

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1. บทนำสั้นเรื่อง

กึ่งกลูตาตัมเป็นกึ่งที่ได้รับความนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายติดต่อกันมาหลายสิบปี โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชีย ในการเลี้ยงกึ่งกลูตาตัมให้ประสบความสำเร็จ โดยใช้ต้นทุนต่ำและได้กำไรสูงจะต้องประกอบด้วยปัจจัยหลายอย่างเช่น พันธุ์กึ่ง อาหารและการจัดการ เป็นต้น ซึ่งมีความสำคัญมากพอๆ กัน แต่ปัจจัยทางด้านอาหารจะมีผลต่อต้นทุนการเลี้ยง และส่งผลต่อกำไรต่อหน่วยมากที่สุด ซึ่งพบว่าอาหารเป็นต้นทุนในการเลี้ยงกึ่งกลูตาตัมแบบพัฒนาสูงถึง 2 ใน 3 ของต้นทุนการเลี้ยงทั้งหมด (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2534; Akiyama *et al.*, 1992) จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องให้ความสำคัญต่ออาหารกึ่ง ซึ่งอาหารจะมีประสิทธิภาพมากหรือน้อย ต้นทุนจะสูงหรือต่ำขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นหลัก และวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตอาหารกึ่งคือ ปลาป่น เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพดีที่สุด คือมีความสมดุลของกรดอะมิโนทุกชนิดที่สัตว์น้ำต้องการทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณ มีกรดไขมันที่จำเป็นในโครงสร้างที่สัตว์น้ำย่อยได้และนำไปใช้ได้ง่าย อีกทั้งยังเป็นแหล่งของวิตามินบีรวม (B complex) นอกจากนี้ปลาป่นยังมีกลิ่นดึงดูดให้กึ่งกินอาหารได้ดีขึ้น และมีสารอาหารช่วยในการเจริญเติบโต (Unidentified growth factor, UGF) ซึ่งพบได้น้อยในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ (Akiyama *et al.*, 1992)

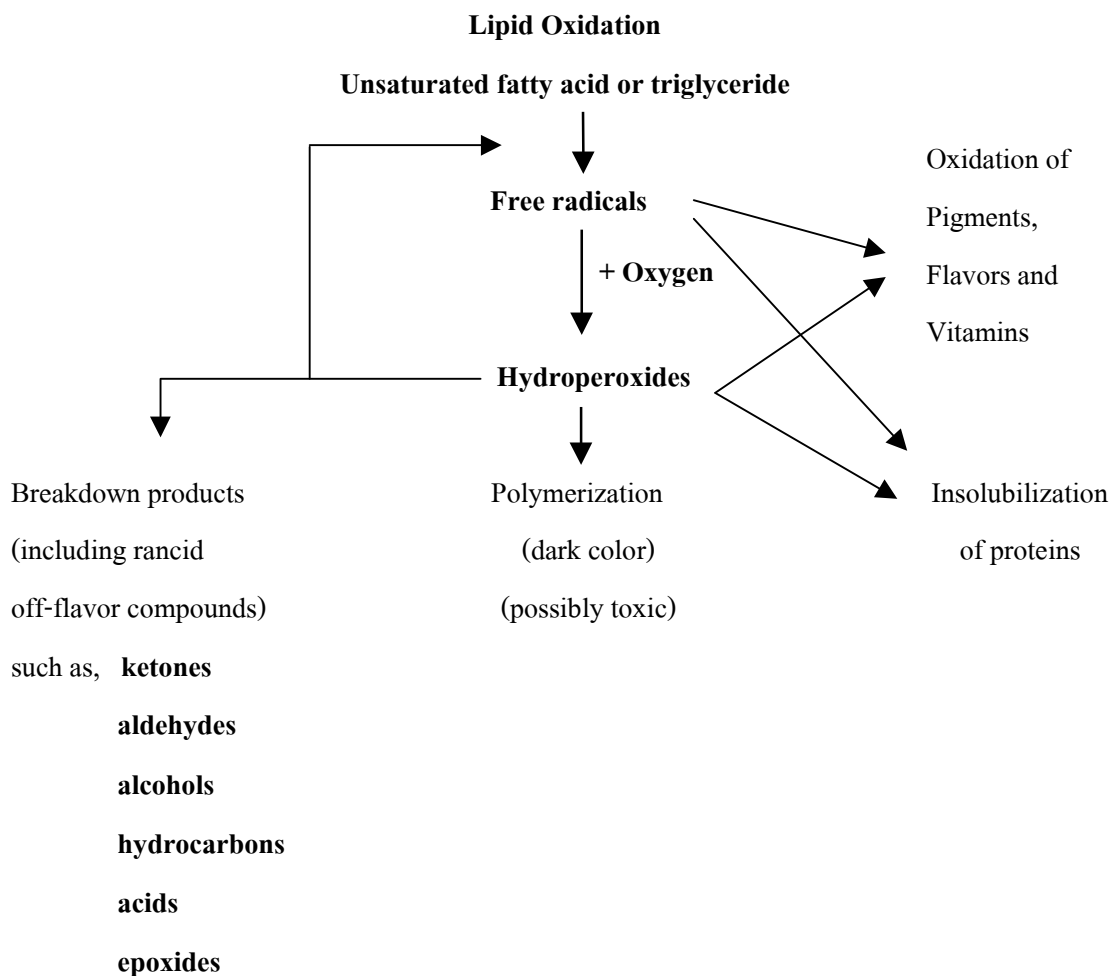
เนื่องจากปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพจึงทำให้มีราคาค่อนข้างแพง โดยเฉพาะหากมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ เพราะเป็นปลาป่นที่มีคุณภาพดีกว่าปลาป่นส่วนใหญ่ที่ผลิตภายในประเทศ ซึ่งมักจะทำจากปลาเป็ด เศษปลาที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม หรือปลาที่ไม่สามารถใช้เป็นอาหารของมนุษย์ได้ จึงมีความผันแปรของส่วนประกอบทางโภชนาการค่อนข้างสูง (อุทัย คันโธ, 2529) และยิ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาลด้วยโดยในช่วงฤดูหนาวพบว่าปลาป่นจะมีปริมาณไขมันสูงซึ่งเป็นเรื่องเพราะไขมันในปลาป่นประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงจึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ทำให้เกิดความหืน (rancidity) ในปลาป่นได้ง่ายส่งผลให้ปลาป่นมีคุณภาพต่ำลง สูญเสียกรดไขมันที่จำเป็นและเกิดสารใหม่ที่มีกลิ่นเหม็นหืน (Gunstone, 1996) เป็นเหตุให้สัตว์ไม่ยอมกินอาหาร หรือเมื่อกินเข้าไปแล้วอาจทำให้สัตว์อ่อนแอเป็นโรคได้ง่ายและตายในที่สุด ส่งผลให้ผลผลิตลดลง ไม่ประสบผลสำเร็จในการเลี้ยง วิธีการป้องกันการเกิดความหืนในปลาป่นคือการเติมสารกันหืน (antioxidant) ลงในปลา

ปน ซึ่งมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน ชนิดที่นิยมนำมาใช้กันมากคือ อีทอกซิควิน (ethoxyquin; ETHQ), บีเอชเอ (butylated hydroxyanisole; BHA) และบีเอชที (butylated hydroxytoluene; BHT) เป็นต้น ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและการใช้สารกันหืนในปลาปนและผลต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีน้อย ดังนั้นการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในปลาปนเกรดกุ้งที่มีการเก็บรักษาในสภาพที่ต่างกันและผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อตับอ่อนของกุ้งกุลาดำจึงนับว่ามีความสำคัญและเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการประเมินคุณภาพและการพัฒนาอาหารสำหรับกุ้งชนิดต่างๆ ในอนาคตต่อไป

## 2. ตรวจสอบเอกสาร

### 2.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

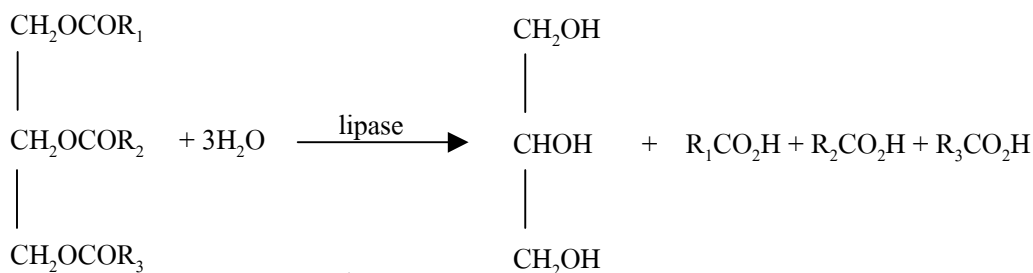
ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนสามารถเกิดขึ้นโดยมีแสงและอนุมูลอิสระเป็นตัวเร่ง โดยจะเกิดในกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid; PUFA) ได้ง่ายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร เช่น กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ต่อผู้บริโภค (Gray, 1978) การเปลี่ยนแปลงสี รสชาติ การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเนื้อสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการ เช่น ไขมัน โปรตีน และวิตามิน เป็นต้น (Pike *et al.*, 1990; Bautista *et al.*, 1992; Ranken, 1994) และอาจเกิดสารประกอบที่เป็นพิษ (Kinsella, 1987; Sanders, 1987) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

ที่มา: Nakayama และคณะ (1994); Jadhav และคณะ (1996)

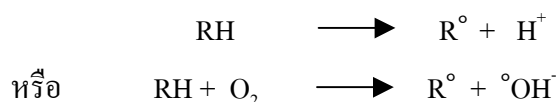
การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายทั้งชนิดที่ต้องใช้เอนไซม์ (lipoxygenase) หรือชนิดที่ไม่ต้องใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยา ซึ่งขั้นตอนโดยสรุปของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเริ่มตั้งแต่การย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ หรือฟอสโฟลิปิดโดยเอนไซม์ไลเปส (lipase) และฟอสโฟไลเปส (phospholipase) ปลดปล่อยกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ออกมาในระบบ ดังแสดงในภาพที่ 2 โดยการย่อยไขมันทั้ง 2 ประเภทสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้



ภาพที่ 2 การย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์โดยเอนไซม์ไลเปส

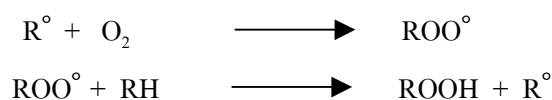
หลังจากนั้นกรดไขมันอิสระชนิดไม่อิ่มตัวจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป ซึ่งมีขั้นตอนโดยสรุปสามารถจำแนกได้เป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ (Hamilton, 1994)

1. ระยะเวลาเริ่มต้น (initiation reaction) เป็นระยะที่ไฮโดรเจนอะตอมที่จับกับคาร์บอนอะตอมที่ประชิดอยู่กับคาร์บอนที่มีพันธะคู่ในกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลุดออกไป เนื่องจากการเหนี่ยวนำจากความร้อน แสงสว่าง โลหะทรานซิชัน เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (free radicals) ขึ้นในระบบ ดังสมการ



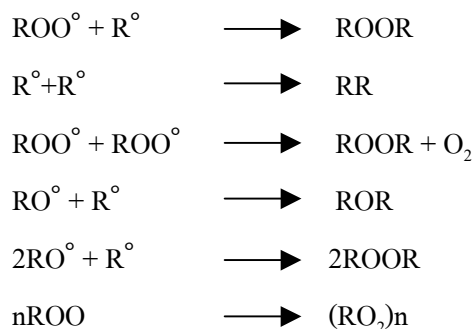
พบว่าในระยะนี้อาหารมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นการป้องกันไม่ให้อาหารเกิดกลิ่นหืนสามารถป้องกันได้โดยการยืดช่วงระยะนี้ให้ยาวนานที่สุด (Wallace, 1968)

2. ระยะเวลาขยายตัวของปฏิกิริยา (propagation reaction) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซีหรือสารเปอร์ออกไซด์ (peroxide) จากนั้นเปอร์ออกไซด์รวมตัวกับไฮโดรเจนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ตัวต่อไป เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และอนุมูลอิสระขึ้นอีกครั้ง ดังสมการ



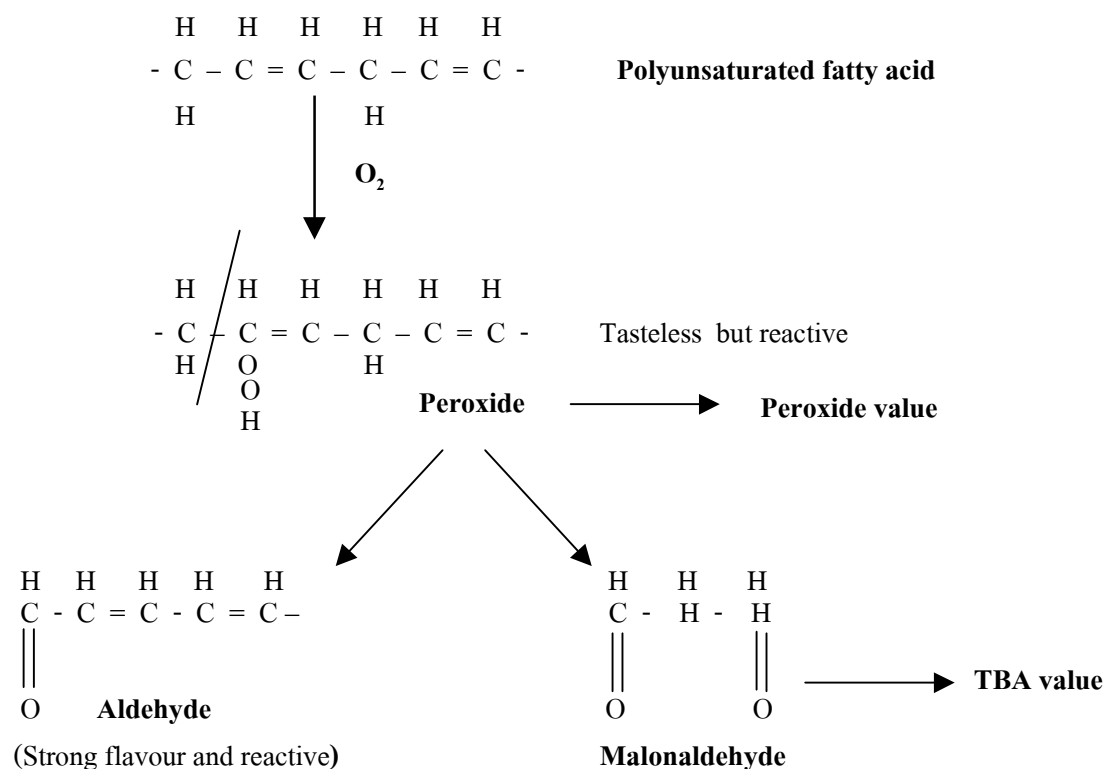
ปฏิกิริยาเกิดขึ้นต่อเนื่องแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ และมีอนุมูลอิสระสะสมมากขึ้นในระบบทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาถูกเร่งเร็วขึ้นเรื่อย ๆ

3. ระยะเวลาสิ้นสุด (termination reaction) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระต่าง ๆ รวมตัวกันเป็นสารประกอบใหม่ที่คงตัว (non radical products) จึงเป็นระยะสิ้นสุดของปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน ดังสมการ



เมื่อ RH คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว  
 $\text{R}^\circ$  คือ อนุมูลอิสระที่เกิดจากการกำจัดไฮโดรเจนอะตอมจากคาร์บอนอะตอมที่อยู่ประชิดกับพันธะคู่  
 $\text{ROO}^\circ$  คือ อนุมูลเปอร์ออกไซด์  
 $\text{ROOH}$  คือ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์

เมื่อถึงระยะสิ้นสุดแล้วจะมีสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์ สะสมอยู่ในระบบจำนวนมาก โดยปกติสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะไม่เสถียร สามารถสลายตัวเกิดเป็นสารที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง เช่น คีโตน (ketone) อัลดีไฮด์ (aldehyde) เฮกซานาล (hexanal) เพนทานาล (pentanal) และแอลกอฮอล์ (alcohol) ซึ่งสามารถระเหยและก่อให้เกิดกลิ่นหืนดังภาพที่ 3



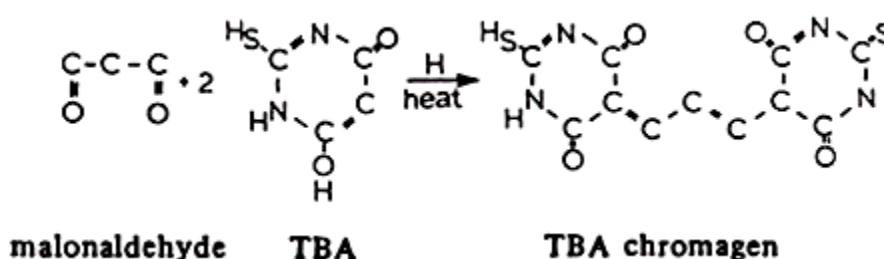
ภาพที่ 3 กระบวนการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว

ที่มา: Ackman และ Ratnayake (1992) อ้างโดย สุทธวัฒน์ เบญจกุล (2548)

จากกลไกการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมัน ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีกลิ่นและรส แต่เมื่อแตกตัวต่อไปจะให้สารประกอบคาร์บอนิล กรด และสารประกอบอื่นๆ ผลผลิตส่วนมากที่ได้ในขั้นนี้จะเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จากการศึกษาดังกล่าวพบว่ามีกลิ่นหืนนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นสารของอัลดีไฮด์ สารประกอบคาร์บอนิลกรดต่างๆ ได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดไอโซวาเลอริก เป็นต้น (Lundberg, 1966)

การวัดค่าความหืนหรือความคงตัวของไขมันสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้กันมากคือ การวัดค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value; PV) ของไขมันในอาหารนั้นๆ โดยเป็นการวัดปริมาณของไอโอดีนที่ปล่อยออกมาจากโพแตสเซียมไอโอไดด์ แล้วจับกับเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในไขมัน การวิเคราะห์อาจมีความผิดพลาดเกิดขึ้นได้ 2 กรณีคือ การดูดซึมของไอโอดีนกับพันธะของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และการปลดปล่อยไอโอดีนจากโพแตสเซียมไอโอไดด์เนื่องจากจับกับออกซิเจนในสารละลาย (Allen and Hamilton, 1994) นอกจากนี้มีการตรวจวัดค่า TBARS

(thiobarbituric acid reactive substance) และค่าอะนิซีน (anisidine value; AnV) เป็นดัชนีบ่งบอกถึงปริมาณผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Suda *et al.*, 1994; Shahidi and Wanasundara, 1998; Hamilton and Kristein, 2003) โดยค่า TBARS ได้จากการทำปฏิกิริยากับมาลอนัลดีไฮด์ (malonaldehyde) เท่านั้น และเมื่อถูกกระตุ้นด้วยความร้อนจะได้สีแดงของโครมาเจน (chromagen) ดังแสดงในภาพที่ 4 โดยนำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometre) ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร



ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาระหว่าง TBA กับ มาลอนัลดีไฮด์ได้สารสีแดงของ TBA chromagen

## 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

2.2.1 กรดไขมันไม่อิ่มตัว จำนวนพันธะคู่หรือปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่เป็นองค์ประกอบในไขมันจะมีบทบาทต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน อัตราการเกิดออกโตออกซิเดชันจะเร็วขึ้นเมื่อมีระดับความไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้น เช่น กรดไขมัน linoleic สามารถเกิดได้เร็วกว่ากรดไขมัน oleic ถึง 64 เท่า ในขณะที่กรดไขมัน linolenic สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เร็วกว่ากรดไขมัน oleic ถึง 100 เท่า (Allen and Hamilton, 1994) ทั้งนี้เนื่องจากการสลายตัวให้เกิดสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 คู่ ขึ้นไปนั้นต้องการพลังงานในการกระตุ้นต่ำ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วขึ้น (Wallace, 1968; Min, 1998)

2.2.2 อุณหภูมิ อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการเกิดออกโตออกซิเดชัน อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มอัตราการออกซิเดชันเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะเร่งขั้นตอนการเพิ่มจำนวนและการสลายตัวของเปอร์ออกไซด์ (Fujita *et al.*, 1994) อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดมากขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น 10 องศาเซลเซียส (Allen and Hamilton, 1994) แต่อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำมีผลต่อปริมาณการละลายของก๊าซเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้มีผลให้เมมเบรนมีคุณสมบัติยอมให้สารซึมผ่านได้มาก

ขึ้น ส่งผลให้เกิดการผสมกันขององค์ประกอบต่างๆ ในปฏิกิริยาได้สูงและรวดเร็วยิ่งขึ้น (สุทธรวัฒน์ เบนญกุล, 2548)

2.2.3 พื้นที่ผิวในการสัมผัสกับออกซิเจน คือหากมีการสัมผัสกับออกซิเจนมากจะทำให้เกิดการออกซิเดชันได้มาก (Beger, 1994) เนื่องจากออกซิเจนจะรวมตัวกับอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารเปอร์ออกไซด์อิสระขึ้นในระยะขยายตัว นอกจากนั้นซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion;  $O_2^-$ ) จะเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide;  $H_2O_2$ ) โดยการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมิวเตส (superoxide dismutase) ทั้งซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นแหล่งของอนุมูลไฮดรอกซีอิสระ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลสารอินทรีย์ต่อไปได้ ขณะที่ Rawls และ Van Santen (1970) กล่าวว่า singlet oxygen สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดออกซิเดชันของกรดไขมันลิโนเลอิกได้มากกว่า triplet oxygen ถึง 1,450 เท่า

2.2.4 แสง มีผลในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูง ซึ่งพบว่าอัตราการออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นถึง 10,000 เท่า เมื่อวัตถุดิบสัมผัสกับแสงอาทิตย์โดยตรง (Lee, 1968) Hansen และ Skibsted (2000) รายงานว่าแสงอุลตราไวโอเล็ตสามารถเหนี่ยวนำการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้มากและอันตรายกว่าแสงที่สามารถมองเห็นได้

2.2.5 ความชื้น ปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นจะทำให้มีการดูดซับออกซิเจนได้มากขึ้น ดังนั้นหากมีความชื้นสูงจะเกิดการดูดซับออกซิเจนได้มาก นอกจากนี้ยังมีผลต่อการละลายได้ของโลหะทรานซิชันได้มากขึ้นด้วย

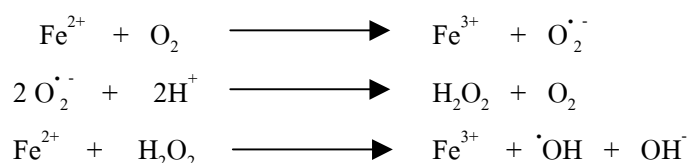
2.2.6 ระยะเวลา เมื่อเวลาผ่านไปปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นมากตามไปด้วย

2.2.7 รังสี (radiation) พบว่ารังสีเป็นตัวเร่งให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันได้เร็วขึ้น (Erickson, 1998; Bandoniene *et al.*, 2001) โดยเฉพาะในปลาประเภท fatty fish และ semi fatty fish (Snauwaert *et al.*, 1977)

2.2.8 โลหะหนักหรือโลหะทรานซิชัน เช่น ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) และเหล็ก (Fe) เป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแม้จะมีเพียง 0.1 ส่วนในล้านส่วน (Wallace, 1968) โดยเหล็กและทองแดงจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนโดยตรง (Bragadottir *et al.*, 2000) ในขณะที่สังกะสีเป็นตัวช่วยให้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์แตกตัวออกเป็นอนุมูลอิสระได้เป็นไฮดรอกซิลเลดดิคัล (hydroxyl radical) ซึ่งในกล้ามเนื้อปลาหรืออาหารทะเลโดยทั่วไปจะมีธาตุเหล็กเป็นส่วนประกอบโดยอยู่ในฮีม (haem) หรือเหล็กที่จับกับไมโกลบิน (myoglobin) (Cockerell *et al.*, 1972) ซึ่งในปลาที่มีกล้ามเนื้อดำจะมีฮีมเป็นตัวหลักในการเร่งให้เกิดออกซิเดชันของไขมัน



และโปรตีน (Erickson, 1998) สารรีดิวซ์ในเนื้อเยื่อ เช่น แอสคอร์เบต สามารถเปลี่ยนเฟอร์ริก ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ซึ่งไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยาไปเป็นเฟอร์รัส ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ซึ่งว่องไวต่อปฏิกิริยาและโลหะทรานซิชันที่อยู่ในลักษณะอนุมูลอิสระนั้น unpaired electron สามารถทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับโมเลกุลของออกซิเจน ดังนั้นเฟอร์รัสสามารถกระตุ้นออกซิเจนและให้ซูเปอร์ออกไซด์ ทำปฏิกิริยาต่อเนื่องเกิดเป็นอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl free radical) ในที่สุด ดังสมการ



สารประกอบทั้งเฟอร์ริกและเฟอร์รัสในซีมี มีผลต่อการเร่งของปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยซีมีที่มีเฟอร์รัสไอออนเป็นองค์ประกอบจะมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เร็วกว่า 10 เท่า ของเฟอร์ริกไอออน (Miller, 1996) และ Ohshima และคณะ (1988) รายงานว่าเฟอร์รัสไอออนเป็นตัวเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันในปลาแมคเคอเรล (mackerel) ได้ดี และเฟอร์ริกไอออนจะถูกรีดิวส์ไปเป็นเฟอร์รัสไอออนโดยซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) วิตามินซี (ascorbic acid) และสารประกอบที่มีไทออล (thiol group) ประกอบอยู่ (Dunford, 1987) ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการออกซิเดชันได้มากขึ้น สอดคล้องกับ Green และ Price (1975) รายงานว่าสารประกอบที่มีเฟอร์รัสไอออนและเฟอร์ริกไอออนเป็นองค์ประกอบเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีขึ้น Liu และ Watt (1970) พบว่าสารประกอบอินทรีย์ที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบจะทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidant) ในเนื้อสัตว์ อย่างไรก็ตามกรดไฟติก (phytic acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของอาหารที่เป็นกาบไซสามารถจับเหล็ก (chelation) และทำให้เหล็กลดความสามารถในการก่ออนุมูลอิสระได้ (Tarp *et al.*, 1992)

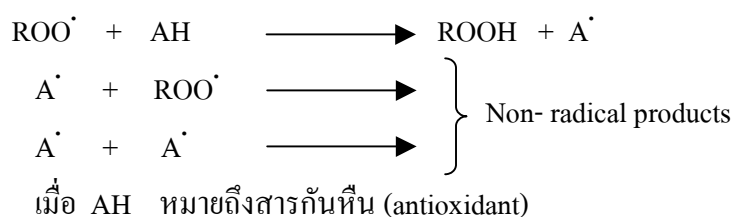
2.2.9 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและการกระทำของจุลินทรีย์ (microbial action) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสทำให้เกิดการหืนแบบไฮโดรไลติก เป็นลักษณะการหืนที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์นมและน้ำมันมะพร้าว เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปส ที่มีบทบาทต่อการย่อยพันธะเอสเทอร์แล้วให้กรดไขมันที่มีพันธะสั้น เช่น บิวทริก คาโปรอิก ทำให้ไขมันและน้ำมันมีกลิ่นและรสผิดปกติไป ซึ่งหากเกิดในน้ำมันที่มีกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะมีความรุนแรงกว่าในกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า (Mitchell and Henick, 1966) นอกจากนี้เชื้อราบางชนิดก่อให้เกิดกลิ่นหืนที่เรียกว่า ketonic rancidity

## 2.3 สารกันหืน

### 2.3.1 กลไกการยับยั้งการหืน

การหืน (rancidity) หมายถึง การที่กลิ่นและรสเปลี่ยนแปลงหรือเสียไป โดยเฉพาะเกิดขึ้นกับส่วนที่เป็นไขมันของอาหารรวมถึงการเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงประสงค์อันเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ ปฏิกิริยาของจุลินทรีย์และออกซิเดชันในบรรยากาศ (Lundberg, 1966) การใช้สารกันหืนเป็นสารป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการรวม ตัวกับออกซิเจน ส่งผลให้ไขมันมีความคงตัวหยุดการเกิดอนุมูลอิสระในระบบ ซึ่งมีกลไกในการยับยั้งการหืนมี 2 กลไกคือ

2.3.1.1 สารกันหืนจะไปขัดขวางปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ โดยจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอนุมูลอิสระเกิดเป็นสารคงตัว ดังนี้



2.3.1.2 สารกันหืนจะไปกำจัดหรือทำให้โปรออกซิแดนซ์หมดฤทธิ์ ซึ่งสารโปรออกซิแดนซ์จะเป็นตัวเร่งทำให้เปอร์ออกไซด์แตกตัวเข้าสู่ระบบออกซิเดชันต่อไป

การเติมสารกันหืนในวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไขมันควรเติมให้เร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้เพราะเมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเริ่มต้นจะเกิดเป็นปฏิกิริยาต่อเนื่อง เช่น การทำให้ปลาป่นมีความคงตัวอาจจะมีการเติมสารกันหืนทันทีที่ผลิต โดยอาจเติมก่อนหรือหลังขั้นตอนการทำให้แห้งก็ได้ (Nygaard, 1981) และบางครั้งอาจจะเติมตอนที่เก็บรักษาวัตถุดิบในเรืออย่างรวดเร็วเหมือนกับการให้ความเย็นแก่วัตถุดิบเพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด (FAO, 1975) การเติมสารกันหืนจะมีผลชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ไม่สามารถลบล้างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแล้วและไม่สามารถหยุดการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังนั้นประสิทธิภาพการทำงานของสารกันหืนจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างดังนี้ (สุกัญญา จัตตพรพวงศ์, 2536)

1) องค์ประกอบของไขมัน เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว หากมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณมากประสิทธิภาพในการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันก็จะต่ำลง นอก

จากนี้กรดไขมันสายสั้นเช่น บิวทิเรท (butyrate) สามารถป้องกันการทำลายของอนุมูลอิสระได้ (รัตนบรรเจิดพงศ์ชัย, 2545)

2) สภาพการเก็บรักษา เช่น ความร้อน แสง ปริมาณออกซิเจนที่เกินพอ ปัจจัยเหล่านี้มีผลโดยตรงต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารกันหืนจะลดต่ำลงเมื่อมีปัจจัยเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น

3) ความเข้มข้นของสารเร่งหรือสนับสนุนการเกิดปฏิกิริยาเช่น โลหะหนัก หากวัตถุดิบมีส่วนประกอบของโลหะมาก จะส่งผลให้การทำงานของสารกันหืนทำได้น้อยลง

4) ชนิดและโครงสร้างทางเคมีของสารป้องกันการหืน หรือส่วนผสมของสารกันหืน สารกันหืนมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในวัตถุดิบชนิดต่างๆ แตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้สารกันหืนให้เหมาะสมกับวัตถุดิบสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้มากขึ้น

5) ปริมาณหรือระดับความเข้มข้นของสารกันหืนในไขมันหรือในอาหาร ปริมาณสารกันหืนที่เติมในอาหารหรือวัตถุดิบแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของไขมัน องค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหรือกรรมวิธีในการผลิตต่างๆ ดังนั้นควรมีการพิจารณาปริมาณการเติมสารกันหืนให้ถูกต้องเหมาะสมกับวัตถุดิบและอาหารเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

### 2.3.2 ชนิดของสารกันหืน

สารกันหืนที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีหลายชนิด ได้แก่ พีจี (propyl gallate; PG) อีทอกซิควิน บีเอชที และบีเอชเอ เป็นต้น โดยมีผลลดปริมาณอนุมูลอิสระ (free radicals) ให้ต่ำลง ทำให้เกิดความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Harris and Tall, 1994; Ladikos and Lougovois, 1990) สารกันหืนหลายชนิดมีบทบาทสำคัญต่อการลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลา ผลิตภัณฑ์ประมง รวมทั้งอาหารสัตว์น้ำ เช่น น้ำมันปลา ปลาป่น ไขมันของหนังปลาแมคเคอเรล (Nash and Ackman, 1977) เนื้อปลาฉลามและปลาแมคเคอเรล (Younathan *et al.*, 1983) โดย Mai และ Kinsella (1981) พบว่าบีเอชเอสามารถยืดเวลาการเก็บของเนื้อปลาคาร์พทอดได้ ส่วนการเติมบีเอชทีที่ระดับ 0.02% ในปลาเค็มตากแห้งที่มีไขมัน 7% สามารถลดค่า TBARS ได้ประมาณ 50% (Poulter and Disney, 1978) การเพิ่มประสิทธิภาพของสารกันหืนสามารถกระทำได้โดยการใช้สารกันหืนหลายชนิดร่วมกัน เช่น การใช้กรดซิตริก (citric acid) และกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ซึ่งจะทำหน้าที่จับกับประจุของโลหะหนัก ข้อดีของสารกันหืนผสมคือสามารถ

เลือกสารละลายที่เหมาะสมได้ เช่น 1,2-โพรพานไดคอล ซึ่งทำให้เกิดการรวมตัวของสารที่ไม่ละลายในไขมัน เช่น กรดซิทริก เข้าไปในไขมันได้ (สุกัญญา จัตตพรพงศ์, 2536)

สารกันหืนในธรรมชาติที่สำคัญ ได้แก่ วิตามินอี ซึ่งจะคงทนในรูปของ DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate ถือว่าเป็นสารกันหืนที่สำคัญมากที่สุด และถ้าใช้ร่วมกับธาตุซิลิเนียมจะได้ผลดียิ่งขึ้น (Hu *et al.*, 1989) นอกจากนั้นยังมีกลูตาไธโอน (glutathione) เอนไซม์คาตาเลส (catalase) เป็นต้น จากการทดลองในสัตว์พบว่าสารป้องกันการหืนอื่นๆ เช่น บีเอชที บีเอชเอ และอีทอกซิควิน ซึ่งเป็นสารกันหืนสังเคราะห์ไม่สามารถทำหน้าที่แทนวิตามินอีได้ เนื่องจากมีการขับออกจากระบบการสร้างและการทำลายของร่างกายอย่างรวดเร็ว ดังนั้นหากมีการใช้สารกันหืนในอาหารสัตว์ในปริมาณที่ไม่เพียงพอทำให้สัตว์ขาดวิตามินอีและวิตามินซีได้ เนื่องจากวิตามินอีและวิตามินซีจะทำหน้าที่เป็นสารกันหืนร่วมด้วย (สุกัญญา จัตตพรพงศ์, 2536) ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของความหืนหรือช่วงระยะเวลาในการเก็บรักษาอาหารขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของไขมันและชนิดของกรดไขมัน วิตามินที่ละลายในไขมันและวิตามินซี (Kulikov, 1978)

Chipault (1966) สรุปสมบัติของสารกันหืนที่ดี ไว้ดังนี้

- 1) มีฤทธิ์สูงที่ความเข้มข้นต่ำ (0.01 – 0.001%)
- 2) สารประกอบหรือผลิตภัณฑ์ได้หลังปฏิกิริยาจะต้องไม่เป็นพิษ แม้ว่าจะมีปริมาณมากกว่าปกติที่มีอยู่ในอาหารก็ตาม
- 3) ไม่ทำให้อาหารหรือผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสและสีของอาหารผิดไปแม้ว่าจะเก็บไว้นานหรือผ่านความร้อน หรือมีการเปลี่ยนแปลงของ pH ก็ตาม
- 4) สามารถละลายในไขมันและรวมตัวกับอาหารได้ดี
- 5) สะดวกต่อการนำไปใช้ในอาหาร ไขมัน หรือน้ำมัน
- 6) ปฏิกิริยาของวัตถุดิบหืนจะไม่จำกัดเฉพาะกับไขมันสามารถครอบคลุมถึงอาหารที่ไขมันนั้นเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย
- 7) หาได้ง่าย ราคาถูก สามารถใช้ได้ทันที
- 8) สามารถตรวจสอบและวัดค่าได้ง่าย

## 2.4 ปลาป่น

ปลาป่นเป็นวัตถุดิบของอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูงเพราะมีชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่สัตว์น้ำต้องการอย่างครบถ้วนและเพียงพอ แต่เนื่องจากคุณภาพของปลาป่นมีความผันแปรมากขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นปลาป่น และ

กรรมวิธีในการผลิตเป็นปัจจัยหลัก (FAO, 1975) ดังนั้นจึงได้มีการแบ่งชั้นคุณภาพของปลาป่นเป็นชั้นที่ 1, 2 และ 3 (ตารางที่ 1) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ฉบับที่ 8 พ.ศ. 2538 (กรมปศุสัตว์, 2540) นอกจากนี้ยังมีชั้นคุณภาพพรีเมียม (premium) ซึ่งเป็นปลาป่นที่มีโปรตีนสูงกว่า 65% ขึ้นไป และเนื่องจากมีราคาค่อนข้างแพงจึงนิยมใช้เฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารกึ่งเท่านั้น

ตารางที่ 1 การแบ่งชั้นคุณภาพปลาป่นในประเทศไทย

| องค์ประกอบทางเคมี |                 | คุณภาพ               |        |        |        |
|-------------------|-----------------|----------------------|--------|--------|--------|
|                   |                 | Premium <sup>1</sup> | ชั้น 1 | ชั้น 2 | ชั้น 3 |
| โปรตีน            | ไม่น้อยกว่า (%) | 65                   | 60     | 55     | 50     |
| ความชื้น          | ไม่มากกว่า (%)  | 10                   | 10     | 10     | 10     |
| ไขมัน             | ไม่มากกว่า (%)  | 8                    | 8      | 10     | 10     |
| กาก               | ไม่มากกว่า (%)  | 2                    | 2      | 2      | 2      |
| เถ้า              | ไม่มากกว่า (%)  | 15                   | 26     | 28     | 30     |
| เกลือ             | ไม่มากกว่า (%)  | 3                    | 3      | 3      | 3      |

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2540),

<sup>1</sup>สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย (2544)

การกำหนดคุณภาพของปลาป่นตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ดังกล่าว สอดคล้องกับมาตรฐานสินค้าปลาป่นส่งออกกระทรวงพาณิชย์ ลงวันที่ 20 ธันวาคม 2538 โดยกำหนดอัตราส่วนของโปรตีน ความชื้น และเถ้า ในอัตราส่วนเดียวกันและกำหนดว่าปลาป่นทุกระดับชั้นต้องผ่านการบดละเอียด สามารถผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8 มิลลิเมตรได้หมด มีกลิ่นปกติและปราศจากกลิ่นที่แสดงว่าเน่าเสีย หรือขึ้นรา หรือเหม็นไหม้ ไม่มีแมลงที่มีชีวิตอยู่ ไม่มีวัตถุติดเจือปน เว้นแต่วัตถุติดที่ติดมากับปลาหรือส่วนของปลาตามสภาพปกติของการจับปลา นอกจากนี้กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2537 ยังกำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ ซึ่งกำหนดให้อาหารสัตว์ต้องไม่มีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella* sp.) เช่นเดียวกับมาตรฐานปลาป่นของประเทศอังกฤษ (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1999) จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน (2539) ได้จัดคุณภาพปลาป่นขึ้นอีก 1 ชั้น คือ ปลาป่นคุณภาพต่ำซึ่งเป็นปลาป่นที่มีระดับโปรตีนต่ำกว่า 50%

วัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นปลาป่นจะส่งผลต่อคุณภาพของปลาป่นอย่างมาก ซึ่งสามารถจัดเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. วัตถุดิบที่เป็นปลาผิวน้ำ ส่วนใหญ่จะอยู่ในสกุล scombroids ได้แก่ ปลาแมคเคอเรล นอกจากนี้เป็นปลาในสกุลอื่นๆ เช่น ปลาแฮร์ริง (herring) ปลาซาร์ดีน (sardine) ปลาเมนฮาเดน (menhaden) และปลาแอนโชวี (anchovy) เป็นต้น ซึ่งปลาเหล่านี้จะเป็นปลาที่จับเพื่อนำมาผลิตปลาป่น โดยเฉพาะมีมากในประเทศเปรู ชิลี นอร์เวย์ และเดนมาร์ก ปลาป่นที่ผลิตจากปลากลุ่มนี้จะมีคุณภาพสูงคือ มีความสด สะอาด และมีระดับโปรตีนเฉลี่ยมากกว่า 60% (จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน, 2539)

2. วัตถุดิบที่เป็นปลาหน้าดิน เป็นปลาที่เป็นผลพลอยได้จากการจับสัตว์น้ำชนิดอื่น หรือเรียกว่า ปลาเป็ด (trash fish) เครื่องมือที่ใช้จับเป็นประเภทเรืออวนลาก จึงมักจะติดเศษขยะ ใบไม้ เปลือกหอย กุ้ง ปู และก้อนหินปนมาด้วย จึงทำให้ปลาป่นที่ผลิตจากวัตถุดิบชนิดนี้มีคุณภาพต่ำ โดยทั่วไปจะมีระดับโปรตีนอยู่ในช่วง 50 – 58% (สุรัตน์ นราประเสริฐกุล, 2532)

3. วัตถุดิบที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ประมง เช่น โรงงานปลากระป๋อง โรงงานผลิตซูริมิ เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นส่วนหัวและเครื่องในปลา เมื่อนำมาผลิตปลาป่น จะได้ปลาป่นที่มีความสดและสะอาด แต่มีปริมาณเถ้าและไขมันสูง (จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และมะลิ บุญยรัตผลิน, 2539)

## 2.5 ไขมันปลาและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

โดยทั่วไปไขมันในปลาประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง และพบว่ามีกรดไขมันชนิด EPA (eicosapentaenoic acid) และ DHA (docosahexaenoic acid) ประมาณ 90% ของ PUFA ทั้งหมด ซึ่งมีบทบาทในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย นอกจากนี้ไขมันปลายังประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวชนิดอื่นๆ กรดไขมันที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดออกซิเดชันดังนี้

|           |                                  |
|-----------|----------------------------------|
| 16 : 4n-3 | (Hexadecatetraenoic acid)        |
| 16 : 4n-1 | (Hexadecatetraenoic acid)        |
| 18 : 4n-1 | (Octadecatetraenoic acid)        |
| 20 : 4n-6 | (Eicosatetraenoic acid)          |
| 20 : 4n-3 | (Eicosatetraenoic acid)          |
| 22 : 5n-6 | (Docosapentenoic acid ; n-6 DPA) |
| 22 : 5n-3 | (Docosapentenoic acid ; n-6 DPA) |

ซึ่งในปลาชนิดต่างกันจะมีปริมาณของกรดไขมันแต่ละชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกัน โดยกรดไขมันเป็นสับสเตรตที่สำคัญต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทั่วไปไขมันแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ 1) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride หรือ triacylglycerols) พบในรูปของน้ำมันที่สะสมในร่างกายทั้งภายในและภายนอกเซลล์กล้ามเนื้อ ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีลักษณะเป็นสายตรงเรียบยาว จำนวนคาร์บอนประมาณ 16 – 18 อะตอม และ 2) ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) พบในลักษณะ bilayer ในเมมเบรน ของเซลล์กล้ามเนื้อ ซึ่งเปลี่ยนแปลงได้ง่ายขึ้นอยู่กับอาหารที่ได้รับและมีสัดส่วนของกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 20 – 22 อะตอมอยู่สูง โดยเฉพาะในปลาทะเลจะเกิดได้ง่ายกว่า เนื่องจากไขมันของปลาทะเลมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงโดยเฉลี่ยมากกว่าในปลาน้ำจืด แต่จะแตกต่างกันในปลาแต่ละชนิด โดยแบ่งตามปริมาณไขมันในตัวปลาออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1) ปลาที่มีไขมันน้อย (lean fish) เช่น ปลาคอด (cod) และปลาแฮดดอก (haddock) จัดเป็นปลาที่มีไขมันประมาณ 0.5–1.5% ของน้ำหนักตัว ซึ่งพบว่า 65% ของไขมันทั้งหมดเป็นไขมันที่แทรกอยู่ในเซลล์ (intracellular globules) เช่น ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) หรือไขมันที่เชื่อมติดอยู่กับโปรตีน (lipoprotein) มีเพียง 35% เท่านั้นที่เป็นไขมันนิวทรัลลิพิด (neutral lipid) และไขมันส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ในตับและในช่องท้อง (Castell, 1971)

2) ปลาที่มีไขมันสูง (fatty fish) มีไขมันประกอบอยู่ 5–25% ของน้ำหนักตัว เช่น ปลาแฮร์ริง (herring) ปลาแมคเคอเรล (mackerel) ปลาพิลชาร์ด (pilchard) เป็นต้น จะเป็นไขมันที่อยู่นอกเซลล์ (extracellular globules) แทรกอยู่ในระหว่างกล้ามเนื้อมากถึง 15% ของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังพบที่ได้ผิวหนังและในระหว่างเยื่อช่องท้อง (mesentery) และเป็นไขมันในรูปไตรอะซิลกลีเซอไรด์ (Castell, 1971)

3) ปลาที่มีไขมันปานกลาง (semi-fatty fish) มีไขมันประมาณ 2-5% ของน้ำหนักตัว เช่น ปลาลิ้นหมา (sole) ปลาไวท์ฟิช (white fish) และปลาซีกเดียว (flounder) เป็นต้น มีไขมันสะสมอยู่ทั้งในกล้ามเนื้อและในตับ และมีสัดส่วนของนิวทรัลลิพิดเป็นส่วนใหญ่

ฤดูกาลมีผลต่อการสะสมไขมันในตัวปลา เช่น ในเดือนมิถุนายน ปลาคอดจะมีไขมันสะสมอยู่สูงถึง 1% ของน้ำหนักตัว ในขณะที่ปลาแฮร์ริงมีไขมันสะสมสูงถึง 20–25% ของน้ำหนักตัวในช่วงเวลาเดียวกัน ส่วนปลาซีกเดียว (halibut) และปลาอื่นๆ มีไขมัน 0.75% ของน้ำหนักตัวในเดือนมิถุนายนและเพิ่มเป็น 1.05% ของน้ำหนักตัวในเดือนธันวาคม (Hansen, 1968 อ้างโดย Labuza, 1971) ส่วน Bragadottir และคณะ (2004) พบว่าปลาป่นที่ผลิตจากปลาแคปลินจะมีปริมาณไขมันมากที่สุดในช่วงฤดูร้อน (summer) แต่มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสูงที่สุดในฤดูใบไม้ร่วง (autumn) และ Barlow และ Pike (1977) รายงานว่าปลาป่นแคปลิน (capelin) มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมากกว่าปลาป่นจากปลาแฮร์ริง และปลาแมคเคอเรล ขณะที่

Bragadottir (2003) พบว่าปลาป่นที่ผลิตจากปลาแฮร์ริง มีความเสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าปลาป่นที่ผลิตจากปลาแคปลิน (capelin) แต่จะน้อยกว่าในปลาป่นที่ผลิตจากปลาแอนโชวีและปลาซาร์ดีน นอกจากนี้วัยของปลาจะมีผลต่อปริมาณไขมันสะสมในตัวและส่งผลต่อความไวในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันคือ การสะสมของไขมันในตัวปลาจะต่ำกว่าปลาจะถึงวัยเจริญพันธุ์ ระหว่างที่วัยวะสืบพันธุ์เจริญเติบโตเต็มที่ไขมันจากตับและกล้ามเนื้อจะถูกส่งไปสะสมที่วัยวะสืบพันธุ์ ในช่วงระหว่างการสืบพันธุ์วางไข่ปลาจะมีปริมาณไขมันและความไวในการเกิดออกซิเดชันต่ำสุด หลังจากนั้นปลาจะกินอาหารมากขึ้นส่งผลให้มีการสะสมของไขมันในตับและกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นแต่ในวัยวะสืบพันธุ์จะลดลง (Bragadottir *et al.*, 2002)

ชนิดของกล้ามเนื้อปลามีการสะสมของไขมันไม่เท่ากัน และมีผลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชัน เช่น กล้ามเนื้อบริเวณท้อง (belly flap tissue) มักมีการสะสมของไขมันมากจึงมีแนวโน้มในการเกิดออกซิเดชันได้มากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณหางจะมีไขมันมากกว่ากล้ามเนื้อบริเวณหัวถึง 25% และมีสัดส่วนของกล้ามเนื้อดำ (dark muscle) มากกว่า และเนื่องจากกล้ามเนื้อดำมีไขมัน 1.8–2.2% ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง และมีเม็ดเลือดแดงจำนวนมาก มีหน้าที่สัมพันธ์กับการเคลื่อนที่ซึ่งต้องใช้ ออกซิเจนในการสร้างพลังงาน (aerobic oxidative processes) ประกอบกับมีอัตราเมตาบอลิซึมและไกลโคเจนสูงกว่า จึงสามารถออกซิไดส์ได้ง่ายและเร็วกว่าในกล้ามเนื้อขาว (white muscle) ในส่วนหัวและส่วนอื่นๆ ซึ่งมีไขมันเพียง 0.6–0.75% และไม่ใช้ออกซิเจนในการสร้างพลังงาน (anaerobic oxidative processes) (Labuza, 1971) ดังนั้นปลาป่นที่ผลิตจากปลาที่มีกล้ามเนื้อสีดำเป็นส่วนประกอบเช่น ปลาซาร์ดีน ปลาแมคเคอเรล เป็นต้น มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายและเร็วกว่าในปลาที่มีกล้ามเนื้อขาวเพียงอย่างเดียว ด้วยเหตุนี้เมื่อประเทศญี่ปุ่นได้จำกัดการใช้ปลาป่นที่มีสีขาว (white fish meal) และหันมาใช้ปลาป่นสีน้ำตาล (brown fish meal) จึงมีการใช้สารกันหืน เช่น ETHQ และ BHA เพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามการใช้สารกันหืนเหล่านี้ในปลาป่นได้มีการโต้แย้งจากคนในกลุ่มผู้รักษาสุขภาพ เป็นเหตุให้ความต้องการปลาป่นที่ปราศจากสารกันหืนในประเทศญี่ปุ่นเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว (Cho *et al.*, 1988) โดยปลาป่นที่เกิดความหืนเมื่อนำไปผลิตอาหารสัตว์จะส่งผลดังนี้

- 1) ทำให้คุณค่าทางอาหารของวัตถุดิบลดลง เช่น กรดอะมิโนไลซีน ซีสเทอีน เมทไธโอนีน จะถูกทำลาย (Esterbauer *et al.*, 1991; Takiguchi, 1992)
- 2) การเกิดอนุมูลอิสระจำนวนมากในอาหารสัตว์ ทำให้สารอาหารบางตัว เช่น วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และไบโอติน (biotin) ลดประสิทธิภาพลงเพราะต้องไปทำหน้าที่เป็นสารกันหืนแทน ทำให้สัตว์ขาดวิตามินได้ (Hung *et al.*, 1981)



3) เมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดระยะสุดท้ายจะได้สารคีโตน อัลดีไฮด์ และแอลกอฮอล์ ทำให้เกิดกลิ่นผิดปกติในอาหารสัตว์ ทำให้สัตว์กินอาหารน้อยลง จึงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง (Gunstone, 1996)

4) สัตว์ที่กินอาหารที่เกิดความหืน หรือมีสารอนุมูลอิสระอยู่มาก จะส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพอ่อนแอ ชะงักการเจริญเติบโต และมีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ (Calabotta and Shermer, 1985)

## 2.6 การเติมสารกันหืนในปลาป่น

ปริมาณความต้องการสารกันหืน ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและชนิดของปลา ทั้งนี้การเติมสารกันหืนควรเติมในระดับที่กฎหมายกำหนด เช่น แอฟริกาได้อนุญาตให้เติมสารอีทอกซิควินในปลาซาร์ดีนป่น 400 ppm (แม้ว่าใส่เพียง 200 ppm ก็เพียงพอแล้ว) และในปลาแฮร์ริงป่นเติม บีเอชที 700 ppm หรือ อีทอกซิควิน 200 ppm โดยเติมทันทีที่ทำให้ปลาป่นแห้ง ปลาแอนโชวีป่นปกติจะเติมอีทอกซิควิน ประมาณ 400–700 ppm (FAO, 1975)

การควบคุมการเติมสารกันหืนมีความสำคัญมาก เพราะหากเติมปริมาณน้อยจะทำให้ปลาป่นสูญเสียสารอาหารที่สำคัญและจำเป็นไป เช่น ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดอะมิโน ไลซีน วิตามินเอ วิตามินอี และวิตามินซี เป็นต้น ในโรงงานบางแห่งมีการผสมสารกันหืนตั้งแต่ยังเป็นของเหลวข้น (stick water) หรือละลายลงไปในระยะที่บีบอัดของเหลว (press cake) ก่อนเข้าสู่การทำแห้ง ซึ่งสารกันหืนจะให้ผลเหมือนกันไม่ว่าจะเติมก่อนหรือหลังการทำแห้ง (FAO, 1975)

อังคณา หาญบรรจง และคณะ (2544) ทดลองเก็บรักษาปลาป่นทั้งแบบที่เติมและไม่เติมสารกันหืนที่อุณหภูมิห้อง (23.55–33.59 °C) และมีความชื้นสัมพัทธ์ในช่วง 46.8–86% พบว่าในปลาป่นที่เติมอีทอกซิควินมีการสลายตัวของสารอีทอกซิควินในปริมาณ 16.81, 28.12 และ 42.82% ในระยะเวลา 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือนตามลำดับ ส่วนการทดลองการเก็บรักษาปลาป่นเกรด 1 และเกรด 2 โดยไม่เติมสารกันหืนและเก็บรักษาโดยบรรจุในกระสอบพลาสติกขนาด 50 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิห้อง (ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) พบว่ามีค่า TBARS สูงขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บเกิน 2 เดือนขึ้นไป (อังคณา หาญบรรจง และคณะ, 2546)

ระยะเวลาในการเก็บรักษากับการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์ จะมีความสัมพันธ์กัน ตัวอย่างเช่น การสูญเสียกลิ่นและรสชาติ บ่อยครั้งที่การเก็บรักษาและสถานที่

เก็บรักษาอาหารสัตว์จะสัมพันธ์กับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งทำให้เกิดสารมาลอน อัลดีไฮด์ และผลผลิตอื่นๆ ที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ได้ (Shamberger *et al.*, 1974; Mukai and Goldstein, 1976) ปัจจัยที่ทำให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันมีหลายปัจจัยและยากที่จะหยุดยั้งปฏิกิริยาได้อย่างสมบูรณ์ (Dugan, 1976) Bautista และ Subosa (1999) ทดลองเก็บอาหารกุ้งไว้ที่อุณหภูมิ 10, 20, 28-30 และ 40 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า

- ระดับกรดไขมันอิสระ (FFA) เพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยเพิ่มสูงถึง 8.4% ในอาหารที่ไม่เติมสารกันหืนบีเอชที และเก็บที่อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

- ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) มีค่าน้อยและผันแปรตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 2.2-7.4 มิลลิโมลต่อกิโลกรัมไขมัน

- ปริมาณสารมาลอนอัลดีไฮด์ เพิ่มขึ้นทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนบีเอชที ยกเว้นตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 °ซ นาน 4 สัปดาห์ ส่วนอาหารที่เติมสารกันหืนบีเอชทีและเก็บที่อุณหภูมิ 10 °ซ มีปริมาณสารมาลอนอัลดีไฮด์ต่ำที่สุด (8.7 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมไขมัน) และปริมาณสารมาลอนอัลดีไฮด์สูงสุดในอาหารที่ไม่เติมสารกันหืนบีเอชที และเก็บที่อุณหภูมิ 40 °ซ นาน 10 สัปดาห์ (16.9 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมไขมัน)

## 2.7 กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* (Fabricius) ชื่อสามัญ Black tiger prawn เป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ ลักษณะเปลือกเกลี้ยงไม่มีขน มีกริยาว มีสันตับ (hepatic ridge) ยาว ลำตัวมีสีน้ำตาลเงินแกมม่วง มีแถบดำพาดขวางลำตัวตามปล้องและปลายหาง (Grey, *et al.*, 1983) ขนาดโตเต็มที่มีความยาว 270 มิลลิเมตร และมีน้ำหนักถึง 260 กรัม (Motoh, 1981 อ้างโดย วรวิทย์ ชีวพรและคณะ, 2534) ในทางอนุกรมวิธานจัดอยู่ในอันดับต่อไปนี้ Phylum Arthropoda, Class Crustacea, Subclass Malacostraca, Superorder Eucarida, Order Decapoda, Suborder Natantia, Family Penaeidae, Genus *Penaeus* (ประจวบ หล้าอุบล, 2532; Roch, 1999) พบตามธรรมชาติแถบชายฝั่งไทย ส่องกง ออสเตรเลีย และชายฝั่งอินโดแปซิฟิก (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2538)

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งที่นิยมเลี้ยงกันมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย (ประจวบ หล้าอุบล, 2532) สามารถเลี้ยงได้ในบ่อทุกประเภทเพราะมีความอดทนสูง ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ระดับ 0.2 – 70 ส่วนในพัน แต่ช่วงที่เหมาะสมคือ 10 –

20 ส่วนในพัน ชอบหากินตามพื้นบ่อ กินอาหารได้ทุกเวลา มักหมกตัวและหากินตามหน้าดิน (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2538)

วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ เริ่มจากกุ้งโตเต็มวัยซึ่งอาศัยอยู่ในทะเลที่มีความลึก 20–70 เมตร ผสมพันธุ์และวางไข่ เมื่อไข่ฟักเป็นตัวอ่อนก็จะมีการพัฒนาผ่านระยะต่างๆ คือ ตัวอ่อนระยะที่ 1 (nauplius) ตัวอ่อนระยะที่ 2 (protozoa) ตัวอ่อนระยะที่ 3 (mysis) ตัวอ่อนระยะที่ 4 (postlarva) และกุ้งวัยรุ่น (juvenile) ตลอดการพัฒนาจะมีการอพยพของลูกกุ้งเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง โดยเฉพาะป่าชายเลน ลูกกุ้งจะหากินและหลบภัยในบริเวณนี้จนถึงวัยเจริญพันธุ์ (subadult) จึงอพยพกลับสู่บริเวณภายนอกชายฝั่งต่อไป (Motoh, 1985 อ้างโดย วรวิทย์ ชีวาพร และคณะ, 2534)

## 2.8 ผลของสารกันหืนและการออกซิเดชันของไขมันในอาหารต่อกุ้งกุลาดำ

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารเป็นสาเหตุทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนของวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Cockerell *et al.*, 1972; Chow, 1978a) โดยเฉพาะผลผลิตจากปลาจะอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง และหากไม่มีการเติมหรือเติมสารกันหืนเพียงเล็กน้อยอาจทำให้เกิดการหืนของอาหารได้ (Tacon, 1987) วัตถุดิบ เช่น ปลาป่น หมึกป่น กุ้งป่น และน้ำมันปลานิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารกุ้ง ซึ่งอุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงควรเก็บรักษาให้ดีและในระยะเวลาที่เหมาะสมก่อนที่จะนำมาผลิตเป็นอาหารกุ้ง ในช่วงระหว่างการเก็บที่ยาวนานและมีปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเกิดขึ้นจะมีผลผลิตจากปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้คุณภาพทางเคมีเสื่อมลง เช่น อนุโมลอิสระเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ อัลดีไฮด์ และ คีโตน เป็นต้น (Rosas-Romero and Morton, 1977; Mai and Kinsella, 1979) องค์ประกอบเหล่านี้จะไปทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบอื่นๆ ของอาหาร เช่น วิตามิน โปรตีน และไขมันอื่นๆ ส่งผลต่อค่าต่างๆ ทางชีววิทยา และประสิทธิภาพการย่อยอาหารลดลงไปด้วย (Cockerell and Holiday, 1975 อ้างโดย Chow, 1978b) การให้อาหารที่มีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแก่สัตว์บางชนิดอาจทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตลดลง ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate, FCR) สูงขึ้น และนำไปสู่การสูญเสียทางเศรษฐกิจ เช่น การให้อาหารที่มีการออกซิเดชันของไขมันมีผลทำให้เกิดการระบาดของโรคในกุ้งและรวมไปถึงการสะสมไขมันในตับของกุ้งได้ (Roberts, 1978)

จากการทดลองของ Bautista และคณะ (1992) พบว่าค่า TBARS ไม่มีความแตกต่างระหว่างสูตรอาหาร 4 สูตร ที่ผสมสารกันหืน 4 ชนิด ได้แก่ บีเอสที, บีเอสเอ, พีจี

และอีทอกซิกวิน ที่ความเข้มข้น 0.05% ส่วนค่า TBARS ระหว่างอาหารที่ผสมและไม่ผสมสารกันหืน (ชุดควบคุม) ไม่มีความแตกต่างกันหลังจากเก็บนาน 0, 30, 60 และ 90 วัน ที่อุณหภูมิห้องปกติ (28–30 °ซ) แต่จะแตกต่างกันที่ 120 วัน นอกจากนี้พบว่าอาหารที่ไม่ใส่สารกันหืน (ชุดควบคุม) จะมีค่า TBARS แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติในระยะเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 วัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.86–22.3 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมอาหาร ถึงแม้ว่าจะไม่พบลักษณะความเสื่อมสภาพที่แตกต่างกันระหว่างสูตรอาหารให้เห็นได้ชัดเจน แต่เมื่อนำอาหารดังกล่าวไปเลี้ยงกุ้ง พบว่ากุ้งที่กินอาหารที่ผสมบีเอสที และบีเอสเอ เป็นระยะเวลา 60 วัน จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 704% และ 742% ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งที่กินอาหารชุดควบคุมมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 490% สอดคล้องกับการทดลองของ Bautista และ Subosa (1999) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใส่บีเอสที เป็นระยะเวลานาน 10 สัปดาห์ มีน้ำหนักเพิ่มเป็น 5.7–6.4 เท่าของน้ำหนักเริ่มต้น และมีการเจริญเติบโตดีกว่ากุ้งที่กินอาหารที่ไม่เติมบีเอสที ถึง 4–6 เท่า ตลอดการเลี้ยงนาน 60 วัน อัตรารอดของกุ้งที่กินอาหารเติมสารกันหืนบีเอสที (87–88%) สูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เติมบีเอสที (75–85%) อย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีลักษณะผิดปกติทางพยาธิสภาพของตับของกุ้งที่กินอาหารทั้งที่เติมและไม่เติมสารกันหืนบีเอสที หลังจากเก็บไว้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ผลการทดลองนี้ขัดแย้งกับการทดลองของ Bautista และคณะ (1992) ซึ่งพบว่ามีบาดแผลในตับของกุ้งที่กินอาหารผสมสารกันหืน แต่ไม่พบในกุ้งที่กินอาหารที่ไม่ผสมสารกันหืน โดยกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมบีเอสทีจะมีแผลน้อยที่สุด ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสารกันหืน propyl gallate (PG) และ ethoxyquin (ETHQ) มีการลึบฝ่อของท่อตับ มีการแทรกตัวของเม็ดเลือด และการห่อมล้อมของเม็ดเลือดบริเวณรอบท่อตับ

สัตว์แต่ละชนิดจะทนทานต่อความหืนในอาหารได้ไม่เท่ากัน เช่น ลูกปลาเทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีค่า TBARS อยู่ในช่วง 36-49 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมไขมัน สามารถมีชีวิตรอดและเจริญเติบโตได้ปกติ (Hung and Slinger, 1980) สำหรับกุ้งกุลาดำสามารถทนต่อความหืนในอาหารที่มีค่า TBARS ในช่วง 1.43–22.3 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมไขมัน (Bautista *et al.*, 1992) ในขณะที่ลูกปลาแซลมอนไม่สามารถทนได้ เมื่อมีค่า TBARS ในอาหารเพียง 12.0 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมไขมัน

### 3. วัตถุประสงค์

3.1 เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาและการเติมสารกันหืนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นเกรดกุ้ง ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่างกัน

3.2 เพื่อศึกษาผลของออกซิเดชันของไขมันในปลาป่นต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของกึ่งกุลาคำวัยรุ่น

3.3 เพื่อศึกษาผลของออกซิเดชันของไขมันในปลาป่น ต่อพยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับของกึ่งกุลาคำ