงศ์กิตติกูล (2542) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสสามารถย่อยสลายน้ำนึ่งปลาทูน่าได้ดีที่สุดที่พีเอช 8 ส่วนเอนไซม์นิวเทรสมี พีเอชที่เหมาะสมคือ 7

4. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เลือกใช้ในการย่อยสลายโปรตีนมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่เลือกใช้ Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะในการทำงานของเอนไซม์อัลคาเลสคือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและเอนไซม์นิวเทรสสามารถทำงานได้ดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเนสที่สกัดได้จากกล้ามเนื้อกุ้งแชบ๊วย

5. ระยะเวลาการย่อย Yu และ Tan (1992) พบว่าเอนไซม์อัลคาเลสมีระยะเวลาการย่อยสลายโปรตีนที่เหมาะสมคือ 5 ชั่วโมงซึ่งถ้าหากใช้เวลามากกว่านี้จะทำให้ไฮโดรไลเสตที่ได้มีรสขมและได้กรดอะมิโนจำเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด Benjakul และ Morrissey (1997) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากวัสดุเศษเหลือในการแปรรูปปลาแปซิฟิกไวทิง โดยการใช้เอนไซม์ อัลคาเลสและนิวเทรส พบว่าระดับการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรกของการย่อยสลาย

4. ชนิดของสารกระตุ้นการกินอาหาร (attractant)

4.1 Taurine

เทอรีน (taurine) เป็นกรดอะมิโนไม่จำเป็นซึ่งประกอบด้วยหมู่ซัลเฟอร์ taurine สามารถสังเคราะห์ได้จากเมตไทโอนีน และซีสตีนร่วมกับวิตามิน B6 โปรตีนจากสัตว์เป็นแหล่งที่มีเทอรีนมาก แต่ไม่พบในโปรตีนจากผัก Hartati และ Briggs (1993) ทำการศึกษาผลของสารดึงดูดการกินอาหารต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่าอาหารที่เติมเทอรีนทำให้กุ้งกุลาดำมีการตอบสนองการกินสูงสุด (31.8%) รองลงมาคือยีสต์สกัดและกรดอะมิโนผสม (31.6% และ19.9%) ตามลำดับ

4.2 Betaine / Glycine

บีเทน (betaine) สามารถพบได้จากเนื้อปลา เนื้อวัว และพืชตระกูลถั่ว รวมทั้งกากน้ำตาลจากอ้อยและหัวบีท ส่วนไกลซีนเป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่อะมิโนและหมู่คาร์บอกซิลอย่างละ 1 หมู่ อยู่ในโมเลกุลทำให้มีสมบัติเป็นกลาง (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2523) การใช้กรดอะมิโนในปริมาณมากเกิน

ไปก็ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตลดลง นอกจากนี้การใช้กรดอะมิโนบางตัวร่วมกันก็อาจทำให้เกิดผลเสริมฤทธิ์กัน หรืออาจยับยั้งการกระตุ้นการกินอาหารได้ด้วย การใช้กรดอะมิโมร่วมกับบีเทน เช่น ไกลซีนบีเทน (glycine betaine) พบว่าได้ผลดีในการกระตุ้นการกินอาหารของปลาหลายชนิด (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) และมีการใช้บีเทนผสมลงไปในอาหารสำหรับเลี้ยงปลา coho salmon ซึ่งจะส่งเสริมการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาเมื่อเลี้ยงในน้ำทะเล (Castro *et al*., 1998) สอดคล้องกับรายงานของ Clarke และคณะ (1994) ที่เติมบีเทนลงไป 1% ในอาหารเลี้ยงปลา chinook salmon พบว่าปลามีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายสูงเมื่อเลี้ยงในน้ำทะเล แต่จะไม่มีความแตกต่างเมื่อเลี้ยงในน้ำจืด

4.3 Yeast extract

ยีสต์สกัด (yeast extract) ได้จากการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ ส่วนใหญ่ใช้ยีสต์สกัดเป็นตัวปรับกลิ่นรส แต่ในความเป็นจริงแล้วยีสต์สกัดสามารถเป็นตัวเพิ่มกลิ่นรส องค์ประกอบของยีสต์สกัดจะเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเลี้ยงยีสต์ การหมักและวิธีการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ องค์ประกอบส่วนใหญ่ของยีสต์สกัดเป็นโปรตีนประมาณ 73-75% (Sommer, 1998) และพบว่ากุ้งกุลาดำมีการตอบสนองต่อยีสต์สกัดดีกว่าสารกระตุ้นตัวอื่นๆ เช่น ไตรเมทิลอะมีนไฮโดรคลอไรด์ (trimethylamine hydrochloride) และอะดีโนซีน-5-โมโนฟอสเฟต (adenosine 5’ monophosphate) (Hartati and Briggs, 1993)

4.4 Amino acid mixture

กรดอะมิโนผสม (amino acid mixture) ส่วนใหญ่เป็น L- amino acid ซึ่งสามารถพบได้ในโปรตีนไฮโดรไลเสตจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเล เช่น หัวกุ้งและเปลือกกุ้ง เครื่องในปลาทูน่า และน้ำนึ่งปลาทูน่า นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในปลาหมัก (fish silage) โดยใช้หัวกุ้งและเครื่องในปลาทูน่าเป็นวัตถุดิบ (Chen *et al*., 1992) นอกจากนี้พบว่าการใช้กรดอะมิโนผสมสามารถกระตุ้นการกินอาหารของกุ้งกุลาดำได้ดีกว่าการใช้เซลลูโลส (Hartati and Briggs, 1993) และมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตผสมในอาหารเลี้ยงลูกปลาเทอโบท (turbot) (Teles *et al*., 1999) เพื่อแทนการใช้ปลาป่น และมีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในอาหารเลี้ยงลูกปลาแอตแลนติกแซลมอนที่ความเข้มข้น 5% และ 8% พบว่าปลาแซลมอนมีอัตราการเจริญเติบโต (3.20%, 3.14%) และน้ำหนักปลา (12.40, 11.40 กรัม) สูงกว่าการเลี้ยงด้วยปลาป่น (3.03% และ9.90 กรัม) (Berge and Storebakken, 1996)

4.4.1 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสต

ปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนในผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเสตขึ้นกับองค์ประกอบของกรดอะมิโนในวัตถุดิบเริ่มต้น กรดอะมิโนที่พบมากในโปรตีนไฮโดรไลเสตได้แก่ เทอรีน (taurine), อาร์จีนีน (arginine), ไกลซีน (glycine), ไลซีน (lysine), ลูซีน (leucine), โปรลีน (proline), กรดกลูตามิก (glutamic acid) (Chen *et al*., 1992) ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนในตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากหัวกุ้งกุลาดำ โดยใช้เอนไซม์อัลคาเลสที่ระดับการย่อย 65% พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้ประกอบด้วยกรดกลูตามิกสูงสุดคือ 11.92% รองลงมาคือกรดแอสพาร์ติก 8.81% ลูซีน 5.59% และไกลซีน 5.47% โดยมีปริมาณซีสเตอีนต่ำสุดคือ 0.84% และเมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่ดีซึ่งประกอบด้วย กรดกลูตามิก, กรดแอสพาร์ติก, ไกลซีน, ซีรีน, ทรีโอนีน, อะลานีน และโพรลีน ซึ่งให้รสหวาน พบว่าไฮโดรไลเสตจากหัวกุ้งกุลาดำประกอบด้วยกรดกลูตามิก และกรดแอสพาร์ติกในปริมาณสูง (ไตรตะวัน คงแก้ว, 2542) ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผลิตจากเครื่องในปลาทูน่า พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนที่สูงเช่นกัน โดยเฉพาะปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ ฟีนิลอะลานีน, ลูซีน, ไลซีน, เมตไทโอนีน และทรีโอนีน (อัจฉริยา เชื้อช่วยชู, 2542) ส่วน Kim และคณะ (1997) ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากส่วนที่เหลือหลังจากการแล่เนื้อปลาคอด โดยใช้เอนไซม์สกัดจากไส้ติ่งของปลาทูน่า จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนพบว่ามีกรดกลูตามิก, ไกลซีน, แอสพาราจีน, อะลานีน, ไลซีน, เซอรีนและอาร์จีนีนในปริมาณสูง ส่วนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาคาเพลิน (capelin) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วยกรด แอสพาร์ติก, ไลซีน, ลูซีน และอะลานีนในปริมาณสูง ส่วนทริปโตเฟนและเมตไทโอนีนมีปริมาณน้อย เนื่องจากกรดอะมิโนทั้งสองสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการวิเคราะห์ (Shahidi *et al*., 1995)

5. ปลากดเหลือง

อนุกรมวิธานของปลากดเหลืองจัดจำแนกโดย Smith (1965) ดังนี้

Class Pisces

Subclass Teleostomi

Order Nematognathi

Family Bagridae

Genus *Mystus*

Species *Mystus nemurus* (Cuv & Val)

ชื่อสามัญมีหลายชื่อคือ yellow mystus, freshwater catfish และ green catfish

5.1 ลักษณะทั่วไปของปลากดเหลือง

ปลากดเหลือง จัดเป็นปลาน้ำจืดที่ไม่มีเกล็ด ลำตัวมีลักษณะกลมยาว ส่วนหัวค่อนข้างแบน เรียวเป็นรูปกระสวย (conical) กระดูกท้ายทอยยาวจรดโคนครีบหลัง ปากกว้าง ขากรรไกรแข็งแรง ประกอบด้วยฟันซี่เล็กๆสั้น ปลายแหลมแบบ cordiform เป็นกลุ่มอยู่บนขากรรไกรล่าง ขากรรไกรบน และเพดานปาก ซี่กรอง (grill rakers) สั้นเล็กปลายแหลม จำนวน 15 ซี่ รอบปากมีหนวด 4 คู่ คือบริเวณจมูก (nasal barbells) ขากรรไกรบน (maxillary barbells) ขากรรไกรล่าง (mental barbells) อย่างละ 1 คู่ ครีบหลังประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 1 ก้าน และก้านครีบอ่อน 7 ก้าน มีครีบไขมันอยู่บนหลังตอนส่วนท้ายของลำตัวตำแหน่งตรงข้ามกับครีบก้น ครีบก้นเป็นครีบอ่อน 10-11 ก้าน ครีบหูเป็นครีบคู่แต่ละข้างมีเงี่ยงแข็งและแหลมคม 1 คู่ และก้านครีบอ่อนข้างละ 9 ก้าน ครีบท้องประกอบด้วยก้านครีบอ่อน 6-7 ก้าน ครีบหางเว้าลึกแฉกบนยาวกว่าแฉกล่างประกอบด้วยก้านครีบอ่อน 16-17 ก้าน (เฉิดฉัน อมาตยกุล และคณะ, 2538) สามารถพบปลากดเหลืองได้ในประเทศไทยจนถึงประเทศ อินโดนีเซียซึ่งพบได้ตามบริเวณแม่น้ำ ลำคลองและอ่างเก็บน้ำ (Rainboth, 1996)

5.2 พฤติกรรมการกินอาหาร

สัตว์น้ำมีอวัยวะที่ไวต่อการรับกลิ่นและรสเรียกว่า Chemoreceptor ซึ่งจะมีความสำคัญอย่างมากในการหาอาหาร มีระบบในการรับกลิ่น (Olfactory system) และระบบในการรับรสชาติ (Gustatory system) ซึ่งปลาสามารถรับกลิ่นรสได้ แม้ว่าสารนั้นจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย ส่วนอวัยวะที่ใช้ในการรับกลิ่นจะอยู่บริเวณตรงกลางของหัวใน paired nares และ olfactory pits ในขณะที่อวัยวะรับรสจะแพร่กระจายอยู่ทั่วไป ตุ่มรับรสไม่ได้อยู่ตรงกลางภายในช่องปากเหมือนกับสัตว์บกที่มีกระดูกสันหลัง แต่จะพบในปากและส่วนต่างๆรอบๆตัวปลา ตุ่มรับรสที่พบภายในได้แก่ ลิ้นและเหงือก ส่วนตุ่มรับรสภายนอกมีอยู่หลายแห่งเช่น บริเวณเหนือริมฝีปาก หนวด และพื้นผิวบริเวณหัว (Gerking, 1994)

ปลากดเหลืองจัดอยู่ในจำพวกปลากินเนื้อ อาหารสำหรับปลากดเหลืองได้แก่ แมลงต่างๆ ตัวอ่อนแมลงน้ำ กุ้ง และสัตว์น้ำในกลุ่ม crustaceans รวมทั้งปลา (Rainboth, 1996) ปลากดเหลืองสามารถย่อยโปรตีนจากสัตว์เช่น ปลาป่นได้ดีกว่าอาหารที่มีแป้งและกากสูง (Khan, 1994) อาหารสำหรับปลากินเนื้อควรเป็นอาหารเปียกและมีความชื้นสูง เพราะอาหารตามธรรมชาติของปลากินเนื้อจะมีความนุ่มและความชื้นสูง (วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2541) Khan และคณะ (1993) กล่าวว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจะลดลงเมื่อในอาหารมีระดับโปรตีนเพิ่มขึ้น และการใช้โปรตีนสุทธิจะเพิ่มขึ้นเมื่อในอาหารมีโปรตีนสูง แต่จะลดลงถ้าในอาหารมีระดับโปรตีนมากกว่า 42% และพบว่าปลากดเหลืองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนในช่วง 27-42% แต่จะลดลงเมื่อมีระดับโปรตีนสูงกว่า 47% (Khan *et al*., 1996) นอกจากนี้ปริมาณอาหารที่ให้แต่ละครั้งแก่ปลากินเนื้อซึ่งส่วนมากเป็นพวกที่มีกระเพาะแท้จะมากกว่าการให้กับปลากินพืชซึ่งไม่มีกระเพาะแท้ เนื่องจากกระเพาะแท้สามารถบรรจุ

อาหารไว้ได้มากในแต่ละครั้ง ดังนั้นในการให้อาหารแก่ปลากินเนื้อจึงให้อย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง ในขณะที่ปลากินพืชควรแบ่งออกให้ในปริมาณน้อยๆ เป็นเวลาหลายๆครั้งต่อวัน (วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2541)

5.3 การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตในสัตว์น้ำ

โปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถนำมาใช้เป็นองค์ประกอบในการผลิตเป็นอาหารสัตว์น้ำได้ (Teles *et al*., 1999) เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นในปริมาณสูง ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูงสามารถใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังมีศักยภาพช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต, กระตุ้นการกินอาหาร และในโปรตีนไฮโดรไลเสตยังมีสารที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Gildberg and Stenberg, 2001)

ดังนั้นจึงมีการเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตลงไปในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาแซลมอนเพื่อปรับปรุงการเจริญเติบโตและสร้างภูมิต้านทานโรคให้แก่ปลาด้วย และมีการนำโปรตีนไฮโดรไลเสตมาผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงลูกปลากะพง (Sea bass; *Dicentrarchus labrax*) โดยจะใช้แทนอาร์ทีเมีย (Artemia) เป็นระยะเวลา 30 วันซึ่งจากการทดลองพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตไม่สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตได้ แต่การเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตลงไปในอาหารจะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใช้ปลาป่น นอกจากนี้การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตช่วยส่งเสริมคุณภาพของลูกปลากะพงอีกด้วย (Cahu *et al*., 1999) และมีการใช้อาหารซึ่งประกอบด้วยเคซีน โปรตีนไฮโดรไลเสต ปลาหมึกป่น เดกซ์ตริน ไขมันและวิตามินรวมในการเลี้ยงลูกปลากิลท์เฮด ซีบรีม (gilthead seabream) ซึ่งจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าอาหารทดลองสามารถใช้แทนอาหารที่เป็นสิ่งมีชีวิต เช่น อาร์ทีเมียในช่วงของการอนุบาลลูกปลาได้ (Yufera *et al*., 1999) ส่วน Castro และคณะ (1998) ได้ผลิตอาหารปลาที่มีการผสมระหว่างบีเทนกับโปรตีนไฮโดรไลเสต 3% เพื่อศึกษาผลการเจริญเติบโตต่อปลา coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) (Walbaum) พบว่าการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันเทียบกับอาหารทางการค้า แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยบีเทนผสมกับโปรตีนไฮโดรไลเสตจะมีอัตราการตายน้อยกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทางการค้า

Kolkovski และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาผลของไฮโดรไลเสตจากกุ้งเคย (krill hydrolysate) เป็นตัวดึงดูดการกินอาหารในปลาน้ำจืด 3 ชนิด ประกอบด้วย yellow perch (*Perca flavescens*) walleye (*Stizostedion vitreum*) และ lake whitefish (*Coregonus clupeafornus*) โดยจะดูการเจริญเติบโตเปรียบเทียบกับอาหารทางการค้าและอาหารที่เคลือบด้วยไฮโดรไลเสตจากกุ้งเคย จากการทดลองพบว่าอาหารที่เคลือบด้วย krill hydrolysate ที่ระดับ 5% ทำให้การเจริญเติบโตของปลา yellow

perch เพิ่มขึ้นเทียบกับอาหารทางการค้า (734 ± 33 มิลลิกรัมและ 559 ± 82 มิลลิกรัม ตามลำดับ) และยังพบว่าโปรตีนปลาไฮโดรไลเสตที่ใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารสามารถช่วยส่งเสริมการกินอาหารและการเจริญเติบโตในปลาแอตแลนติกแซลมอน ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวดึงดูดการกินโดยเติมลงไป 5% และ 8% (Berge and Storebakken, 1996) ส่วนผลการทดลองของ Gildberg และคณะ (1995) จะเติมโปรตีนจากปลาคอดลงไป 10% ซึ่งทำให้ปลาแอตแลนติกแซลมอนมีการเจริญเติบโตที่ดี นอกจากนี้ยังใช้เป็นแหล่งของโปรตีนในการเลี้ยงปลาเทอโบท (turbot) (*Scophthalmus maximus*) โดยจะใช้แทนที่ปลาป่นในระดับ 5, 15 และ 25% (Teles *et al*., 1999) เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Cahu และคณะ (1999) ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตและปลาป่นในการผลิตอาหารเลี้ยงปลากะพง (*Dicentrarchus labrax*) ซึ่งจะใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตแทนที่ปลาป่นในระดับ 25, 50 และ 75% และการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตผสมในอาหารเลี้ยงปลากะพงและปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและอัตราการรอด (Cahu *et al*., 1998)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเครื่องในปลาทูน่าพันธุ์ครีบเหลือง (Yellowfin tuna : *Thunnus albacares*), หัวกุ้งกุลาดำ และผลิตสารสกัดจากปลาจากน้ำนึ่งปลาทูน่า
2. ศึกษาผลของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากแหล่งต่างๆและที่ระดับต่างๆกันต่อการกินอาหารและการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)