รายงานการวิจัย

การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ในการผลิตอาหารต้นทุนต่ำเลี้ยงปลานิล

Application of hydrolysate protein from Mackerel condensated in low cost feed production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture

อุไรวรรณ วัฒนกุล Uraiwan Wattanakul
วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul
ผ่องศรี พัฒนมณี Pongsri Pattanamanee

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม
ประจำปี พ.ศ. 2564

รายงานการวิจัย

การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล
ในการผลิตอาหารต้นทุนต่ำเลี้ยงปลานิล
Application of hydrolysate protein from Mackerel
condensated in low cost feed production for
Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture

อุไรวรรณ วัฒนกุล Uraiwan Wattanakul
วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul
ผ่องศรี พัฒนมณี Pongsri Pattanamanee

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม
ประจำปี พ.ศ. 2564

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปี 2564 งานวิจัยนี้ เป็นการวิจัยนำเอาน้ำนึ่งปลา ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือ หรือผลพลอยได้ที่มีอยู่ในปริมาณมากจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบโปรตีนในอาหาร ทดแทนการใช้โปรตีนจากปลาป่น และช่วยแต่งกลิ่นชวนกินอาหาร ในการผลิตอาหารปลานิล เพื่อลดการใช้ปลาป่นและกากถั่วเหลืองซึ่งเป็น 2 วัตถุดิบที่มีราคาแพงในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่น โดยคัดเลือกน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทและให้สมบัติทางเคมี มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่เหมาะสม เพียง 1 วิธีการ มาเป็นส่วนผสมในอาหาร ทำการเลี้ยงปลานิล และศึกษาผลการเลี้ยงด้านการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ คุณค่าทางโภชนาการ รวมถึงเปรียบเทียบต้นทุนอาหารต่อผลผลิตของปลานิล อันก่อให้เกิดการใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เป็นการเพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ และคาดว่าจะ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงและยั่งยืน รองรับการพัฒนาทางด้านการประมงของประเทศไทยต่อไป

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ความดีของรายงานฉบับนี้ ขอมอบแด่ อาจารย์ทุกท่านที่ได้คอยประสิทธิ์ประสาทวิชาการให้แก่ข้าพเจ้า ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

อุไรวรรณ วัฒนกุล
วัฒนา วัฒนกุล
สิงหาคม 2565

การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ในการผลิตอาหารต้นทุนต่ำเลี้ยงปลานิล

อุไรวรรณ วัฒนกุล[1] วัฒนา วัฒนกุล[1] และ ผ่องศรี พัฒนมณี[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรลโดยการย่อยสลายด้วย 6M กรดไฮโดรคลอริก ปริมาตรต่างกัน ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส และคัดเลือกน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่เหมาะสมนำไปใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับต่างกันในอาหารเลี้ยงปลานิล เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา ค่าองค์ประกอบเลือด ลักษณะทางเนื้อเยื่อของตับ อัตราการรอดตาย และต้นทุนอาหารต่อผลผลิต โดย ได้ศึกษาระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารต่างกัน 6 ระดับ (สูตรที่ 1-6) คือ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยกำหนดให้มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกสูตร และมีอาหารเม็ดสำเร็จรูป (สูตรที่ 7) เป็นสูตรเปรียบเทียบ นำไปเลี้ยงปลานิลน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 28.67 ± 2.35 กรัม เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 2) มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทั้งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ รองลงมาคือ ที่ระดับ 1, 4, 3, 5, และ 6 ตามลำดับ ($p>0.05$) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลานิลเพิ่มสูงขึ้น และไขมันลดต่ำลงมากกว่าสูตรเปรียบเทียบ และทุกระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทไม่มีผลต่อพยาธิสภาพในเซลล์ตับ และค่าองค์ประกอบเลือด รวมทั้งอัตราการรอดตาย ดังนั้น จากการทดลองสรุปได้ว่า การใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลานิล ทั้งในด้านการเจริญเติบโต และด้านเศรษฐศาสตร์ โดยมีราคาอาหารต่อกิโลกรัมต่ำสุดเท่ากับ 29.92 บาทต่อกิโลกรัม สามารถลดต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตของปลานิลได้เท่ากับ 19.05 บาทต่อกิโลกรัม คิดเป็น 38.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปจากตลาด

คำสำคัญ : โปรตีนไฮโดรไลเซท น้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ปลานิล

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง

Application of hydrolysate protein from Mackerel condensated in low cost feed production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture

Uraiwan Wattanakul[1] Wattana Wattanakul[1] and Pongsri Pattanamanee[1]

Abstract

The objective of this research was to investigate the appropriate condition to produce protein hydrolysate from Mackerel condensated with 6M hydrochloric acid at temperature 50 and 60 degree celcius. Then selected the suitable level of hydrolysate protein to replacement of fish meal protein with fish condensate in diet at different levels on growth, protein efficiency ratio (PER), chemical composition, hematology, liver histology, survival rate, feed conversion rate (FCR) and production cost of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). The diets were contained 30% protein in six formulas with varying levels ; 0, 10, 20, 30, 40 and 50% of fish condensate replacement (formula 1-6) compared with pellet feed (formula 7), respectively. Fish with initial average weight 28.67±2.35 g. for 6 months. The result showed that at 10% of fish meal replacement with hydrolysate protein from fish condensate group was highest growth performance as weight gain and specific growth rate were significantly different (p<0.05) with 0%, 30%, 20% 40% and 50% level (formula 1, 4, 3, 5 and 6), respectively. The protein content was higher and fat content was lower than pellet diet (fomular 7). All of the diet formulas were no pathological effect on hepatocytes, hematology and survival rate. The current study concluded that at 10% of fish meal protein replacement with protein hydrolysate from Mackerel condensate in diet was optimum for nile tilapia feed taking into account the weight increase and economic returns with lowest feed cost of 29.92 baht/kg and could reduce the feed cost production of fish up to 19.05 baht/kg, equivalent to 38.00% compared on the pellet feed.

Keywords : hydrolysate protein, Mackerel condensated, tilapia (*Oreochromis niloticus*)

[1]Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Techonology Srivijaya, Sikao, Trang

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำ	1
วิธีการดำเนินงานวิจัย	10
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	17
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	37
บรรณานุกรม	38
ภาคผนวก	42
ภาคผนวก ก ภาพการวิเคราะห์ค่าต่างๆ	43
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ	55

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารปลานิล	12
2	สูตรอาหารปลานิลทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท	13
3	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลานิลทดลอง (ค่าเฉลี่ย + SD)	14
4	ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซ์น้ำนึ่งปลา	18
5	ระดับย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ ในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทเข้มข้น	19
6	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นในน้ำนึ่งปลา	21
7	ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างน้ำนึ่งปลาและน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท	23
8	การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว หน่วยเป็นกรัม) ของปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน	28
9	น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน	31
10	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ราคาค่าอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิตปลานิล ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร	33
11	ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน	34
12	องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน	35
13	คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองเลี้ยงปลานิล ด้วยอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน	36

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่		หน้า
1	น้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล	17
2	การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว หน่วยเป็นกรัม) ของปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 6 เดือน	29
3	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทน โปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ กัน ในเดือนที่ 6 ของการทดลอง	30

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ภาพผนวกที่		หน้า
1	การย่อยสลายน้ำนึ่งปลาด้วยกรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ)	44
2	น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาณและอุณหภูมิ การย่อยต่างกัน	45
3	น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาณและอุณหภูมิ การย่อยต่างกัน (ต่อ)	46
4	การวิเคราะห์เพื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดนำไปผลิตอาหารเลี้ยงปลานิล	47
5	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนโฮโดรไลเซทเข้มข้นในน้ำนึ่งปลา เพื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดนำไปผลิตอาหารเลี้ยงปลานิล	48
6	การเตรียมอาหารทดลองเลี้ยงปลานิล	49
7	การเตรียมระบบเลี้ยง และทำการทดลองเลี้ยงปลานิล	50
8	การศึกษาการเจริญเติบโต และการศึกษาองค์ประกอบเลือด	51
9	เนื้อเยื่อตับจากตัวอย่างปลานิลของทุกๆการทดลอง	52
10	การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง	53
11	การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง (ต่อ)	54

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการแปรรูปอาหารทะเลของประเทศไทยที่มีการเติบโตขึ้นตามลำดับ ส่งผลให้มีวัสดุเหลือใช้จากกระบวนการแปรรูปหลากหลายชนิด โดยเฉพาะเศษวัสดุเหลือใช้บางชนิดยังมีสารอาหารบางกลุ่มอยู่ในปริมาณที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก ดังเช่น โรงงานแปรรูปปลากระป๋องในจังหวัดตรัง ซึ่งเป็นจังหวัดทางภาคใต้ที่มีโรงงานผลิตอาหารทะเลแช่แข็งและอาหารทะเลบรรจุกระป๋องทั้งในเขตอำเภอเมืองและอำเภอกันตัง มักใช้ปลาทะเลขนาดเล็ก เช่นปลาแมคเคอเรล นำมาผลิตปลากระป๋องรูปแบบต่างๆ ส่งผลให้ปริมาณของแข็งและของเหลวที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมการแปรรูปมีเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนของเหลวมักถูกกำจัดทิ้งทำให้น้ำเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปปลากระป๋องมีสารอินทรีย์ปนอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง (Prasertsan *et.al*., 1988) วัสดุเศษเหลือดังกล่าวประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญ คือ โปรตีน ไขมัน และกรดอะมิโนที่จำเป็น (จิตรวดี, 2540) โดยมีรายงานว่าน้ำนึ่งปลาของโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารกว้างไพศาล จำกัด (มหาชน) จ. ตรัง ซึ่งผลิตปลากระป๋องรูปแบบต่างๆ ปุ้มปุ้ย จ.ตรัง มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีนร้อยละ 45.15 (W/W) มีกลิ่นที่กระตุ้นการกินอาหารของสัตว์น้ำได้ (วัฒนา และคณะ, 2558) การบำบัดของเหลวเหล่านี้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย แต่หากมีการนำกลับมาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม น่าจะเป็นประโยชน์กว่า การนำน้ำนึ่งปลามาใช้เป็นองค์ประกอบในการการผลิตอาหารเม็ดเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะจัดเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดี และเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารได้อีกด้วย มีรายงานกล่าวไว้หลายชิ้น ซึ่งงานวิจัยเหล่านี้ ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์โดยการนำไปเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารปลา แต่ยังไม่มีการนำน้ำนึ่งปลามาผ่านกระบวนการไฮโดรไลเซท เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของน้ำนึ่งปลาก่อนนำไปใช้ ทั้งนี้ น้ำนึ่งปลาจะมีโปรตีนเป็นสายโพลีเปปไทด์ขนาดใหญ่ มีสมบัติในการให้กลิ่นรสไม่ดีนัก ย่อมมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาที่ใช้ประโยชน์ได้อย่างจำกัด จากงานวิจัยที่ผ่านมา คณะวิจัยฯ ได้นำน้ำนึ่งปลามาผลิตอาหารเม็ดเลี้ยงปลานิล ผลปรากฏว่า สามารถใช้น้ำนึ่งปลาเป็นส่วนผสมในอาหารปลานิลได้เพียงระดับหนึ่ง ซึ่งยังไม่มีประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ของปลาได้อย่างดี (อุไรวรรณ และคณะ, 2558) จึงจำเป็นต้องปรับปรุงพัฒนาโดยการนำมาย่อยสลายให้ได้กรดอะมิโนและสายเปปไทด์สั้นๆ เรียกว่า โปรตีนไฮโดรไลเซท เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และปรับปรุงสมบัติบางประการ โดยเฉพาะสมบัติเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสให้ดีขึ้น เพราะกระบวนการย่อยสลายโปรตีนสามารถควบคุมเพื่อให้ได้สารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ดีได้ อีกทั้ง ปัจจุบันมีการผลิตและนำโปรตีนไฮโดรไลเซท มาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายขึ้น ทั้งนี้โปรตีนไฮโดรไลเซท เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีน โดยการตัดสายโพลีเปปไทด์ให้เป็นกรดอะมิโนอิสระ หรือเปปไทด์สายสั้นๆ โดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการและปรับปรุงสมบัติบางประการของโปรตีน เช่น สมบัติการละลาย สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และสมบัติการเกิดโฟม เป็นต้น (Kristinsson and Rasco, 2000) ในงานวิจัยที่ผ่านมามีการใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีน ซึ่งมีทั้งข้อดีและข้อเสีย แต่การใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีนเพื่อให้เกิดเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก เสียเวลา ต้นทุนสูง และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อาจมีสารประกอบรสชมเกิดขึ้นเนื่องจาก hydrophobic groups ในโมเลกุลของโปรตีนแตก

ตัว (Matcha and Hata, 1972) ขณะที่การย่อยสลายด้วยด่าง มีผลให้กรดอะมิโนบางชนิดเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างจาก L-form เป็น D-form ที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ได้และทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีอย่างยิ่ง (Hill, 1965) ส่วนการย่อยสลายด้วยกรดนิยมใช้กรดเกลือมากกว่ากรดซัลฟุริกเพราะมีประสิทธิภาพในการสลายพันธะดีกว่า Hill (1965) รายงานสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายโปรตีนในกลูเตนด้วยกรดเกลือเข้มข้นปริมาณ 20:1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ 110 $^{\circ}$c เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แยกกรดเกลือออกภายหลังการย่อยสลายโดยระเหยภายใต้ความดันที่ภาวะดังกล่าวให้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Degree of Hydrolysis (DH) 89. 50% การย่อยสลายด้วยกรดเสียค่าใช้จ่ายต่ำกว่าการใช้เอนไซม์ การย่อยด้วยกรดจึงน่าจะสามารถทำได้ง่าย เหมาะแก่การใช้ในการเลี้ยงสัตว์ในระดับครัวเรือนดีกว่า ทั้งนี้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยทั่วไปมี 2 รูปแบบ คือใช้เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการหรือเป็นแหล่งโปรตีนใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวในอาหารและใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ปัจจุบันมีการศึกษาหาแหล่งโปรตีนและพลังงานหลายชนิดมาใช้เลี้ยงสัตว์หรือใช้ทดแทนโปรตีนในอาหารสัตว์เพื่อลดต้นทุนการผลิต

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาเศรษฐกิจ เพาะเลี้ยงง่าย ราคาไม่แพง แต่มีรสชาติดี มีคุณค่าทางโภชนาการ จึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แม้ว่าจะมีราคาไม่สูง แต่เป็นปลาที่มีความนิยมในการบริโภค มีการขยายตลาดไปได้อบย่างกว้างขวาง แม้ว่าปลานิลเป็นปลาเศรษฐกิจที่มีศักยภาพเพียงพอสำหรับการเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรม แต่เป็นปลาที่สามารถพัฒนาการผลิตได้จำกัด ดังนั้น หากเกษตรกรสามารถเลี้ยงปลาได้ในปริมาณมาก โดยมีวิธีการลดต้นทุนการผลิต ก็จะส่งผลต่อความสามารถในการแข่งขัน และการอยู่รอดในธุรกิจได้ดี ในปัจจุบันเกษตรกรนิยมเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป ซึ่งมีราคาแพง ไม่คุ้มทุนการผลิต เพราะการเลี้ยงสัตว์น้ำมีปัจจัยด้านอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด เพราะต้นทุนค่าอาหารอยู่ที่ประมาณร้อยละ 50-70 ของต้นทุนทั้งหมด (Blyth and Dodd, 2002; Kongkeo and Phillips, 2002) ฉะนั้นหากผู้เลี้ยงไม่ให้ความสำคัญต่อการให้อาหารสัตว์น้ำ โอกาสที่จะเกิดความล้มเหลวในการเลี้ยงก็จะสูงตามไปด้วย ซึ่งในปัจจุบันการผลิตอาหารสัตว์น้ำนิยมใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่เป็นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์เป็นหลัก ร่วมกับกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากพืช แต่ปัญหาของการเลี้ยงปลานิลที่เกิดขึ้นในปัจจุบัน คือ เกษตรกรนิยมเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป เนื่องจากสะดวก และง่ายต่อการจัดการ ซึ่งการเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปย่อมมีราคาแพง ส่งผลให้ต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงปลาเพิ่มสูงขึ้นเป็นอย่างมาก แนวทางการแก้ปัญหาในเบื้องต้น คือการที่เกษตรกรสามารถหาวิธีการผลิตอาหารด้วยต้นทุนต่ำ แต่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูง ใกล้เคียงกับอาหารเม็ดสำเร็จรูป จึงจะทำให้การเลี้ยงปลานิลประสบความสำเร็จและรายได้คุ้มทุน

จากเหตุผลดังกล่าว คณะวิจัยฯ จึงสนใจการนำน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรลมาผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่สภาวะแตกต่างกัน 4 สภาวะ เพื่อไฮโดรไลซ์น้ำนึ่งปลาให้กลายเป็นกรดอะมิโนอิสระ หรือเปปไทด์สายสั้น และนำมาใช้ในการผลิตอาหารปลานิล เลี้ยงปลานิล ศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และองค์ประกอบทางเคมีของปลา คาดการณ์ว่ากระบวนการวิจัยดังกล่าวใช้ต้นทุนต่ำ ทำได้ง่าย และเหมาะสมในการนำไปเผยแพร่ให้กับเกษตรกรรายย่อยที่มีข้อจำกัดในการผลิตอาหารด้วยตนเอง ให้ง่ายต่อการนำไปใช้งานได้จริงเป็นรูปธรรม อีกทั้งการนำน้ำนึ่งปลา ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือ หรือผลพลอยได้ที่มีอยู่ในปริมาณมากจากโรงงานอุตสาหกรรม

แปรรูปสัตว์น้ำ จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบโปรตีนในอาหาร ทดแทนการใช้โปรตีนจากปลาป่น และช่วยแต่งกลิ่น ในการผลิตอาหารปลานิล เพื่อลดการใช้ปลาป่น และกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์น้ำที่มีราคาแพง การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่น โดยคัดเลือกน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทและให้สมบัติทางเคมี มีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่เหมาะสม เพียง 1 วิธีการ มาเป็นส่วนผสมในอาหาร ทำการเลี้ยงปลานิล และศึกษาผลการเลี้ยงด้านการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ คุณค่าทางโภชนาการ รวมถึงเปรียบเทียบต้นทุนอาหารต่อผลผลิตของปลานิล โดยข้อมูลงานของ เจษฎา และสุภาวดี (2553) นำน้ำนึ่งปลามาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในการผลิตอาหารสัตว์น้ำลดต้นทุนการผลิตได้เป็นอย่างดีเช่นกัน อันก่อให้เกิดการใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เป็นการเพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ และคาดว่าจะ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงและยั่งยืน รองรับการพัฒนาทางด้านการประมงของประเทศไทยต่อไป

หลักการ แนวคิด ทฤษฎี หรือสมมุติฐาน

ปลานิล

ปลานิล (*NileTilapia*) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* (Linn.) มีริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาลและมีลายพาดขวาง 9-10 แถว ครีบหลังมีอันเดียว ประกอบด้วยก้านครีบอ่อน 9-10 อัน มีเกล็ด 33 เกล็ดบนแกนเส้นข้างลำตัว ด้านข้างมีเกล็ดจามแนวเฉียง จากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงแนวส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้ม ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอยู่จุดหนึ่ง บริเวณปลายอ่อนของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหางมีจุดสีขาวและเส้นสีดำตัดขวางอยู่ทั่วไป (มานพ และคณะ, 2536) จัดเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ สามารถกินได้ทั้งแพลงก์ตอนพืชและสัตว์ ซากอินทรีย์ และซากอนินทรีย์เน่าเปื่อย มูลสัตว์ สัตว์หน้าดินบางชนิด และพืชน้ำชนิดต่างๆ (Halver, 1989) ปลานิลเป็นปลาที่มีนิสัยชอบหาอาหารกินในเวลากลางวัน และจะหยุดกินอาหารในเวลากลางคืน แต่การย่อยอาหารยังดำเนินต่อไปอย่างต่อเนื่อง ช้าๆ จนเสร็จสิ้นในช่วงเวลา 18-24 ชั่วโมง เป็นปลาที่กินอาหารได้ทั้งบนผิวน้ำ กลางน้ำ และก้นบ่อ ทำให้กินอาหารจำพวกพืช แพลงก์ตอน และอินทรีย์สารก้นบ่อ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (กรมประมง, 2541)

ความต้องการสารอาหารของปลานิล

จากรายงานการศึกษา สรุปได้ว่าความต้องการโปรตีนของปลานิลอยู่ระหว่างร้อยละ 30-40 ขึ้นอยู่กับขนาดตัวปลา และสัดส่วนของโปรตีนต่อพลังงาน ซึ่งการศึกษาของ Viola and Arieli (1982) สรุปได้ว่าช่วงของโปรตีนที่ต่ำที่สุดที่ใช้ในอาหารปลานิลขนาดเล็กคือ ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ปลาวัยอ่อนต้องการโปรตีนปริมาณมาก และความต้องการโปรตีนจะลดลงเมื่อปลาโตขึ้น ปริมาณความต้องการโปรตีนของสัตว์น้ำยังแตกต่างกันไปตามอุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนในน้ำ ซึ่งมีผลต่อการใช้โปรตีนของสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก เพราะ อุณหภูมิ และออกซิเจนในน้ำ จะช่วยเร่งอัตราการเผาผลาญอาหาร ขณะเดียวกันอาหารที่มีโปรตีนมากเกินไป นอกจากจะทำให้สัตว์น้ำไม่เจริญเติบโต

อันเนื่องจากต้องสูญเสียพลังงานในกระบวนการดีอะมิเนชัน (deamination) ภายในร่างกายของสัตว์น้ำโดยตรง ทำให้ปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาคือ ปริมาณโปรตีนซึ่งน้อยที่สุดที่ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (เวียง, 2528) อาหารปลาจึงควรมีโปรตีนและพลังงานในสัดส่วนที่เหมาะสม มีรายงานว่าอาหารสัตว์น้ำควรมีพลังงาน 8-9 กิโลแคลอรีต่อโปรตีน 1 กรัม (Lim and Dominy, 1989) ค่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารควรประเมินจากการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร และผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ตามหลักการและวิธีการของ Almquist (1972) โดยที่ Pandian (1987) ได้อาศัยหลักการ และวิธีการดังกล่าวประเมินหาค่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสัตว์น้ำทั่วไป และสรุปว่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากินพืช ปลากินพืชและสัตว์ และกุ้งก้ามกรามมีค่าเท่ากัน คือร้อยละ 20 – 30 สำหรับปลากินเนื้อมีค่าร้อยละ 30-40 และกุ้งทะเล มีค่าร้อยละ 40-50 เป็นต้น

ความต้องการโปรตีนของสัตว์น้ำ

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ที่พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด สัตว์มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบมากกว่าในสิ่งมีชีวิตประเภทอื่น (เวียง, 2542) โปรตีนเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการมีชีวิต และการเจริญเติบโต มีหน้าที่ในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ ฮอร์โมน สารภูมิคุ้มกันโรค และฮีโมโกลบิน เป็นต้น ปลาวัยอ่อนต้องการโปรตีนปริมาณมาก และความต้องการโปรตีนจะลดลงเมื่อปลาโตขึ้น การกำหนดปริมาณโปรตีนที่ปลาได้รับในวันหนึ่ง ๆ นอกจากจะพิจารณาถึง วัย ขนาด ชนิด และสภาวะแวดล้อม ปริมาณความต้องการโปรตีนยังแตกต่างกันไปตามอุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนในน้ำ ซึ่งมีผลต่อการใช้โปรตีนของสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก เพราะอุณหภูมิ และออกซิเจนในน้ำ จะช่วยเร่งอัตราการเผาผลาญอาหาร ขณะเดียวกันอาหารที่มีโปรตีนมากเกินไป นอกจากจะทำให้สัตว์น้ำไม่เจริญเติบโต อันเนื่องจากต้องสูญเสียพลังงานในกระบวนการดีอะมิเนชัน (deamination) ภายในร่างกายของสัตว์น้ำโดยตรง สารประกอบไนโตรเจนที่ถูกขับถ่ายลงไปในน้ำจะทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมลง เป็นผลให้ปลาเบื่ออาหาร การใช้ประโยชน์จากอาหารได้น้อย และอัตราการเจริญเติบโตต่ำ ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาคือ ปริมาณโปรตีนซึ่งน้อยที่สุดที่ทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตดีที่สุด (เวียง, 2528)

การใช้โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต พบว่า สัตว์น้ำจะต้องได้รับโปรตีนจากอาหารแต่ละมื้อในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการเท่านั้น รวมถึงพลังงานก็เช่นกัน ในกรณีที่อาหารมีระดับโปรตีนสูงเพียงพอกับความต้องการแต่มีพลังงานต่ำ อาหารนั้นก็จะไม่ทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตเหมือนการทดลองในปลากดหลวง (Mangalik, 1986) เพราะโปรตีนจะต้องถูกเปลี่ยนสภาพเป็นพลังงานเสริมกับพลังงานจากไขมันและคาร์โบไฮเดรต ผลจากการเปลี่ยนโปรตีนเป็นพลังงานทำให้จำเป็นต้องเพิ่มระดับโปรตีนในอาหารให้สูงขึ้น (NRC, 1983) และการเพิ่มระดับโปรตีนในอาหารทำให้เกิดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในร่างกายของสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย โดยเหตุนี้อาหารจึงควรมีโปรตีนและพลังงานในสัดส่วนที่เหมาะสม มีรายงานว่าอาหารสัตว์น้ำควรมีพลังงาน 8-9 กิโลแคลอรีต่อโปรตีน 1 กรัม (Lim and Dominy, 1989) ค่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารควรประเมินจากการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร และผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์ตามหลักการและวีธีการของ Almquist (1972) โดย Pandian (1987) ให้ข้อสรุปว่าระดับโปรตีนที่

เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากินพืช ปลากินพืชและสัตว์ มีค่าเท่ากัน คือ 20 – 30% สำหรับปลากินเนื้อ 30-40% และกุ้งทะเล 40-50%

ผลของอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และองค์ประกอบเลือด

การศึกษาถึงผลของอาหารที่สัตว์น้ำได้รับต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และองค์ประกอบของเลือด เป็นการยืนยันถึงการใช้แหล่งอาหารโปรตีนทดแทนว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพในสัตว์ทดลองที่แตกต่างไปจากเดิมหรือไม่ และมีผลเป็นไปในเชิงบวกหรือเชิงลบ การศึกษาในเรื่องดังกล่าวอาจใช้บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของอาหารทดลอง ซึ่งมีผู้ทำการศึกษาไว้ในสัตว์น้ำหลายชนิด อาทิ ปลานิล (นิรุทธิ์, 2544) กุ้งก้ามกราม (วัฒนา และคณะ, 2557) ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาถึงผลของการใช้น้ำนึ่งปลา และน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และองค์ประกอบเลือดปลานิลด้วย เพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลประกอบในการผลิตอาหารลดต้นทุนโดยการผสมน้ำนึ่งปลาที่มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เลี้ยงปลานิลต่อไป

แหล่งโปรตีนของอาหารปลา

ต้นทุนในการเลี้ยงปลานับได้ว่า อาหารเป็นต้นทุนที่สูงสุด ประมาณ 50-70 % ของต้นทุนทั้งหมด (Blyth and Dodd, 2002) เพราะใช้โปรตีนเป็นสารอาหารหลักในการเจริญเติบโต โดยปลาป่นเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนหลักที่นิยมใช้เป็นส่วนผสการผลิตในในองค์ประกอบของอาหารสัตว์น้ำ เพราะให้กรดอะมิโนที่ดีและมีความสมดุล โดยปลาป่นจะช่วยเพิ่มกรดอะมิโนไลซีน และเมทไธโอนีนให้กับวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช เพราะวัตถุดิบจากพืชมักจะมีเมทไธโอนีน ซีสตีนและไลซีนต่ำ ปลาป่นมีแร่ธาตุ เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม ทองแดง สังกะสี แมงกานีส ไอโอดีน และวิตามิน เช่น วิตามินเอ ดี บี 12 บีรวม ในปริมาณที่มากพอ (ทัศนีย์, 2546) นอกจากนี้ปลาป่นยังเป็นแหล่งน้ำมันที่อุดมด้วยกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำ ได้แก่กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวชนิด n-3 HUFA อีกด้วย คุณภาพของปลาป่นที่ใช้ในอาหารจึงมีบทบาทสำคัญที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของอาหารนั้น ปลาป่นที่มีคุณภาพดี สัตว์น้ำจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตได้สูงสุด ส่วนปลาป่นที่มีคุณภาพต่ำมีผลทำให้ อัตราการเจริญเติบโตช้า อัตรารอดตายต่ำ จึงมีการวิจัยที่ทำการศึกษาแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำเพื่อลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนโดยเฉพาะเศษวัตถุดิบเหลือใช้ เช่น น้ำนึ่งปลาจากโรงงานผลิตปลากระป๋องทดแทนโปรตีนในอาหารปลาดุกลูกผสม (สุทิน และวิชิต, 2547) การใช้กากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมัน เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนและพลังงานทดแทนในอาหารปลานิล (นิรุทธิ์, 2544) การใช้กากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันเสริมในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (วัฒนา และคณะ, 2552) เป็นต้น

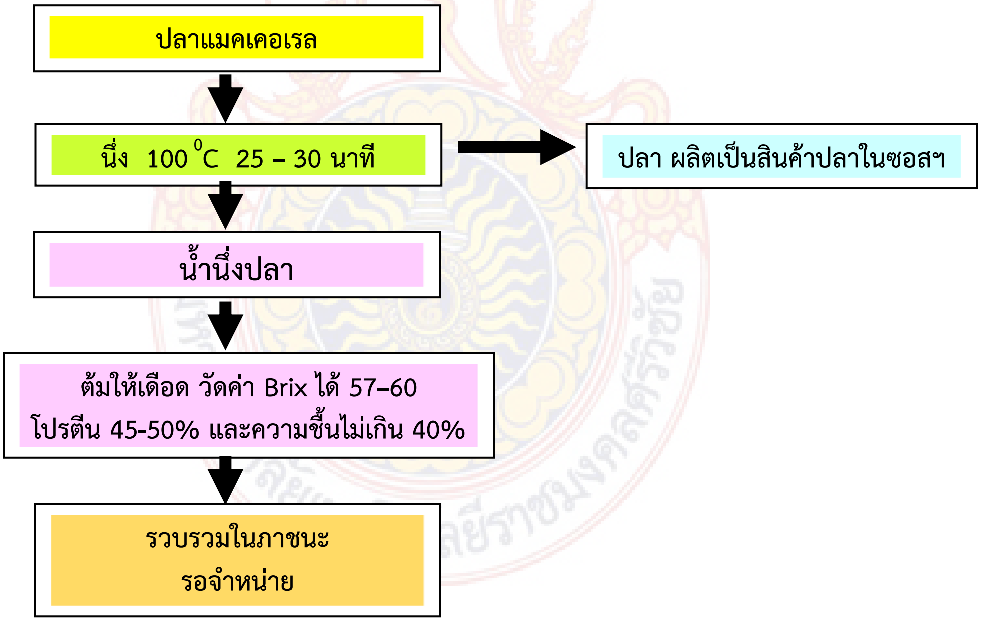
สำหรับวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลว คือ เลือดปลา น้ำนึ่งปลา ยังมีสารประกอบอินทรีย์อยู่สูง (Prasertsan *et al.*, 1988) มักจะกำจัดและปล่อยทิ้ง ก่อให้เกิดปัญหาการบำบัดน้ำเสีย โดยเฉพาะน้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่ามีปริมาณไขมันและโปรตีนโดยเฉลี่ยร้อยละ 0.41 และ 6.54 ตามลำดับ การนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาใช้ประโยชน์ จะเป็นการเพิ่มมูลค่าและลดต้นทุนการบำบัดน้ำเสีย ตลอดจนลดมลภาวะจากกระบวนการผลิต จากการวิจัยเจษฎา และสุภาวดี (2553) ทำการทดลองใช้

น้ำนึ่งปลาจากการผลิตของโรงงานปลาทูน่ากระป๋องเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาสวายเนื้อขาวที่แตกต่างกัน 11 ระดับคือ 0 - 100% อาหารปลาแต่ละสูตรมีโปรตีน 27% และพลังงานที่ย่อยได้ 2,500 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม ใช้เลี้ยงปลาสวายเนื้อขาว เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของสวายเนื้อขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารซึ่งมีน้ำนึ่งปลา 20 % มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม น้ำหนักเพิ่มต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด แตกต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม 0% (p<0.05) ตลอดจนให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารตลอดการทดลองดีที่สุด มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p<0.01) ขณะที่การผลิตอาหารปลานิลโดยทดแทนโปรตีนด้วยน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ของ วัฒนา และคณะ (2557) รายงานระดับที่เหมาะสมของการใช้น้ำนึ่งปลาในอาหารหารเลี้ยงปลานิลอยู่ที่ระดับร้อยละ 20 ทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด

วัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปปลาแมคเคอเรลบรรจุกระป๋อง

จากกระบวนการแปรรูปปลาบรรจุกระป๋อง ก่อให้เกิดวัสดุเศษเหลือ ซึ่งวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวนำไปผลิตเป็นน้ำนึ่งปลา โดยมีขั้นตอนในการผลิตดังนี้

ขั้นตอนการผลิตน้ำนึ่งปลา



<u>หมายเหตุ</u> : ปลาแมคเคอเรล ได้แก่ ปลาทูแขก ปลาทู ปลาลัง ปลาซาบะ

โปรตีนไฮโดรไลเซท (Hydrolysate Protein, HP)

Hydrolysate Protein (HP) คือ สารปรับปรุงและเสริมกลิ่นรสที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสโปรตีน ด้วยกรด-ด่างหรือเอนไซม์ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน เปปไทด์ และสารประกอบอื่น แหล่งของ

โปรตีนต่างชนิดกันให้ HP ที่มีสมบัติในการให้กลิ่นรสหรือเสริมกลิ่นรสของอาหารแตกต่างกัน โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกชนิดของโปรตีน คือ ราคา องค์ประกอบทางเคมี สมบัติทางกายภาพและการยอมรับของผู้บริโภค (Olsman, 1979) กลิ่นรสของ HP ที่ได้ขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบ องค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนนั้น และกระบวนการผลิต (Aaslyng *et, al*., 1999) การผลิตทั่วไปมี 2 วิธี ได้แก่ การย่อยสลายด้วยสารเคมี และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

การย่อยสลายด้วยสารเคมี

ก. การย่อยสลายด้วยกรด

กระบวนการผลิต HP โดยย่อยสลายด้วยกรดเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีกระบวนการทำง่ายได้ ผลผลิตจำนวนมาก และมีกลิ่นรสที่แรง เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Nagodawithana, 1995) กรดที่นิยมใช้ได้แก่ กรดไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟุริก กระบวนการผลิต HP โดยย่อยสลายด้วยกรด ส่วนใหญ่ใช้การไฮโดรไลซ์แหล่งโปรตีนจากพืชด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 4-6 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 100-130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมงจากนั้นทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายด่าง เช่น โซเดียมคาร์บอเนตหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Peterson, 1974; Rao, 1976; Manley *et,al*., 1981; Dzanic *et,al*., 1985; Weir, 1986; Velisek *et,al*., 1993 และ อัญชลี, 2548) เวลาที่ใช้ขึ้นกับชนิดของโปรตีน ในขั้นนี้สารอาหารที่ถูกย่อยโดยกรด คือ แป้งและโปรตีน แป้งถูกย่อยเป็นน้ำตาล ส่วนโปรตีนถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโน การย่อยสลายด้วยกรดทำให้กรดอะมิโน ทริปโตเฟน เซอรีน ทรีโอนีน กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสทิอีน และกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลถูกทำลาย นอกจากนี้ยังทำให้กรดอะมิโน แอสปาราจีน และกลูตามีนถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปกรด เป็นกรดอะมิโนแอสปาร์ติก และกลูตามิก (Peterson and Johnson, 1978) หรืออาจใช้กรดซัลฟุริกเข้มข้น 6-7 โมลาร์ ในการย่อยสลายโปรตีนที่อุณหภูมิ 100 ถึง 125 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (Peterson, 1974) แต่การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟุริกมักพบปัญหาการตะกอนของแคลเซียมซัลเฟตหลังจากปรับ pH เป็นกลาง โดยการเติมแคลเซียมออกไซด์(CaO) เนื่องจากแคลเซียมซัลเฟตที่เกิดขึ้นสามารถดูดซับกรดอะมิโนหรือสารประกอบอื่นที่ได้จากการย่อยโปรตีนได้ ส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีของ HP

ข. การย่อยสลายด้วยด่าง

การย่อยสลายด้วยด่าง ด่างที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แบเรียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (วารยา, 2539) รายงานว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ ให้อัตราการย่อยสลายที่ดีและเร็วกว่า 0.2 โมลาร์ แบเรียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ แต่การย่อยสลายด้วยด่างไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากกรดอะมิโนบางชนิดเกิดปฏิกิริยา racemization เปลี่ยนจาก L-form ไปเป็น D-form ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การย่อยสลายด้วยสารละลายด่างที่ภาวะรุนแรงทำให้เกิดปฏิกิริยาเบตา-อิลิมิเนชัน (B-elimination) ของกรดอะมิโนเซอรีนและซีสทิอีน เป็นผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) ซึ่งสามารถทำให้ปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ เช่น ซีสทิอีนและไลซีน ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด มีผลต่อการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญรวมทั้งเกิดสารพิษขึ้น (Howell, 1996) และทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดี (Hill, 1965)

ค. การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

กระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เป็นการย่อยสลายในภาวะที่ไม่รุนแรง เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ค่า pH มีความคงทนต่อความร้อนที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท สามารถควบคุมระดับการย่อยสลาย จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์และสภาวะการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม โดยเฉพาะเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส (protease) ซึ่งมีสมบัติในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ คือเปปไทด์ที่มีขนาดเล็ก และกรดอะมิโนอิสระ เมื่อเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์โปรติเอส พบว่า การย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นสามารถกำหนดขอบเขตการย่อยสลายและขนาดได้ แต่การย่อยสลายด้วยสารเคมีนั้นไม่สามารถกำหนดการทำละลายของพันธะและขนาดของเปปไทด์ (Adler-Nissen, 1986) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์มีลักษณะต่างกันทั้งในด้านสีและรสชาติการย่อยสลายด้วยกรด ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มและมีกลิ่นรสเนื้อหรือคาวน้อยกว่า โดย HP ที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายที่แตกต่างกันมีสารหอมระเหยที่ให้กลิ่นหลักแตกต่างกัน (Olsman, 1979; Weir, 1992; Aslang *et al*., 1998)

โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนและอนุพันธ์ของกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไทโรซีน เมทไธโอนีน ไกลซีน ซีสเตอีน ทริปโตเฟน ไลซีน อาร์จีนีน ลิงซีน วาลีน ฯ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อมีกรดอะมิโนเหล่านี้ในปริมาณสูง จึงเกิดสมบัติเป็นสาร pro-oxidants (Marcuse, 1960)

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซท

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยทั่วไปมี 2 รูปแบบคือใช้เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการหรือเป็นแหล่งโปรตีนใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวในอาหารและใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร มีการศึกษาหาแหล่งโปรตีนและพลังงานหลายชนิดมาใช้เลี้ยงลูกสัตว์หรือใช้ทดแทนนมแม่บางส่วน Dadsworth and Owen (1977) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของลูกวัวที่ได้รับ fish protein hydrolysate ทดแทน 0% และ 57% ไม่แตกต่างกัน สามารถใช้ fish protein hydrolysate ทดแทนหางนมที่ใช้เลี้ยงลูกวัวได้ถึง 57% โดยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกวัว ซึ่งเป็นการประหยัดค่าอาหารสัตว์ลงได้ เพราะ fish protein hydrolysate มีราคาถูกกว่าหางนมผง Neir and Gopakumar (1982) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตจากปลาราคาถูกและวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปปลาทะเลของประเทศอินเดีย โดยย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่าถ้าให้เฉพาะโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้เพียงอย่างเดียวทำให้หนูท้องเสีย แต่ถ้าใช้โปรตีนไอโดรไลเซทร่วมกับเคซีน อัตราการเจริญเติบโตจะสูงเท่ากับการให้เคซีนเป็นอาหารเพียงอย่างเดียว ส่วน Letske and Konrad (1988) เตรียมสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากไก่โดยการบดไก่ให้ละเอียดจากนั้นนำมาละลายน้ำให้มีโปรตีนในสารละลาย 3-10% โดยน้ำหนักย่อยสลายด้วย serine protease ที่pH 8 อุณหภูมิ 40-70 °C พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ไม่มีรสขม มีความสามารถในการละลายสูงให้กลิ่นรสดี ใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในซุปซอสและขนมขบเคี้ยวได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ

2. เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีของน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทและอาหารปลาที่ผลิตจากน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซท

3. เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณต่างกัน

4. เพื่อเปรียบเทียบสมบัติทางเคมี การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา องค์ประกอบเลือดและต้นทุนอาหารต่อหน่วยผลผลิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณต่างกันกับสูตรอาหารเปรียบเทียบ (อาหารสำเร็จรูป)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ

2. ทราบสมบัติทางเคมีของน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทและอาหารปลาที่ผลิตจากน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซท

3. ทราบการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณต่างกัน

4. ทราบสมบัติทางเคมี การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา องค์ประกอบเลือดและต้นทุนอาหารต่อหน่วยผลผลิตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในปริมาณต่างกันกับสูตรอาหารเปรียบเทียบ (อาหารสำเร็จรูป)

5. ได้แนวทางในการผลิตอาหารปลาโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญ นำไปสู่การวางแผนจัดการผลผลิตตามแนวทางการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ต่อไป

6. เพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือทางการประมงให้มีศักยภาพ นำไปพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนได้

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาด้วยกรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ)

1. ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการย่อยสลาย : ผสมน้ำนึ่งปลา จำนวน 100 มิลลิลิตรกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาณต่างกัน คือ ร้อยละ 10, 15, 20 และ 25 โดยปริมาตร ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) ใช้ความเร็ว 125 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยา ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 6 โมลาร์

ตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกต่างกัน 4 ระดับ (10, 15, 20, 25%) และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย 2 ระดับ (50 และ 60 องศาเซลเซียส)

อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย ใช้ต่างกัน 2 ระดับ ได้แก่ 50 และ 60 องศาเซลเซียส มีเกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ค่า pH ตามวิธีของ Scopes (1987) วัดปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง โดยใช้การวิเคราะห์ ด้วยวิธีการของ Lowry *et al*., (1951) และคำนวณค่า DH (ภาพผนวกที่ 1-3)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 4x2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ทดลองสองซ้ำ จากนั้นจึงคัดเลือกน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซท มีเกณฑ์ที่ใช้คือค่าโปรตีนดีที่สุด มาทำให้เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้น ตามวิธีการในข้อ 2. เพื่อนำไปศึกษาสมบัติทางเคมี และกรดอะมิโน

2. การทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น

ศึกษาการทำให้เข้มข้นโดยเตรียมตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซท ตามสภาวะที่ดีที่สุด ที่สรุปได้จากข้อ 1. ระเหยน้ำออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (vacuum rotary evaporator) ที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที จนผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเข้มข้น 55 Brix นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ตามวิธีการในข้อ 3. และเตรียมนำไปใช้ในการผลิตอาหารปลา

3. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นในน้ำนึ่งปลา

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นที่ผลิต เพื่อคัดเลือกสภาวะดีที่สุด (ภาพผนวกที่ 4-5) ที่สรุปได้จากข้อ 1. ดังนี้

1) โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 2000)

2) ไขมัน โดยวิธี Soxhlet extraction method (AOAC, 2000)

3) เถ้า โดยวิธี dry ashing method (AOAC, 2000)

4) ความชื้น โดยวิธี Loss on drying at 135°C (AOAC, 2000)

5) ปริมาณเกลือ (% NaCl) ใช้การไตเตรทกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (AOAC, 1990)

6) คัดเลือกตัวอย่างที่ดีที่สุดส่งวิเคราะห์หาชนิดของกรดอะมิโน (Amino acid profile) ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ชนิด HPLC ณ ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา

การใช้ประโยชน์น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ด้วยการนำไปผลิตอาหารเลี้ยงปลานิล

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยศึกษาระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารปลานิล ที่ต่างกัน 6 ระดับคือ ร้อยละ 0, 10, 20, 30, 40, และ 50 และมีชุดการทดลองที่ใช้อาหารเม็ดปลานิลสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำ ที่มีขายตามท้องตลาดเป็นชุดการทดลองเปรียบเทียบ ดังนั้น มีชุดการทดลองทั้งสิ้น 7 ชุดการทดลอง (7 สูตรอาหาร) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 สูตรอาหารที่ไม่ใช้น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซท (สูตรควบคุม)
ชุดการทดลองที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้น้ำนึ่งที่ผ่านการไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นร้อยละ 10
ชุดการทดลองที่ 3 สูตรอาหารที่ใช้น้ำนึ่งที่ผ่านการไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นร้อยละ 20
ชุดการทดลองที่ 4 สูตรอาหารที่ใช้น้ำนึ่งที่ผ่านการไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นร้อยละ 30
ชุดการทดลองที่ 5 สูตรอาหารที่ใช้น้ำนึ่งที่ผ่านการไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นร้อยละ 40
ชุดการทดลองที่ 6 สูตรอาหารที่ใช้น้ำนึ่งที่ผ่านการไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นร้อยละ 50
ชุดการทดลองที่ 7 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลานิล

การเตรียมระบบเลี้ยง

ทำการทดลองเลี้ยงในถังพลาสติกทรงกลมขนาด 500 ลิตร จำนวน 21 ใบ ตามชุดการทดลอง ใส่น้ำจืดที่ผ่านระบบการกรอง ในถังปริมาตร 300 ลิตร ซึ่งถังแต่ละถังจะมีระบบกรองน้ำแบบหมุนเวียนผ่านระบบกรอง ทำการเปลี่ยนน้ำเมื่อคุณภาพน้ำในถังไม่เหมาะสม (ภาพผนวกที่ 7)

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ ทดลองใช้ปลานิล ขนาดประมาณ 3-5 นิ้ว โดยก่อนเริ่มทำการทดลองจะนำลูกปลามาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาดความจุน้ำ 4 ตัน (1 x 4 x 1 เมตร) ให้อาหารสมทบ (สูตรควบคุม) ที่จะใช้เลี้ยงวันละ 2 ครั้ง จนกระทั่งลูกปลาคุ้นชินกับอาหารเม็ด เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้น จึงสุ่มลูกปลาลงเลี้ยงในถังทดลอง จำนวน 30 ตัว/ถัง ทำการชั่งหาน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นของปลานิลทดลอง (ภาพผนวกที่ 7)

การเตรียมอาหารทดลอง

นำน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซท และวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารที่ผ่านการบดละเอียดแล้ว มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีการของ AOAC. (2000) เพื่อนำค่าที่ได้มาสร้างเป็นสูตรอาหารทดลอง (ตารางที่ 1 และ 2) อาหารทดลองที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซททั้ง 6 สูตรนั้น ใช้วิธีการแทนที่โปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารตามระดับที่กำหนดไว้ กำหนดให้มีระดับโปรตีน และพลังงานเท่ากันทุกชุดการทดลอง โดยให้มีระดับโปรตีนร้อยละ 30 (ตามรายงานของ นิรุทธิ์, 2544) ไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 และระดับพลังงานที่ย่อยได้ในอาหาร (DE) ในสูตรอาหาร ไม่ต่ำกว่า 3,300 Kcal/kg ค่าพลังงานที่ย่อยได้ในอาหารคำนวณโดยใช้ค่าต่าง ๆ ประยุกต์มาจากรายงานของ Stickney (1979) อาหารทดลองทั้ง 6 สูตร ใช้วัตถุดิบ ปลาป่น กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลายข้าว น้ำมันปลา น้ำมัน

พืช วิตามิน แร่ธาตุผสม และ สารเหนียว ผสมกับน้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทในอาหารเหมือนกันทุกสูตร แต่มีปริมาณแตกต่างกันตามชุดการทดลอง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารปลานิล

วัตถุดิบ	โปรตีน	ไขมัน	ความชื้น	เถ้า	เยื่อใย
ปลาป่น	57.11	7.97	5.31	17.43	-
กากถั่วเหลือง	46.01	1.32	8.99	7.35	7.43
น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท	30.60	12.45	50.60	6.11	-
ข้าวโพด	7.36	4.72	8.95	2.62	2.2
ปลายข้าว	6.75	0.27	12.59	0.38	0.51
รำละเอียด	13.5	14.62	7.61	7.4	6.71

หมายเหตุ : ราคาวัตถุดิบอาหารต่อ 1 กก. : ปลาป่น 32 บาท, รำละเอียด 10.50 บาท, กากถั่วเหลือง 15 บาท, น้ำนึ่งปลา 18 บาท, ปลายข้าว 10 บาท, ข้าวโพด 9.20 บาท, แอลฟา–สตาร์ช 35 บาท, น้ำมันปลา 20 บาท, น้ำมันพืช 40 บาท, วิตามินรวม 90 บาท, premix 70 บาท

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลอง (สูตรที่ 1 – 6) เตรียมเป็นอาหารเม็ดจมน้ำ (sinking pellet feed) เตรียมอาหารเพียงครั้งเดียวตลอดการทดลองเพื่อให้มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่มาจากการผลิตครั้งเดียวกัน และคุณภาพเหมือนกันในทุกสูตรอาหาร ตลอดจนป้องกันไม่ใช้น้ำนึ่งปลาเสื่อมเสียจากการเก็บรักษา เนื่องจากน้ำนึ่งปลาจากโรงงานแปรรูปสัตว์น้ำไม่ได้มีการใส่สารป้องกันเชื้อรา

นำวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารที่ผ่านการบดละเอียดแล้ว ชั่งให้ได้น้ำหนักตามที่คำนวณไว้ในแต่ละสูตร รวมทั้งวัตถุดิบที่เป็นของเหลว เช่น น้ำมัน โดยนำวัตถุแห้งทั้งหมดมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงเติมส่วนของเหลวและน้ำมันพืชลงไปทีละน้อย และเปิดเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 5 นาที แล้วค่อย ๆ เติมน้ำสะอาด เปิดเครื่องผสมอีกครั้ง เมื่อวัตถุดิบอาหารผสมเข้ากันเป็นอย่างดี จึงนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารที่มีหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-6 มิลลิเมตร (หรือตามขนาดของปากปลานิล) จากนั้นนำอาหารเม็ดไปอบแห้งในตู้อบอาหารที่ควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง (ภาพผนวกที่ 6) นำอาหารที่อบแห้งแล้วออกมาผึ่งลมวางให้เย็น อาหารที่ผลิตแล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธีลีน และบรรจุซ้ำในถุงสีดำเพื่อป้องกันแสง เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปใช้ทดลอง

นำอาหารทุกสูตรมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และความชื้น ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตร 100 – (ความชื้น + โปรตีน + ไขมัน + เถ้า + เยื่อใย) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 สูตรอาหารปลานิลทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท

วัตถุดิบ	ระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร (%)					
	0	10	20	30	40	50
ปลาป่น	25.00	22.44	19.88	17.32	14.75	12.19
กากถั่วเหลือง	28.06	28.14	28.27	28.35	28.45	28.53
รำละเอียด	11.48	11.45	11.41	11.38	11.35	11.32
ปลายข้าว	11.48	11.45	11.41	11.38	11.35	11.32
ข้าวโพด	11.48	11.45	11.41	11.38	11.35	11.32
น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท	0.00	2.56	5.12	7.68	10.25	12.81
น้ำมันปลา	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
น้ำมันพืช	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
premix	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
วิตามินรวม	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
อัลฟาสตาร์ช	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
รวม	100	100	100	100	100	100
% โปรตีน	30	30	30	30	30	30
% ไขมัน	8.21	8.44	8.67	8.89	9.13	9.35
DE (Kcal/kg)	2551.10	2561.00	2570.90	2580.80	2590.70	2600.60
GE (Kcal/kg)	3308.40	3316.60	3324.70	3332.80	3341.00	3349.20
ต้นทุน/กก (บาท)	22.00	21.59	21.19	20.79	20.39	19.99

หมายเหตุ : * Premix (สารผสมล่วงหน้า) ประกอบด้วยวิตามินและแร่ธาตุในปริมาณ/อาหาร 1 กก.ดังนี้ vitamin A 1,000 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม; vitamin D_3 250 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม; vitamin E 5 หน่วยสากลต่อมิลลิกรัม; vitamin B_1 2,000 มิลลิกรัม; vitamin B_2 800 มิลลิกรัม; vitamin B_6 2,000 มิลลิกรัม; vitamin B_{12} 1 มิลลิกรัม; vitamin C 10,000 มิลลิกรัม; panthothenic acid 300 มิลลิกรัม; nicotinic acid 5,000 มิลลิกรัม; folic acid 200 มิลลิกรัม; biotin 2 มิลลิกรัม; iron 500 มิลลิกรัม; zinc 7,000 มิลลิกรัม; manganese 800 มิลลิกรัม; selenium 10 มิลลิกรัม; lysine 15,000 มิลลิกรัม; methionine 3,000 มิลลิกรัม

การเลี้ยงและการเก็บรวบรวมข้อมูล

อาหารและการให้อาหาร

ให้อาหารปลานิลทั้ง 7 สูตร เลี้ยงปลาในถังทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) ไม่เกิน 10% ของน้ำหนักตัว ในช่วงเวลาประมาณ 08.00 น. และ 16.00 น. ให้จนปลากินอิ่ม (Satiation) เท่านั้น สังเกตจากการที่ปลาไม่กินอาหาร เพื่อให้ปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงได้ค่าใกล้เคียงความเป็นจริง บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลากิน เพื่อใช้คำนวณหาค่าอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ต่อไป (ภาพผนวกที่ 7)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลานิลทดลอง (ค่าเฉลี่ย ± SD)

สูตรอาหาร	Percent on dry matter basis					
	Protein	Fat	Moisture	Ash	Crude fiber	NFE
1 (0%)	29.92±0.03	6.77±0.02	8.33±0.03	11.92±0.02	1.04±0.01	42.02±0.02
2 (10%)	30.43±0.03	7.27±0.02	8.52±0.03	11.54±0.01	1.08±0.01	41.16±0.03
3 (20%)	29.83±0.03	8.53±0.03	8.32±0.02	10.86±0.02	0.68±0.50	41.78±0.45
4 (30%)	30.42±0.02	8.35±0.04	7.93±0.02	11.32±0.02	1.12±0.01	39.86±0.10
5 (40%)	29.97±0.02	8.55±0.04	8.47±0.03	10.66±0.01	1.12±0.01	41.23±0.07
6 (50%)	30.42±0.02	8.36±0.03	8.13±0.02	10.17±0.02	0.92±0.01	42.00±0.02
7(อาหารเม็ด)	21.43±0.01	3.55±0.03	9.47±0.02	11.62±0.01	1.78±0.01	52.15±0.04

หมายเหตุ : ในวงเล็บคือ ระดับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากน้ำนึ่งปลา (%)

การศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ทำการสุ่มตัวอย่างปลานิลจากทุกชุดการทดลอง จำนวน 15 ตัว/ถัง เพื่อชั่งน้ำหนักทุกเดือน ตลอดการทดลองเลี้ยง 6 เดือน และนำมาศึกษาการเจริญเติบโต (ในรูปค่าเฉลี่ยของข้อมูล) ของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate: FCR) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR, % ต่อวัน) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (weight gain, %) อัตรารอดตาย (survival rate, %) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

น้ำหนักปลาทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักปลาทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเริ่มต้น

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR, % ต่อวัน)

$$= \frac{(\ln \text{ น.น. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น.น. ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \times 100$$

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, %)

$$= \frac{(\text{น.น. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

$$\text{อัตรารอดตาย (survival rate, \%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

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

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการสุ่มเก็บตัวอย่างปลานิล โดยเก็บเนื้อเยื่อตับจากตัวอย่างปลานิลของทุกชุดการทดลองๆ ละ 3 ตัว มาแช่ในสารละลายฟอร์มาลินร้อยละ 10 ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1972) เนื้อเยื่อตับถูกตัดให้มีความหนา 3-4 ไมโครเมตร ย้อมด้วยสี Hematoxylin Eosin (HE) (Bancroft, 1967) จากนั้นนำตัวอย่างไปศึกษาเปรียบเทียบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาพผนวกที่ 9)

การศึกษาค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิล

สุ่มปลานิลจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 5 ตัว มาทำให้สลบด้วยน้ำยา 2-phenoxyethanol เจาะเลือดจากบริเวณโคนหาง (caudal vessel) โดยใช้เอทีลีนไดอะมีนเตตราอะซีติก (EDTA) ร้อยละ 1.0 เคลือบหลอดทดลองเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด (ภาพผนวกที่ 8) เพื่อศึกษาค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิล ได้แก่

ศึกษาองค์ประกอบของเม็ดเลือดปลา (blood-cell component)

1. ฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) โดยใช้วิธี cyanmet-haemoglobin ของ Larsen and Snieszko (1961)
2. ฮีมาโตคริต (Haematocrit) โดยวิธีดัดแปลงจาก Blaxhall and Daisley (1973)
3. จำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว (Blood cell count) นับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว (Blood cell count) ตามวิธีการของ Blaxhall and Daisley (1973)

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดปลา (blood chemistry)

1. ศึกษาโปรตีนในพลาสมา (plasma protein) โดยวิธีดัดแปลงจาก Lowry *et al.* (1951)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการสุ่มตัวอย่างปลานิลจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ตัว มาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า ตามวิธีการ AOAC (1990) (ภาพผนวกที่ 10-11)

การศึกษาต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลานิล (unit feeding cost) โดยสมการ

$$\text{ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กก.)} \times \text{ราคาอาหาร (บาท/กก.)}}{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด (กก.)}}$$

การศึกษาคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุก 2 สัปดาห์ ตลอดการทดลอง โดยดัชนีที่จะใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำประกอบด้วย อุณหภูมิน้ำ วัดด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบปรอท, ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (pH) ด้วย pH meter, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (วัดด้วยเครื่องวัดคุณภาพน้ำแบบดิจิตอล YSI Model 650 MDS),ความเป็นด่างของน้ำ (ด้วยวิธีการไทเทรต), แอมโมเนียรวม และไนไตรท์ (Strickland and Parsons, 1972)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง คือ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) แบบทางเดียว (One Way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง ด้วยวิธี Duncan's New multiple range test: DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

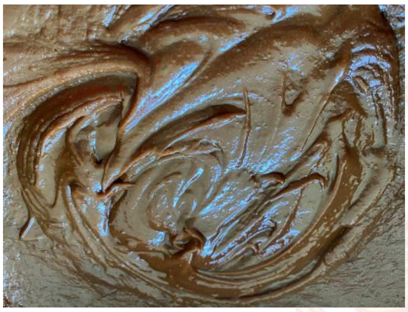
ทำการทดลอง ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในปีงบประมาณ 2564

ผลการวิจัยและอภิปรายผล / วิจารณ์ผล

การทดลองประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ในการผลิตอาหารต้นทุนต่ำเลี้ยงปลานิล มีสูตรอาหารต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ที่ และมีชุดการทดลองที่ใช้อาหารเม็ดปลานิลสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำ (สูตรเปรียบเทียบ) ให้ผลการทดลอง ดังนี้

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรลด้วยกรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ)

จากการนำน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล (ภาพที่ 1 ก) มาผ่านกระบวนการไฮโดรไลซ์ โดยนำมาย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ระดับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 6 โมลาร์ ปริมาตรต่างกัน (ร้อยละ 10, 15, 20, 25) และใช้อุณหภูมิในการย่อยสลายที่ 2 ระดับ (50 และ 60 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนได้เป็นของเหลว (ภาพที่ 1 ข) และนำไปทำให้เข้มข้น (ภาพที่ 1 ค)


(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 1 น้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล **(ก)** น้ำนึ่งปลา **(ข)** น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ **(ค)** โปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้น

นำน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้น จนได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืด มีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำมาวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) แสดงผลในตารางที่ 4 พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาที่ย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกทั้ง 8 สภาวะ มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ค่าที่ปรากฏของทุกตัวอย่างในตารางที่ 4 อยู่ในช่วงระหว่าง 6.20 – 6.95 โดยการเพิ่มปริมาตรของกรดและอุณหภูมิมีผลต่อค่าความเป็นกรดด่างของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ซึ่งจากการทดลองพบว่า การเพิ่มปริมาตรกรดมีผลให้ค่า pH ลดต่ำลง ขณะที่อุณหภูมิที่ใช้มีแนวโน้มการเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น ค่า pH จะลดต่ำลง ซึ่งผลที่ได้อาจเห็นความแตกต่างไม่ชัดเจน เนื่องจากช่วงอุณหภูมิที่ทำการทดลองไม่ห่างกันมากนัก โดยค่าที่ได้แตกต่างจากการทดลองของชณิตา และคณะ (2561) ซึ่งใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่า มีผลให้ค่า pH มีค่าเท่ากับ 5.86 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีการย่อยสลายโปรตีนได้เป็นสายเปปไทด์สั้น หรือกรดอะมิโนซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า pH ของแต่ละสภาวะการย่อยสลายมีค่าแตกต่างกัน โดยค่า pH ที่ลดลงอาจมีผลต่อคุณสมบัติของโปรตีน

ไฮโดรไลเซท เช่น การปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำจากการลดพื้นที่ผิวของเปปไทด์โมเลกุลที่ชอบน้ำ (Babiker *et al*., 1996)

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซ์น้ำนึ่งปลา

กรดไฮโดรคลอริก (6 โมลาร์) ร้อยละ	อุณหภูมิย่อยสลาย (°C)	ค่า pH (หลังการไฮโดรไลซ์)	ค่า pH (หลังทำให้เข้มข้น)
10	50	6.95 ± 0.03^{a}	6.83 ± 0.03^{bc}
15	50	6.81 ± 0.01^{bc}	6.84 ± 0.01^{b}
20	50	6.77 ± 0.03^{cd}	6.81 ± 0.01^{cd}
25	50	6.54 ± 0.02^{e}	6.79 ± 0.01^{d}
10	60	6.82 ± 0.04^{b}	6.93 ± 0.01^{a}
15	60	6.79 ± 0.01^{bc}	6.80 ± 0.02^{d}
20	60	6.74 ± 0.01^{d}	6.80 ± 0.02^{cd}
25	60	6.20 ± 0.01^{f}	6.79 ± 0.02^{d}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan’s multiple test (DMRT)

ระดับการย่อยสลาย (Degree of hydrolysis, %DH) ของน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล

พบว่า ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก และอุณหภูมิที่ใช้ มีอิทธิพลต่อระดับการย่อยสลาย โดยผลการทดลอง (ตารางที่ 5) แสดงให้เห็นว่าระดับการย่อยสลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ โดยที่ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกตั้งแต่ 15 -25 มิลลิลิตร ทั้งอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ระดับการย่อยสลายสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) มีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 46.36 – 49.20 โดย Greenberg and Ship (1979) รายงานว่าการวัดปริมาณของการไฮโดรไลซ์โปรตีน เป็นการแสดงถึงจำนวนพันธะที่ถูกทำลายระหว่างปฏิกิริยา จึงต้องกำหนดค่าที่ใช้บ่งบอกความก้าวหน้า ในรูปของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) เทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในวัตถุดิบ ดังนั้นระดับของการไฮโดรไลซ์จึงบ่งบอกถึงร้อยละของพันธะเปปไทด์ที่ถูกทำลาย เทียบกับเปปไทด์ที่มีอยู่เดิมในวัตถุดิบ ถ้าค่าระดับการย่อยสลายสูงแสดงว่าโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์จนได้เปปไทด์สายสั้น และกรดอะมิโนอิสระจำนวนมาก Adler-Nissen (1986) รายงานว่าความยาวของสายเปปไทด์ เป็นจำนวนเฉลี่ยของกรดอะมิโนในโพลีเปปไทด์สามารถคำนวณได้จากระดับการย่อยสลาย (DH) กล่าวคือ ความยาวของพันธะเปปไทด์เท่ากับ 100/DH ถ้าระดับการย่อยสลายสูง สายเปปไทด์จะสั้นลง นั่นคือ โปรตีนถูกย่อยสลายเป็นเปปไทด์สายสั้นๆ

ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ (soluble protein)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล (ตารางที่ 5) พบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระดับการใช้กรดไฮโดรคลอริก 6M ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทั้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 19.74 – 19.88 มก./มล.

เมื่อใช้ปริมาณกรดเพิ่มขึ้น กลับมีผลต่อการลดลงของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ โดยสภาวะที่มีปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้สูงสุด เท่ากับ 19.88 มก./มล. ได้แก่ ที่ระดับการใช้กรดไฮโดรคลอริก 6M ปริมาณ 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส รองลงมา ได้แก่ ระดับการใช้กรดไฮโรคลอริก 6M ปริมาณ 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 19.74 มก./มล. ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากการใช้อุณหภูมิสูงส่งผลต่อการทำลายกรดอะมิโนบางชนิด จึงทำให้การคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสม ต้องพิจารณาจาก 2 ปัจจัยดังกล่าวข้างต้น ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการเพิ่มปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกและการใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม สามารถย่อยโปรตีนให้เป็นเปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงได้ ส่งผลต่อคุณสมบัติในการละลายน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทในน้ำนึ่งปลามีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 5 ระดับย่อยสลายและปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ ในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทเข้มข้น

ปริมาณความเข้มข้น (%)	อุณหภูมิการย่อยสลาย (°C)	ระดับย่อยสลาย (% DH)	ปริมาณโปรตีนวิธี Lowry (mg/ml)
10	50	44.11±2.44^{ab}	17.36±1.91^{bcd}
15	50	47.44±0.06^{a}	19.88±1.15^{a}
20	50	47.49±0.51^{a}	16.08±0.93^{cd}
25	50	48.48±2.62^{a}	15.43±1.23^{d}
10	60	44.52±3.85^{ab}	19.59±1.03^{ab}
15	60	46.36±3.92^{a}	19.74±1.74^{ab}
20	60	46.47±4.82^{a}	18.29±1.16^{abc}
25	60	49.20±3.72^{a}	18.09±0.50^{abc}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลา

องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ที่ทำการย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่สภาวะต่างกัน 8 สภาวะ ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าปริมาณความชื้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าระหว่างร้อยละ 41.93-43.80 ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

ปริมาณโปรตีนของน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้กรดและระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย โดยปริมาณโปรตีนจะค่อยๆ เพิ่มตามปริมาณการใช้กรด จนถึงระดับการใช้กรดที่ปริมาตร 25 มล. ปริมาณโปรตีนจะเริ่มลดลง ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ย่อยสลายที่ 60 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ระดับ 50 องศาเซลเซียส จึงทำให้สภาวะของการใช้กรดไฮโดรคลอริกย่อยน้ำนึ่งปลาด้วยปริมาตร 20 มล. อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 41.99 รองลงมา ได้แก่ การใช้กรดปริมาตร 15 มล. อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส, การใช้กรดปริมาตร 15 มล. อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส, การใช้กรดปริมาตร 20 มล. อุณหภูมิ 50

องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับร้อยละ 41.43, 39.82, 39.13 ตามลำดับ ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่ทั้งนี้ในการคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุด เพื่อนำน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ไปใช้เป็นวัตถุดิบผลิตอาหารปลาต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายด้านโดยเฉพาะความปลอดภัย จึงได้ทำการคัดเลือกสภาวะที่ใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาณน้อยที่สุด และใช้อุณหภูมิต่ำ เพื่อลดผลจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีในโปรตีนจนอาจก่อให้เกิดสารพิษกับสัตว์น้ำ จึงเลือกใช้สภาวะที่เหมาะสมจากปริมาณองค์ประกอบโปรตีนและปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำประกอบการตัดสินใจ และได้คัดเลือกใช้สภาวะของกรดไฮโดรคลอริกปริมาณ 15 มล. อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทตลอดการเลี้ยงปลานิลทดลอง

ปริมาณไขมันในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้กรด และอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย โดยปริมาณไขมันในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ใช้กรดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ทั้งอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จะให้ค่าต่ำสุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 3.07 และ 4.94 ตามลำดับ ทำให้สภาวะของการใช้กรดไฮโดรคลอริกย่อยน้ำนึ่งปลาด้วยปริมาตร 25 มิลลิลิตร ให้ค่าปริมาณไขมันสูงสุด อยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 6.28-6.32 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้น้ำนึ่งปลาที่ใช้ได้มาจากปลาแมคเคอเรล ซึ่งมีคำแนะนำในการเลือกชนิดปลาในการทำไฮโดรไลเซทว่าควรเลือกปลาที่มีไขมันต่ำเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) แต่ปลาและเศษเหลือของปลาที่มีการใช้ประโยชน์อย่างไม่คุ้มค่ามักเป็นชนิดที่มีไขมันสูง เช่น ปลาแฮรริ่ง ปลาซาร์ดีน และปลาแมคเคอเรล ส่งผลให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ผลิตได้มีไขมันสูงเช่นกันแต่สามารถแยกออกในขั้นตอนของการปั่นเหวี่ยง (Unido, 1990)

ปริมาณเถ้าในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้กรด โดยปริมาณเถ้าในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ใช้กรดปริมาณ 25 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จะให้ค่าสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 11.66 และ 11.96 ตามลำดับ ทำให้สภาวะของการใช้กรดไฮโดรคลอริกย่อยน้ำนึ่งปลาด้วยปริมาตร 25 มิลลิลิตร ให้ค่าปริมาณเถ้าสูงสุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองที่ได้ต่างจาก สุณิสา (2561) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือส่วนหัวและหนังของปลาดุกบิ๊กอุยสดด้วยเอนไซม์ พบว่าปริมาณเถ้าของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ทุกอัตราส่วนของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต แต่มีปริมาณสูงกว่าที่พบในเศษเหลือปลาสด

ปริมาณเกลือในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้กรด โดยปริมาณเกลือในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ใช้กรดปริมาณ 25 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จะให้ค่าสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 28.13 และ 28.83 ตามลำดับส่วนที่ระดับการใช้กรดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ให้ค่าปริมาณเกลือต่ำที่สุด มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 18.75 - 21.03 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P<0.05) และให้ค่าที่สูงกว่ารายงานของปิยนุช (2556) ซึ่งใช้กรดเข้มข้น 3 และ 6 นอร์มัล ย่อยสลายกากถั่วเขียวและกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน นาน 8 ชั่วโมง พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่วเขียวสกัดน้ำมัน มีค่าอะมิโนไนโตรเจนร้อยละ 32.05 และ 35.23 มีปริมาณเกลือร้อยละ 17.05 และ 23.01 ตามลำดับ ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน มีค่าอะมิโนไนโตรเจนร้อยละ 38.66 และ 41.62 มีปริมาณเกลือร้อยละ 20.24 และ 21.43 ตามลำดับ (Aaslung *et al*., 1998) โดยปริมาณเกลือเกิดจากการปรับพีเอชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5

โมลาร์ กรดถูกกำจัดไปในรูปของเกลือและน้ำ จึงทำให้เกิดรสเค็ม แต่การปรับให้มีค่า pH 5.5 -6.2 จะเป็นช่วงที่มีความปลอดภัยในการนำไปบริโภค ดังนั้นหากโปรตีนไฮโดรไลเซทมีความเป็นกรดมาก จำเป็นต้องเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในปริมาณมาก เพื่อให้ค่าของpH อยู่ในช่วงที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (วิเชียร, 2534)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรล ที่ทำการย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่สภาวะต่างกัน 8 สภาวะ ซึ่งน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ทำการคัดเลือกมาใช้ในการผลิตอาหารได้แก่ การใช้กรดปริมาตร 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีค่าองค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และปริมาณเกลือ เท่ากับร้อยละ 39.82, 4.64, 9.49 และ 22.12 ตามลำดับ แม้ว่าจะให้ค่าต่ำกว่าการทดลองของ ชณิตา และคณะ (2561) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อค่าระดับการย่อยสลายและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากน้ำนึ่งปลาทูน่า ซึ่งให้ค่า pH เท่ากับ 5.86 ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าเท่ากับร้อยละ 27.14, 53.25, 0.32 และ 19.28 ตามลำดับ แต่การทดลองครั้งนี้เป็นการใช้กรดไฮโรคลอริกที่สามารถลดต้นทุนการผลิตได้ แสดงให้เห็นว่าน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรลเข้มข้นเป็นแหล่งที่ดีของสารอาหาร เช่นเดียวกับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4-6 นอร์มัล ภายใต้ความดันปกติหรือความดันสูง จนโปรตีนถูกไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์ จะได้ผลิตภัณฑ์มีสีน้ำตาลและมีกลิ่นหอม (Grace, 1974) สามารถพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าได้

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นในน้ำนึ่งปลา

ความเข้มข้น (%)	อุณหภูมิย่อยสลาย (°C)	ความชื้น (%)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	ปริมาณเกลือ (%)
10	50	42.89±0.04[a]	28.54±5.68[d]	3.07±0.16[c]	8.66±0.42[e]	21.03±0.49[c]
15	50	43.15±0.20[a]	39.82±0.31[ab]	4.64±0.31[b]	9.49±0.23[d]	22.12±0.58[c]
20	50	43.80±0.18[a]	39.13±1.64[ab]	4.70±0.22[b]	10.42±0.24[c]	24.51±0.56[b]
25	50	42.74±1.00[a]	37.26±0.43[b]	6.28±0.17[a]	11.61±0.38[a]	28.13±0.71[a]
10	60	41.93±1.19[ab]	32.96±1.47[c]	4.94±0.10[b]	8.33±0.25[e]	18.75±0.40[d]
15	60	42.66±2.09[a]	41.43±1.06[ab]	6.11±0.06[a]	9.55±0.06[d]	22.03±0.81[c]
20	60	42.37±0.48[ab]	41.99±1.00[a]	6.32±0.12[a]	10.93±0.17[b]	25.31±0.71[b]
25	60	43.15±0.52[a]	39.67±0.10[ab]	6.27±0.26[a]	11.96±0.22[a]	28.83±0.70[a]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน

องค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acid profile) ที่ได้จากสภาวะการใช้กรดไฮโดรคลอริก 6M ปริมาตร 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่ดีที่สุดที่ใช้คัดเลือกมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารปลานิล แสดงในตารางที่ 7 พบว่า จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในน้ำนึ่งปลา และน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น (EAA) ในน้ำนึ่งปลา รวมเท่ากับ

12.40 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง กรดอะมิโนไม่จำเป็นรวมเท่ากับ 13.13 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง ขณะที่น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น (EAA) รวมเท่ากับ 13.43 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง กรดอะมิโนไม่จำเป็น รวมมีปริมาณ 16.18 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำนึ่งปลาและน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท จะพบว่า กรดอะมิโนในน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทมีปริมาณสูงกว่าในน้ำนึ่งปลา มีปริมาณกรดอะมิโนรวม เท่ากับ 33.51 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง จัดอยู่ในกลุ่มกรดอะมิโนจำเป็น จำนวน 9 ชนิด โดยกรดอะมิโนที่พบในปริมาณสูง ได้แก่ อาร์จินีน กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก และไลซีน ตามลำดับ ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีผลต่อการนำไปผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท เพราะผลการวิเคราะห์ได้ค่าปริมาณสูง และไม่พบกรดอะมิโนทริปโตเฟน ทั้งนี้กรดอะมิโนหลายชนิดมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นกว่าปริมาณที่มีในน้ำนึ่งปลาก่อนการผ่านกรรมวิธีไฮโดรไลเซท โดยเฉพาะกรดอะมิโนอาร์จินีนและกรดกลูตามิก การทดลองบ่งชี้ว่า น้ำนึ่งปลาที่ได้ภายหลังการไฮโดรไลซ์ ส่งผลต่อการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการที่ดีเหมาะในการนำไปใช้ผลิตอาหารปลานิล เป็นที่น่าสังเกตว่าตัวอย่างที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ไม่ว่าจะใช้กรด หรือเอนไซม์ พบปริมาณกรดอะมิโนกลูตามิกสูง เช่นเดียวกับรายงานของแพรวไพลิน (2552) พบว่า สารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ด ย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลน สกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง มีกรดอะมิโน 17 ชนิด โดยมีกรดกลูตามิกสูงที่สุด ซึ่งการใช้สารละลายกรดในการย่อยโปรตีนเป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนต่ำ สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็ว (พชร, 2559) แต่เป็นกระบวนการที่ค่อนข้างรุนแรง และควบคุมได้ยาก สารละลายกรดที่นิยมใช้ คือ กรดไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟูริก ที่การใช้กรดมีผลต่อกรดอะมิโนทริปโตเฟนจะถูกทำลายทั้งหมด

ตารางที่ 7 ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างน้ำนึ่งปลาและน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท

Amino acid	น้ำนึ่งปลา (กรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง)	น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท (กรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง)
Essential amino acids (EAA)		
Arginine	3.61	4.28
Histidine	1.16	1.27
Isoleucine	0.64	0.76
Leucine	1.20	1.45
Lysine	2.76	2.82
Methionine	0.69	0.58
Phenylalanine	0.54	0.68
Threonine	0.68	0.79
Tryptophan	0.35	ND
Valine	0.77	0.80
Nonessential amino acids (Non-EAA)		
Alanine	1.77	1.94
Aspartic acid	2.85	3.56
Glutamic acid	3.19	4.50
Glycine	2.60	2.76
Proline	1.55	1.72
Serine	0.77	0.90
Tyrosine	0.40	0.80
Other amino acids		
Cystine	0.01	ND
Cysteine	0.29	0.60
Glutamine	1.45	1.88
Hydroxyproline	0.89	1.09
Hydroxylysine	0.32	0.33
Total amino acid	**28.49**	**33.51**

การเจริญเติบโต

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิล ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 6 เดือน พบว่า ปลานิลจากทุกชุดการทดลอง มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการเลี้ยง (ดังแสดงในตารางที่ 8 ภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ซึ่งเมื่อเริ่มการทดลองปลานิลจากทุกชุดการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เท่ากับ 28.67±2.35 กรัม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งปลานิลเริ่มมีน้ำหนักต่อตัวเฉลี่ยแตกต่างกัน ตั้งแต่เดือนที่ 2 ไปจนกระทั้งสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 6 ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาแต่ละระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลานิล พบว่า ในเดือนที่ 4 ปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (10 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด (152.77±4.41 กรัม) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4, 1, 5, 3, 6 และ 7 ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เท่ากับ 135.32±5.97, 134.09±5.96, 131.75±5.25, 129.48±7.23, 124.97±3.31 และ 99.32±4.28 กรัม ตามลำดับ และปลานิลที่ได้รับอาหารใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นทั้ง 6 สูตรดังกล่าวมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในเดือนที่ 6 พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (10 เปอร์เซ็นต์) ยังคงมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (219.88±2.83 กรัม) สูงกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 1, 4, 5, 6 และ 7 ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 194.15±3.73, 193.67±0.86, 185.42±3.08, 183.38±5.46, 183.06±6.39 และ 115.72±3.73 กรัม ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำที่สุด

จากผลการทดลองครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทระดับต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน ซึ่งระดับการทดแทนน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่เหมาะสมในอาหาร คือที่ระดับ 10 % (สูตรที่ 2) มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด และการเจริญเติบโตของปลาลดลงเมื่อเพิ่มระดับของน้ำนึ่งปลาในสูตรอาหารมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังดีกว่าปลานิลจากชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปจากท้องตลาด

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลอง เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต (%SGR : %/วัน) อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป เป็นระยะเวลา 6 เดือน แสดงดังตารางที่ 9 พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิล ชุดการทดลองที่ใช้อาหารสูตรที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด

(661.57±12.49 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3, 1, 4, 5, 6 และ 7 ซึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น เท่ากับ 600.16±21.29, 587.80±15.09, 554.24±31.69, 531.95±25.95, 516.92±26.42 และ 262.91±25.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรที่กล่าวมา มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 ซึ่งเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูป แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำที่สุด ซึ่งมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 262.91±25.13เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

ผลการวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%SGR : %/วัน) ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 8) โดยชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (1.30±0.06 %/วัน) สูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่ 3, 1, 4, 5, 6 และ 7 ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 1.15±0.04, 1.14±0.05, 1.05±0.05, 1.04±0.03, 1.02±0.11 และ 0.71±0.04 %/วัน ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรที่กล่าวมา มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 ซึ่งอาหารเม็ดสำเร็จรูป แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด เท่ากับ 0.71±0.04 %/วัน (ตารางที่ 9)

อัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่น ในสูตรอาหารระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งมีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 97.78 ± 3.85 – 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ โดยปลานิลที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารสูตรที่ 2, 3, 5 และ 6 มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด (100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์) ส่วนชุดการทดลองสูตรที่ 1, 4 และ 7 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 0 , 30 เปอร์เซ็นต์ และ อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีอัตรารอดตายต่ำที่สุด เท่ากับ 98.89±1.92, 98.89±1.92 และ 97.78±3.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9) สอดคล้องกับการทดลองในปลาสวายเนื้อขาว (เจษฎา และ สุภาวดี, 2553) รายงานว่าการน้ำนึ่งปลาผสมในอาหารระดับต่าง ๆ เลี้ยงปลาปลาสวายเนื้อขาว ไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลา แสดงว่าระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลาทดลอง

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่น (เปอร์เซ็นต์) ในสูตรอาหารระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร มีค่าอยู่ระหว่าง 0.049±0.003 – 0.071±0.001 โดยปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์) มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุด (0.071+0.001) สูงกว่าปลานิลที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารสูตรที่

1, 3, 5, 4, 6 และ 7 ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน เท่ากับ 0.065±0.000, 0.064±0.006, 0.062±0.001, 0.061±0.001, 0.060±0.010 และ 0.049±0.003 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.049+0.003 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1-6 (ตารางที่ 9)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ของการเจริญเติบโตในปลานิลที่ทำการทดลองในทุกสูตรอาหาร พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ทั้งน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงกว่าปลานิลในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารชุดควบคุม ซึ่งไม่มีน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทผสมอยู่เลย และสูงกว่าในชุดการทดลองที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นผสมในอาหาร 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ 7 (อาหารปลานิลสำเร็จรูป) แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีที่สุด นอกจากนี้พบว่า การเจริญเติบโตของปลานิลลดลงเมื่อระดับของน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทในสูตรอาหารมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า สามารถที่จะใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารปลานิลได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ซึ่งจะเป็นระดับที่ปลานิลสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด แต่เมื่อเพิ่มมากขึ้นก็จะส่งผลในทางลบ เป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองใช้น้ำนึ่งปลาจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิล Wattanakul *et al.* (2019) โดยพบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตของปลาสูงที่สุด และเมื่อเพิ่มระดับของการทดแทนสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ และสอดคล้องกับการทดลองใช้น้ำนึ่งปลาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาช่อน Wattanakul *et al.* (2017) รายงานว่า ปลาช่อนที่ได้รับอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตของปลาสูงที่สุด และเมื่อเพิ่มระดับของการทดแทนสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลง และเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองของ เจษฎา และสุภาวดี (2553) โดยใช้น้ำนึ่งปลาจากการผลิตของโรงงานปลาทูน่ากระป๋องเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาสวายเนื้อขาว พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นที่ระดับ 20 % มีการเจริญเติบโตของปลาสูงที่สุด และเมื่อเพิ่มระดับของการทดแทนสูงกว่า 20 % จะส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ สุทิน และ วิชิต (2547) ใช้ตะกอนน้ำนึ่งปลาเป็นวัตถุดิบในอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกลูกผสม 5 ระดับ คือ 0, 5, 10, 15 และ 20% พบว่า ปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารซึ่งมีตะกอนน้ำนึ่งปลา 10% มีการเจริญเติบโตสูงสุดไม่ต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม 0% และเมื่อเพิ่มปริมาณตะกอนน้ำนึ่งปลาในอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 15-20 % จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง แสดงว่าสูตรอาหารที่มีตะกอนน้ำนึ่งปลาในระดับที่ใช้ทดลองนี้มีความสมดุลของสารอาหาร แต่ต้องผสมในอาหารไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์

อาหารปลานิลผสมน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทที่ระดับ 10 % จากผลการทดลองครั้งนี้ เป็นระดับที่ดี และเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ ในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทในสูตรอาหารด้วยกัน และมีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดการทดลองที่ 7 (อาหารสำเร็จรูป) แสดงให้เห็นว่าอาหารสูตรดังกล่าวมีความสมดุลของสัดส่วนของโภชนะในอาหารที่เหมาะสม เช่นระดับโปรตีน ไขมัน และพลังงาน ทำให้ปลามีการเจริญเติบโต และใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ NRC (1993) กล่าวว่า อาหารปลาที่ดีต้องมีสัดส่วนของระดับโปรตีนต่อพลังงานที่เหมาะสม และหากอาหารไม่มีความสมดุลของสัดส่วนของโภชนะ เช่นอาหารที่มีพลังงานน้อยเกินไปทำให้ร่างกายจำเป็นต้องเผาผลาญโปรตีนเพื่อนำไปใช้ในการดำรงชีวิต และอาจไม่เหลือโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต ในทางตรงกันข้ามหากอาหารปลาที่ให้พลังงานมากเกินไป อาจส่งผลให้ปลากินอาหารได้น้อยลง การเจริญเติบโตจึงลดลงด้วย

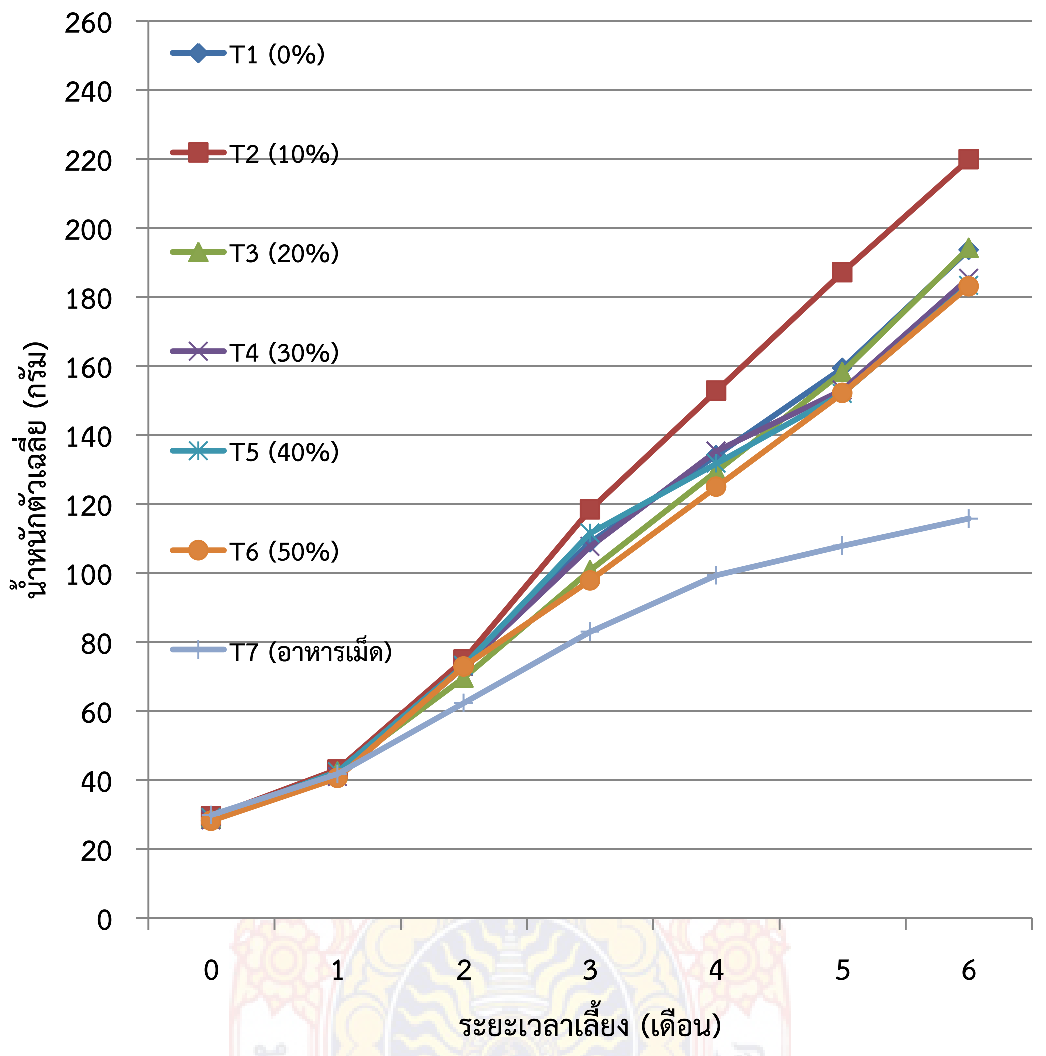
ส่วนอัตราการรอดตายของปลานิลจากทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงว่า ระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารไม่ได้ส่งผลต่ออัตราการรอดตาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับพลังงานที่ปลาได้รับในแต่ละสูตรอาหารมีค่าใกล้เคียงกัน และเหมาะสม สอดคล้องกับการทดลองของ Wattanakul *et al.* (2019) ในปลานิล และในปลาช่อน Wattanakul *et al.* (2017) ซึ่งรายงานว่าการใช้น้ำนึ่งปลาผสมในอาหารเพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ ไม่ได้ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลาทดลอง แสดงว่าระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารจากการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ส่งผลต่ออัตราการรอดตาย

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว หน่วยเป็นกรัม) ของปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน

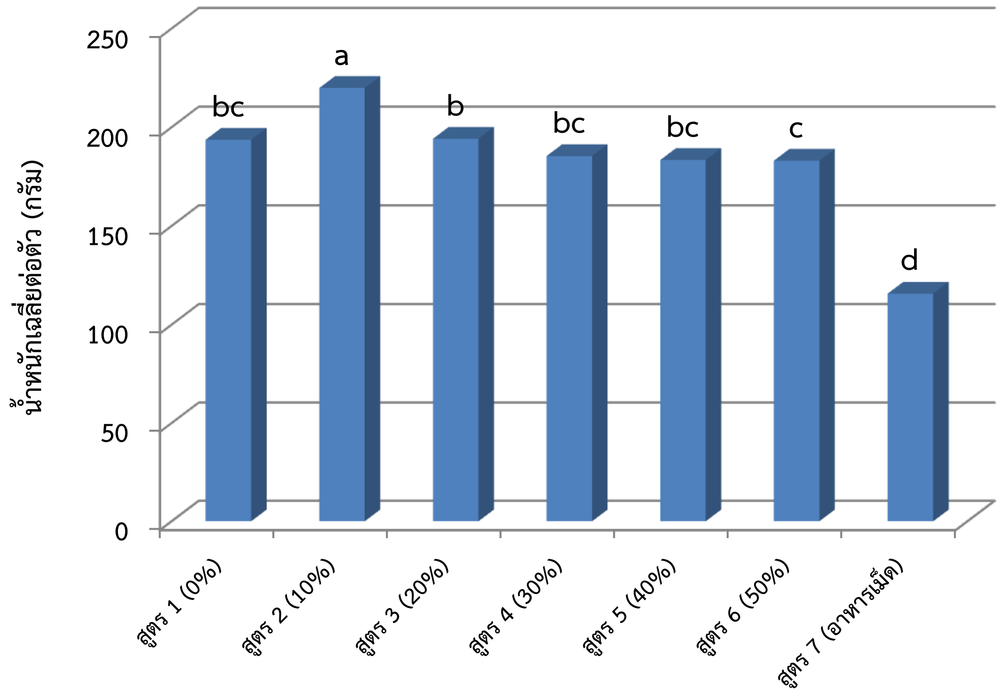
ระยะเวลา	สูตรอาหาร						
(เดือน)	1 (0 %)	2 (10 %)	3 (20 %)	4 (30 %)	5 (40 %)	6 (50 %)	7 (อาหารเม็ด)
เริ่มทดลอง	28.10±1.05[a]	29.40±0.60[a]	28.73±0.93[a]	28.43±1.21[a]	29.03±0.68[a]	28.13±1.19[a]	29.80±1.87[a]
1	42.79±5.34[a]	43.00±4.78[a]	42.38±5.10[a]	40.93±3.48[a]	42.33±4.27[a]	40.52±3.82[a]	41.70±4.37[a]
2	73.88±6.73[a]	74.85±8.90[a]	69.61±9.13[a]	72.83±8.54[a]	73.21±8.37[a]	72.86±4.15[a]	62.30±4.22[b]
3	108.80±4.35[abc]	118.36±6.64[a]	100.76±4.94[bc]	107.61±4.55[abc]	111.49±7.09[ab]	97.82±2.09[c]	82.91±5.78[d]
4	134.09±5.96[b]	152.77±4.41[a]	129.48±7.23[bc]	135.32±5.97[b]	131.75±5.25[b]	124.97±3.31[c]	99.32±4.28[d]
5	159.37±6.79[b]	187.16±6.06[a]	158.20±8.86[b]	153.03±4.81[a]	152.01±2.14[b]	152.12±7.15[b]	107.87±4.89[c]
6	193.67±0.86[bc]	219.88±2.83[a]	194.15±3.73[b]	185.42±3.08[bc]	183.38±5.46[bc]	183.06±6.39[c]	115.72±3.73[d]

หมายเหตุ : - ในวงเล็บ คือระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่น (เปอร์เซ็นต์) ในสูตรอาหาร

- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้อักษร ถ้าอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตโดยน้ำหนัก (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว หน่วยเป็นกรัม) ของปลานิลที่ได้รับอาหาร ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 6 เดือน



ภาพที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ กัน ในเดือนที่ 6 ของการทดลอง

ตารางที่ 9 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน

สูตรอาหาร	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัมต่อตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัมต่อตัว)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน)	อัตราการรอดตาย (%)	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน
1 (0 %)	28.10±1.05^{a}	193.67±0.86^{bc}	587.80±15.09^{bc}	1.14±0.05^{b}	98.89±1.92^{a}	0.065±0.000^{b}
2 (10 %)	29.40±0.60^{a}	219.88±2.83^{a}	661.57±12.49^{a}	1.30±0.06^{a}	100.00±0.00^{a}	0.071±0.001^{a}
3 (20 %)	28.73±0.93^{a}	194.15±3.73^{b}	600.16±21.91^{b}	1.15±0.04^{b}	100.00±0.00^{a}	0.064±0.006^{b}
4 (30 %)	28.43±1.21^{a}	185.42±3.08^{bc}	554.24±31.69^{cd}	1.05±0.05^{bc}	98.89±1.92^{a}	0.061±0.001^{b}
5 (40 %)	29.03±0.68^{a}	183.38±5.46^{bc}	531.95±25.95^{d}	1.04±0.03^{bc}	100.00±0.00^{a}	0.062±0.009^{b}
6 (50 %)	28.13±1.19^{a}	183.06±6.39^{c}	516.92±26.42^{d}	1.02±0.11^{c}	100.00±0.00^{a}	0.060±0.010^{b}
7 (อาหารเม็ด)	29.80±1.87^{a}	115.72±3.73^{d}	262.91±25.13^{e}	0.71±0.04^{d}	97.78±3.85^{a}	0.049±0.003^{c}

<u>หมายเหตุ</u> : - ในวงเล็บ คือระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่น (เปอร์เซ็นต์) ในสูตรอาหาร

- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้อักษร ถ้าอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ราคาอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิต

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ราคาอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิต (น้ำหนักปลา/กก.) ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่น (เปอร์เซ็นต์) ในสูตรอาหารระดับแตกต่างกัน คือ 0, 10, 20, 30, 40, 50 เปอร์เซ็นต์ และ ชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูป เป็นระยะเวลา 6 เดือน แสดงในตารางที่ 10 พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด เท่ากับ 1.44±0.09 ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่ 3, 1, 4, 5, 6 และ 7 ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 1.80±0.10, 1.82±0.16, 1.84±0.17, 1.84±0.26, 1.84±0.30 และ 2.18±0.17 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรที่กล่าวมา มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ต่ำกว่าปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 ซึ่งใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงที่สุด (ตารางที่ 10)

จากการคำนวณราคาค่าอาหารที่นำมาเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารทั้ง 7 สูตร พบว่า สูตรอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น จะทำให้อาหารมีราคาลดลง มีราคาอยู่ระหว่าง 19.99 – 22.00 บาท และราคาอาหารปลานิลที่ผลิตขึ้นในทุกสูตรอาหารมีราคาต่ำกว่าอาหารเม็ดสำเร็จรูปจากท้องตลาดซึ่งมีราคาเท่ากับ 23.00 บาท นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ต้นทุนค่าอาหารสูตรต่าง ๆ ต่อการผลิตปลานิล 1 กิโลกรัม พบว่า มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ($p<0.05$) (ตารางที่ 10) โดยปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนในอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์) มีต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม หรือ การผลิตปลานิลต่อหน่วยต่ำที่สุด เท่ากับ 31.09±0.38 บาทต่อกิโลกรัม ส่วนปลานิลที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตสูงที่สุด เท่ากับ 50.14±1.74 บาทต่อกิโลกรัมสูงกว่ากลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6, 5, 4, 3, และ 1 ซึ่งมีต้นทุนค่าอาหารในการผลิตปลานิลต่อหน่วย เท่ากับ 36.98±0.83, 37.52±1.03, 38.25±1.05, 38.14±0.74 และ 40.04±0.24 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลการทดลองทำให้ทราบว่าสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททำให้อาหารมีราคาต่ำลง เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนผลผลิตปลานิลในกลุ่มที่ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารด้วยกัน และสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ต่ำกว่าปลานิลในชุดการทดลองที่ใช้อาหารสำเร็จรูป (ชุดการทดลองที่ 7) โดยทำให้ต้นทุนค่าอาหารต่อกิโลกรัมลดลง 19.05 บาทต่อกิโลกรัม คิดเป็น 38.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 7 ซึ่งเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เกษตรกรใช้ในการเลี้ยงปลานิล (ตารางที่ 10) กล่าวได้ว่า ราคาอาหารสูตรดังกล่าวนี้ก็ยังมีราคาต่ำกว่าอาหารสำเร็จรูปตามท้องตลาดทั่ว ๆ ไป ทำให้มีผลกำไรมากขึ้น สอดคล้องกับการทดลองใช้น้ำนึ่งปลาในอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกรามของ วัฒนา และคณะ (2557) รายงานว่าต้นทุนค่าอาหารมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาด้านการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ โดยพบว่า สามารถใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ที่ระดับ 40 % ในสูตรอาหาร ซึ่งสามารถลดต้นทุนการผลิต โดยทำให้

ราคาอาหารต่อกิโลกรัมลดลง 13.69 บาท คิดเป็น 38.03 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เกษตรกรใช้ในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

เช่นเดียวกับรายงานของวัฒนาและคณะ (2558) ใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ที่ระดับ 20 % ในสูตรอาหาร สามารถลดต้นทุนการผลิตได้ต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับสูตรอาหารทุกสูตร

จากการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบว่า สามารถใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารเพื่อลดการใช้ปลาป่นสำหรับเลี้ยงปลานิลได้เป็นอย่างดี โดยใช้ในระดับร้อยละ 10 ให้ผลการเจริญเติบโตดีที่สุด และสูงกว่าอาหารเม็ดสำเร็จรูป ลดต้นทุนค่าอาหารได้มากกว่า

ตารางที่ 10 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ราคาค่าอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิตปลานิล ที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร

สูตรอาหาร	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ราคาอาหาร (บาทต่อกิโลกรัม)	ต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักปลา (บาทต่อกิโลกรัม)
1 (0 %)	1.82±0.16[b]	22.00	40.04±0.24[b]
2 (10 %)	1.44±0.09[a]	21.59	31.09±0.38[a]
3 (20 %)	1.80±0.10[b]	21.19	38.14±0.74[b]
4 (30 %)	1.84±0.17[b]	20.79	38.25±1.05[b]
5 (40 %)	1.84±0.26[b]	20.39	37.52±1.03[b]
6 (50 %)	1.85±0.30[b]	19.99	36.98±0.83[b]
7 (อาหารเม็ด)	2.18±0.17[c]	23.00	50.14±1.74[c]

<u>หมายเหตุ</u> : - ในวงเล็บ คือระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร
- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิลทดลอง

การศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ทุกระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร (สูตรอาหารที่ 1 – 6) ตรวจไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพในเซลล์ตับปลานิล และสูตรที่ 7 ที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปจากตลาด โดยพบเซลล์ตับ (hepatocyte) เรียงตัวเป็นระเบียบ มีโครงสร้างปกติ และมีการสะสมอาหารปกติ (ภาพผนวกที่ 65 - 72) สอดคล้องกับ รายงานของ วัฒนา และคณะ (2558) พบว่าเนื้อเยื่อตับของปลานิล ที่การเลี้ยงโดยใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร (0 – 50 เปอร์เซ็นต์) ไม่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติในพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับของปลานิล และรายงานของ วัฒนา และคณะ (2557) ทดลองใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เลี้ยงกุ้งก้ามกรามเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพในเซลล์ตับกุ้งก้ามกรามจากทุก ๆ ชุดของการทดลอง

การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบของเม็ดเลือดปลานิล ได้แก่ ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และองค์ประกอบทางเคมีของเลือด ได้แก่ พลาสมาโปรตีน ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารจำนวน 7 สูตร เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และพลาสมาโปรตีน ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าฮีโมโกลบิน ระหว่าง 6.55 - 6.82 กรัมต่อเดซิลิตร ค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วงร้อยละ 26.10 - 27.86 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอยู่ในช่วง 1.90 - 2.31 $\times 10^6$ เซลล์ต่อไมโครลิตร ปริมาณเม็ดเลือดขาวอยู่ในช่วง 21.82 - 25.19 $\times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร และค่าพลาสมาโปรตีนอยู่ในช่วง 6.87 - 8.23 กรัมเปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 11 เมื่อพิจารณาค่าองค์ประกอบเลือดของปลาที่ทดลอง พบว่า ค่าที่ได้มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของปลาปกติ (Wedemeyer and Yasutake, 1977) ใกล้เคียงกับการทดลองในปลานิลของ นิรุทธิ์ (2544) พบว่า พลาสมาโปรตีนมีค่าเฉลี่ย 9.86 กรัมเปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสูตรอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่ใช้ในการทดลองนี้มีความสมดุลของสารอาหาร ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด

ตารางที่ 11 ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรอาหาร	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	RBC ($\times 10^6$ cell/µl)	WBC ($\times 10^3$ cell/µl)	Plasma protein (g%)
1 (0 %)	6.55±0.62 ^{a}	26.10±2.54 ^{a}	1.90±0.85^a	24.21±3.01 ^{a}	8.23±0.76 ^{a}
2 (10 %)	6.62±0.60 ^{a}	26.24±2.70 ^{a}	2.25±0.52^a	23.15±2.76 ^{a}	7.24±2.01 ^{a}
3 (20 %)	6.59±0.39 ^{a}	26.57±1.33 ^{a}	2.30±0.41^a	21.82±2.67 ^{a}	7.61±1.30 ^{a}
4 (30 %)	6.68±0.67 ^{a}	26.91±3.06 ^{a}	2.27±0.40^a	23.35±3.24 ^{a}	6.87±3.09 ^{a}
5 (40 %)	6.60±0.60 ^{a}	26.48±2.61 ^{a}	2.28±0.61 ^{a}	22.45±3.59 ^{a}	7.69±0.81 ^{a}
6 (50 %)	6.82±0.43 ^{a}	27.67±2.57 ^{a}	2.16±0.45 ^{a}	23.25±2.48 ^{a}	8.04±1.52 ^{a}
7 (อาหารเม็ด)	6.79±0.61 ^{a}	27.86±2.35 ^{a}	2.31±0.53 ^{a}	25.19±3.54 ^{a}	7.76±1.30 ^{a}

<u>หมายเหตุ</u> : - ในวงเล็บ คือระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร
- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารระดับต่าง ๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 6 เดือน แสดงในตารางที่ 12 พบว่า ความชื้นของปลานิลมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารสูตรที่ 4 (ใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 30 เปอร์เซ็นต์) มีค่าความชื้นในเนื้อสูงที่สุด มีค่าเท่ากับร้อยละ 39.09±0.58 รองลงมาคือปลานิลสูตรที่ 6, 7, 3, 1, 5 และ 2 ตามลำดับ โดยค่าความชื้นมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 33.73±0.26 – 39.09±0.58

ระดับโปรตีนในเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 7 สูตร พบว่า หลังการทดลองเลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1, 2, 4 และ 5 มีค่าปริมาณโปรตีนร้อยละ 62.36 - 64.45 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปริมาณโปรตีนในอาหารทดลองสูตร 3, 6 และ 7 โดยระดับโปรตีนในเนื้อมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 58.19 - 61.69 ทั้งนี้ปริมาณโปรตีนในปลานิลทั้งตัว หลังการทดลองมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับสูตรอาหารสำเร็จรูป

ปริมาณไขมัน พบว่า ระดับไขมันในเนื้อปลานิลของสูตรอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารมีค่าต่ำกว่าสูตรเปรียบเทียบที่ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสูตรอาหารที่ 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป) มีระดับไขมันสูงที่สุด มีค่าเท่ากับร้อยละ 3.06±0.12 รองลงมาได้แก่สูตรอาหารที่ 5, 4, 2, 1, 3 และ 6 ตามลำดับ ซึ่งมีระดับไขมันในเนื้ออยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 1.09 – 1.82

สำหรับปริมาณเถ้า พบว่า ระดับเถ้าในเนื้อปลานิลในทุกระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสูตรอาหารที่ 2 (ใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหาร 10 เปอร์เซ็นต์) มีปริมาณเถ้าสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 4.05 รองลงมาได้แก่สูตรอาหารที่ 1, 7, 5, 6, 4 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งมีระดับไขมันในเนื้ออยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 3.27– 3.77 ทั้งนี้ แม้ว่าปริมาณเถ้าในสูตรที่ 2 มีค่าสูงกว่าสูตรที่ 1 (0%) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล ในสูตรที่ 2 ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด พบว่าปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาก็มีค่าสูงกว่า สูตรอาหารสำเร็จรูปเช่นกัน แต่มีข้อดีกว่าคือปริมาณไขมันต่ำกว่า ปริมาณเถ้าสูงกว่า ค่าที่ได้ย่อมบ่งชี้ถึงคุณภาพซากของเนื้อปลานิลที่มีคุณค่าทางสารอาหารที่ดีกว่า

ตารางที่ 12 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิล ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรอาหาร	องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)			
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
1 (0 %)	35.76±0.13^{d}	62.36±1.56^{a}	1.22±0.02^{cd}	3.77±0.24^{ab}
2 (10 %)	33.73±0.26^{e}	63.52±1.91^{a}	1.45±0.13^{c}	4.05±0.26^{a}
3 (20 %)	36.97±0.30^{c}	58.94±1.99^{bc}	1.10±0.03^{d}	3.27±0.07^{c}
4 (30 %)	39.09±0.58^{a}	62.72±0.37^{a}	1.69±0.01^{b}	3.35±0.10^{c}
5 (40 %)	35.07±0.67^{d}	64.45±1.16^{a}	1.82±0.07^{b}	3.48±0.17^{bc}
6 (50 %)	38.32±0.62^{ab}	58.19±2.32^{c}	1.09±0.06^{d}	3.42±0.08^{c}
7 (อาหารเม็ด)	37.67±0.52^{bc}	61.69±1.54^{bc}	3.06±0.12^{a}	3.54±0.13^{bc}

<u>หมายเหตุ</u> : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

คุณภาพน้ำ

ผลคุณภาพน้ำ พบว่า อุณหภูมิของน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 27.32 - 29.24 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ 7.52 - 8.05 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ 5.50 - 6.63 mg/L ความเป็นด่างอยู่

ระหว่าง 105.08 - 110.39 mg/L แอมโมเนีย 0.28 - 0.40 mg/L และไนไตรท์ 0.18 - 0.30 mg/L ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงที่ปลานิลสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติ ซึ่งมีค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองเลี้ยงปลานิล ด้วยอาหารที่มีการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 6 เดือน

ระยะเวลาเลี้ยง (เดือน)	อุณหภูมิ (^{o}C)	ความเป็นกรดเป็นด่าง	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	28.70±0.40	7.61±0.43	6.27±0.50	110.39±1.34	0.28±0.09	0.18±0.09
2	27.32±0.51	7.73±0.58	6.13±0.39	105.08±3.41	0.38±0.04	0.21±0.08
3	27.84±0.36	7.83±0.46	6.63±0.35	107.45±1.53	0.36±0.08	0.23±0.03
4	28.56±0.45	7.81±0.53	6.14±0.37	106.34±1.25	0.35±0.07	0.28±0.01
5	28.07±1.32	7.85±1.05	6.57±0.38	108.22±2.16	0.38±0.06	0.30±0.01
6	29.10±0.64	7.52±0.48	6.39±0.54	109.03±1.59	0.38±0.08	0.25±0.02
7	29.24±0.64	7.92±0.44	5.50±0.32	108.31±2.61	0.39±0.05	0.26±0.02
8	28.35±1.15	8.05±0.36	6.20±0.43	107.48±1.29	0.40±0.04	0.28±0.03

หมายเหตุ : - ในวงเล็บ คือระดับของการใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซตทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหาร

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. จากการย่อยสลายน้ำนึ่งปลาแมคเคอเรลด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าต้องใช้ปริมาณกรดที่ความเข้มข้น 6 M ปริมาตร 15 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะได้ระดับการย่อยและปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำ องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาเหมาะสมที่สุด

2. สามารถใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารสำหรับการเลี้ยงปลานิล ในระดับร้อยละ 10 ซึ่งไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตาย แต่ส่งผลให้มีการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลดีที่สุด

3. การใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารที่ระดับร้อยละ 10 ส่งผลให้ปลานิลมีปริมาณโปรตีนสูง ไขมันต่ำ แต่ไม่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ และองค์ประกอบเลือดของปลา

4. การใช้น้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซททดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารที่ระดับร้อยละ 10 มีความเหมาะสมทั้งในด้านการเจริญเติบโต และด้านเศรษฐศาสตร์ สามารถลดการใช้ปลาป่นในการผลิตอาหารปลา และส่งผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อกิโลกรัมในการผลิตปลานิลลดลง 19.05 บาทต่อกิโลกรัม คิดเป็น 38.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปจากตลาด

ข้อเสนอแนะ

1. ควรหาวิธีการเก็บรักษาน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซทให้นานขึ้น เพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา และกลิ่นหืน

2. ควรมีการศึกษาหาปริมาณกรดไขมันที่เกิดขึ้นในเนื้อปลาภายหลังจากปลาได้รับอาหารทดลอง เพื่อนำมาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตร่วมกับกรดอะมิโน

3. ควรมีการศึกษาหาวัตถุดิบเศษเหลือที่มีในท้องถิ่น และสามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ แต่มีราคาถูกกว่า มาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารปลาร่วมกับน้ำนึ่งปลาไฮโดรไลเซท เพื่อเป็นแนวทางในการลดต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงปลานิลได้มากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2541. คู่มือการเพาะเลี้ยงปลานิลเพศผู้ สายพันธุ์จิตรลดา 2. สถาบันวิจัยและพฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จิตรวดี ไตรเรกพันธุ์. 2540. การผลิตโปรตีนปลาสกัดจากหัวและเครื่องในปลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เจษฎา อิสเหาะ และ สุภาวดี โกยดุล. 2553. การใช้น้ำนึ่งปลาจากการผลิตของโรงงานปลาทูน่ากระป๋องเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาสวายเนื้อขาว. น. 65-71. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 3. 24-26 พฤศจิกายน 2553 ณ ศูนย์ประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์, กรุงเทพฯ.

ชณิตา จีระกุล, มุกดาภรณ์ เกียรติโอฬาร และ เปรมวดี เทพวงศ์. ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อค่าระดับการย่อยสลายและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากนึ่งปลาทูน่า. น. 338-345. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 58. 5-7 กุมภาพันธ์ 2563 ณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยนุช ไพโรจน์กัลยา. 2556. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากพืชโดยการย่อยด้วยเอนไซม์.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยศิลปากร. กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ คชสีห์. 2546. การใช้ดักแด้ไหมบ้านเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาดุกลูกผสม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

นิรุทธิ์ สุขเกษม. 2544. ผลของระดับกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันต่อการเจริญเติบโตของปลานิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

พชร การเกตุ. 2559. 11 โปรตีนไฮโดรไลเซทจากโครงปลานิล และปลากะพง: สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการท างานของเอซีอี. การค้นคว้าอิสระของการศึกษาหลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีและสื่อสารการศึกษา (แผน ข) มหาวิทยาลัยนเรศวร.174 น.

แพรวไพลิน ตันติบุตร. 2552. การผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ดย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โบรมิเลน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมีคณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี,มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 157 หน้า

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภานุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และ วิมล จันทรโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และ เจษฎา อิสเหาะ. 2552. การทดลองใช้กากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันเป็นส่วนผสมในอาหาร ที่มีระดับพลังงานที่ย่อยได้ในอาหารต่างกันต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม. รายงานการวิจัยประจำปี 2552. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง, ตรัง.

วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และ เจษฎา อิสเหาะ. 2557. การใช้น้ำนึ่งปลาจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำเพื่อพัฒนาเป็นอาหารกุ้งก้ามกราม. รายงานการวิจัยประจำปี 2556. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง. ตรัง.

วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และ เจษฎา อิสเหาะ. 2558. การประยุกต์ใช้สาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (*Caulerpa racemosa*) เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและสารเหนียวในอาหารปลาทับทิม. รายงานการวิจัยประจำปี 2558. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง, ตรัง.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2528. อาหารปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 111 น.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 255 น.

วารยา บุษปธำรง. 2539. เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 103 หน้า.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2534, “การผลิตซอสปรุงรส” สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 61-69.

สุณิสา สุวรรณพันธ์. 2561. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือปลาดุกด้วยเอนไซม์จากพืช. รายงาน การวิจัย คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

อัญชลี กนึกรัตน์. 2548. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากถั่วเหลืองและกากถั่วเขียวเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ม.เทคโนโลยีพระจอมเหล้าธนบุรี, 110 หน้า.

อุไรวรรณ วัฒนกุล, วัฒนา วัฒนกุล และพีรพงษ์ พึ่งแย้ม. 2558. ผลิตภัณฑ์และคุณค่าทางโภชนาการที่ได้จาก การแปรรูปสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (*C. racemosa*). รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, ตรัง.

Adler-Nissen, J.1986. Enzymatic hydrolysis of food protein. Vanderbilt, New York. 421p.

Aaslang, D.M., Elmore, S.J. and Donald, S.M., 1998. Comparison of the aroma characteristics of acid-hydrolyzed vegetable proteins produced from soy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 46, pp. 481-489.

Aaslyng, M.D., Poll, L., Nielsen, P.M., and Flyge, H. 1999. Sensory, chemical and sensometric studies of sydrolyzed vegetable protien produced by various processes. European Food Research and Technology. Vol. 209, pp.227-236.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.

AOAC (Association of official Analytical l Chemists). 2000. Official Methods of Analysis. Association of official Analytical l Chemists, Washington D.C.

Almquist, H. J. 1972. Protein and amino acids in animal nutrition. 5^{th}ed S.B. Penick. New York.

Bancroft. J. D. 1967. Histochemical techniques. Butterworths, London.

Blaxhall, P. C. and K. W. Daisley. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol. 5 : 771-781.

Blyth, P. J. and R. A. Dodd. 2002. An economic assessment of current practice and methods to improve feed management of caged finish in several SE Asia regions. Akvasmart Pty. Ltd. Australia. 18 pp.

Halver, J.E. 1989. Fish Nutrition 2nd. Edn, New York: Academic Press.

Hill, R.L., 1965, Advances in Protein Chemistry. John Wiley and Sons, New York.

Howell, N.K., 1996, Chemical and enzymatic modification, pp.235-280.

Humason, G. L. 1972. Animal Tissue Technique, 4th ed. San Francisco. CA: W. H. Freeman and Company.

Kristinsson, H.G. and Rasco, B.A., 2000b, “Fish protein hydrolsates : production, biochemical and functional properties”, Critical Review in Food Science and Nutrition, Vol. 40, pp. 43-81.

Kongkeo, H. and Phillips. 2002. Regional overview of marine finish farming, with an emphasis on groupers and regional cooperation. pp 35-42. *In* : Report of the Regional Workshop on Sustainable Seafarming and Grouper. Aquaculture. 17-20 April 2000. Medan, Indonesia.

Lim, C. and W. G. Dominy. 1989. Utilization of plant proteins by warmwater fish. Paper Persented at the AOCS World Congress on Vegetable Protein Utilazation in Human Food and Animal Feed-stuff, 2-7 October 1988, Singapoer. ASA Technical Bulletin, Vol. 3AQ15 89-4. 13p.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275.

Mangalik, A. 1986. Dietary energy requirements for channel catfish. Ph.D. Dissertation, Auburn University, Auburn, AL.

Manley, C.H., McCamm, J.S. and Swane, R.L.Jr., 1981, “The chemical base of the taste and flavor enhancing properties of hydrolyzed protein", The Quality of Food and Beverage Chemistry and Technology, Vol. 1, pp. 61-82.

Murcuse, R. 1960. Antioxidant effect of amino acids. Nature. Vol. 186. Pp. 886-887.

Nagodawithana, T. W., 1995, Savory Flavors, Esteekay Associates, Inc., Milwaukee, WI, pp. 401- 434.

NRC. 1983. Nutrient requirements of coldwater fishes. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

NRC. 1993. Nutrient requirements of fishes. National Academy Press, Washington, D.C.

Olsman, H. 1979. Hydrolyzed and autolyzed vegetable protien as functional food ingredients. Journol of American Oil Chemists’Society. Vol, 56. No.3, pp. 375-376.

Pandian, T. J. 1987. Fish energetics, pp. 357-465. *In* T.J. Pandian and F. J. Vernbeg (eds.). Animal energetics, Vol. 2, Academic Press, New York.

Peterson, J. 1974. Encyclopedia of Food Technology. Van Nostrand reinhold company, New York, p. 150.

Peterson, M.S. and Johnson, A.H. 1978. Encyclopedia of Food Science, AVI Publishing Company, Connecticut, p. 1005.

Rao, G., 1976. Low salt protein hydrolysate. United States Patent, 3, 952, 109.

Stickney, R. R. 1979. Principles of warmwater aquaculture. New York: John Wiley and Sons.

Unido. 1990. Sectoral Studies Branch, Industrial development strategies for fishery systems in developing countries. Food Rev. Int. 6: 1.

Viola, S. and Y. Arieli. 1982. Nutrition studies with a high-protein pellet for carp and Sarotherodon Spp. (tilapia). Isr. J. Aquacult. – Bamidgeh 34 : 39-46.

Velisek, J., Ledahudcova, K., Pudil, F.; Davidek, J. and Kubelka, V. 1993. Chlorine-containing compounds derived from saccharides in protein hydrolysates. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. Vol. 26, No. 5, pp. 38-41.

Wattanakul W., Wattanakul U, Thongprajukaew K. and Muen C. 2017. Fish condensate as Effective replacer of fish meal protein in diet for striped snakehead, *Channa striata* (Bloch). J. Fish Physiol Biochem. 2017, 217-228.

Wattanakul U., Wattanakul W, Thongprajukaew K. 2019. Optimal replacement of fosh meal protein by stick water in diet of sex-reversed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Animals. 2019, 9, 521; doi:10.3390/ani9080521.

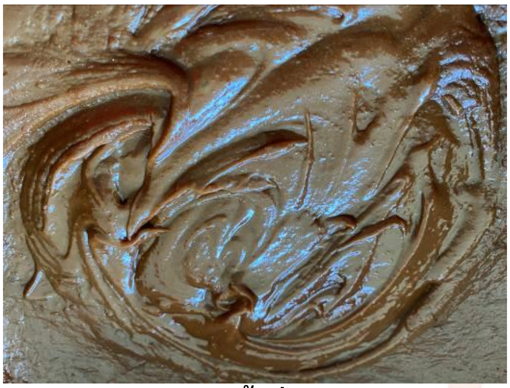
Weir, G.S.D. 1986. Protein hydrolysates as flavourings. *In* Development in Food Proteins. Hudson, B.J.F., Ed.; Elsevier Applied Science Publisher, London, New York, P.175-217

Weir, G. S. D., "Proteins as a source of flavor", In Biochemistry of Food Proteins; Hudson, B. J. F., Ed., Elsevier Applied Science Publishers: London, 1992; pp 363-395.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพการวิเคราะห์ค่าต่างๆ



เตรียมน้ำนึ่งปลา

ชั่งน้ำหนักน้ำนึ่งปลา

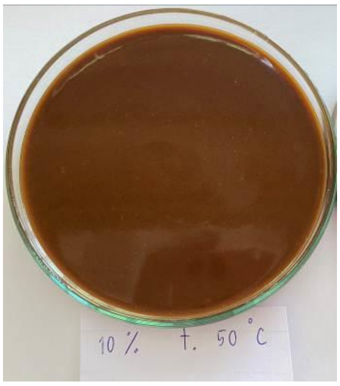
เตรียมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์

เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์

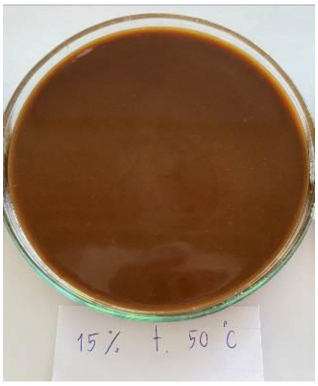
ย่อยสลายด้วยอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

หยุดปฏิกิริยา ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 6 โมลาร์

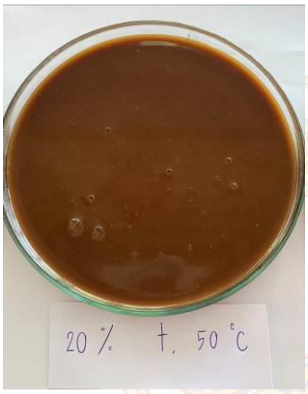
ภาพผนวกที่ 1 การย่อยสลายน้ำนึ่งปลาด้วยกรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ)



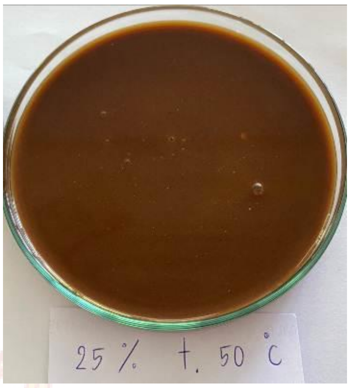
ปริมาณย่อยสลาย 10% อุณหภูมิย่อย 50 $^{\circ}$C



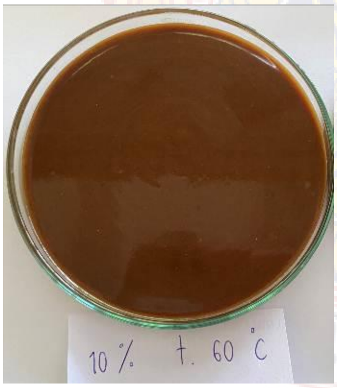
ปริมาณย่อยสลาย 15% อุณหภูมิย่อย 50 $^{\circ}$C



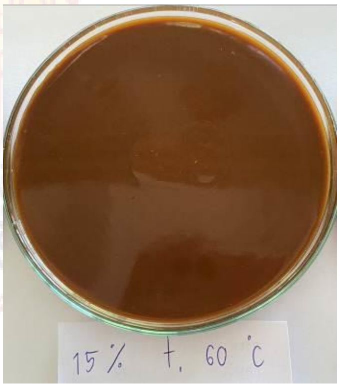
ปริมาณย่อยสลาย 20% อุณหภูมิย่อย 50 $^{\circ}$C



ปริมาณย่อยสลาย 25% อุณหภูมิย่อย 50 $^{\circ}$C

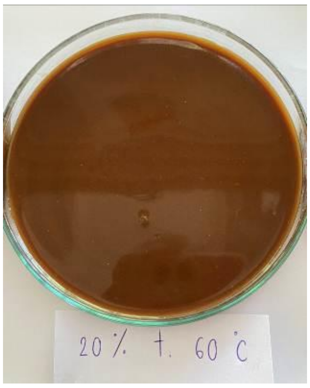


ปริมาณย่อยสลาย 10% อุณหภูมิย่อย 60 $^{\circ}$C

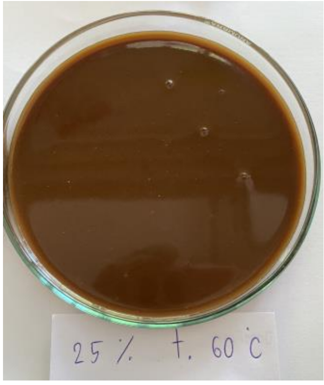


ปริมาณย่อยสลาย 15% อุณหภูมิย่อย 60 $^{\circ}$C

ภาพผนวกที่ 2 น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาณและอุณหภูมิการย่อยต่างกัน



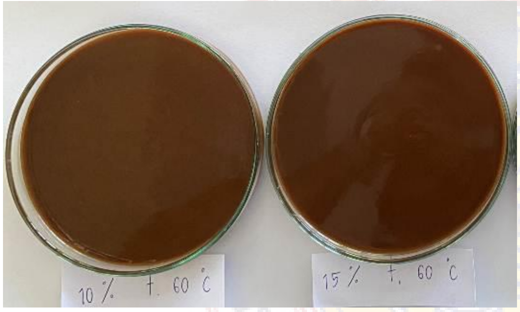
ปริมาณย่อยสลาย 20% อุณหภูมิย่อย 60 °C



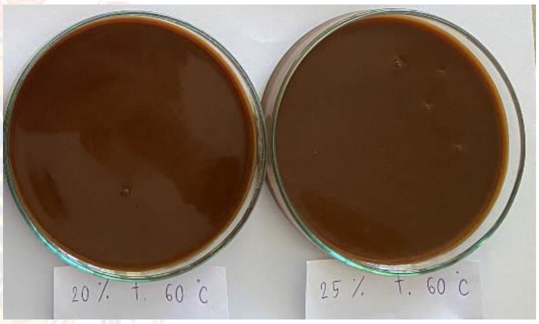
ปริมาณย่อยสลาย 25% อุณหภูมิย่อย 60 °C

ปริมาณย่อยสลาย 10%,15% อุณหภูมิ 50°C

ปริมาณย่อยสลาย 20%,25% อุณหภูมิ 50°C



ปริมาณย่อยสลาย 10%,15% อุณหภูมิ 60°C

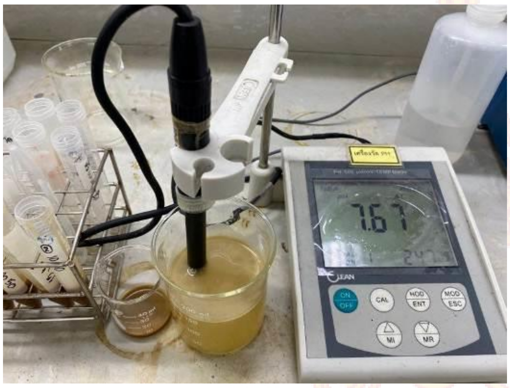


ปริมาณย่อยสลาย 20%,25% อุณหภูมิ 60°C

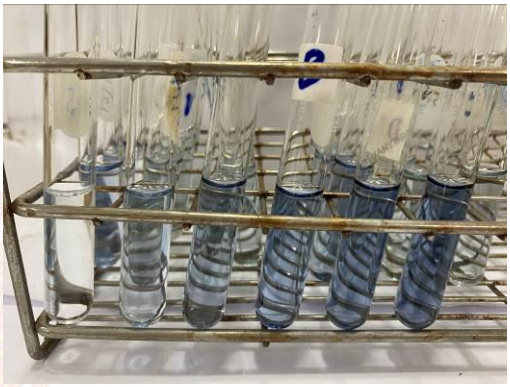
ภาพผนวกที่ 3 น้ำนึ่งปลาที่ผ่านการไฮโดรไลเซทด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาณและอุณหภูมิการย่อยต่างกัน (ต่อ)

ทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น

ทำโปรตีนไฮโดรไลเซทให้เข้มข้น

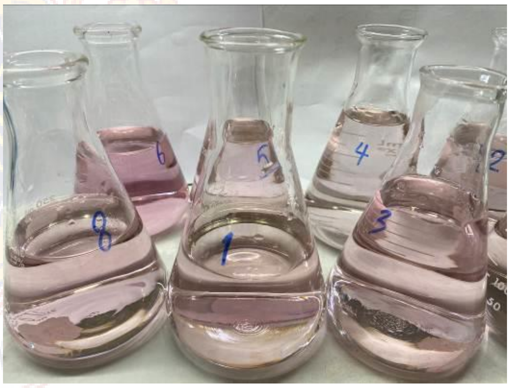


วิเคราะห์ค่า pH



วัดปริมาณโปรตีนด้วยวิธีการของ Lowry และคณะ (1951)

วิเคราะห์ค่า DH



วิเคราะห์ค่า DH

ภาพผนวกที่ 4 การวิเคราะห์เพื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดนำไปผลิตอาหารเลี้ยงปลานิล

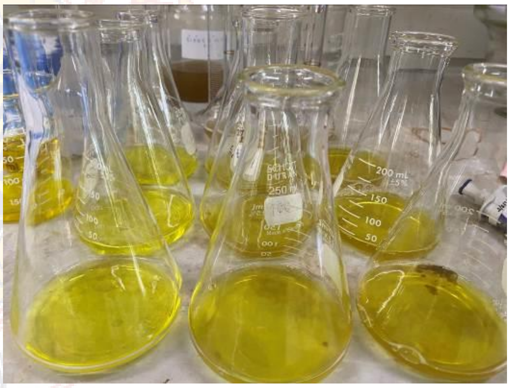
วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น



วิเคราะห์ปริมาณเกลือ

ภาพผนวกที่ 5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทเข้มข้นในน้ำนึ่งปลาเพื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดนำไปผลิตอาหารเลี้ยงปลานิล

ชั่งส่วนผสมต่างๆตามสูตร

ผลิตเป็นอาหารเลี้ยงปลานิล

ผลิตเป็นอาหารเลี้ยงปลานิล

อบอาหารแต่ละสูตรให้แห้ง

อบอาหารแต่ละสูตรให้แห้ง

ลักษณะอาหารทดลองเลี้ยงปลานิล

ภาพผนวกที่ 6 การเตรียมอาหารทดลองเลี้ยงปลานิล

การเตรียมระบบเลี้ยง

การเตรียมระบบเลี้ยง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

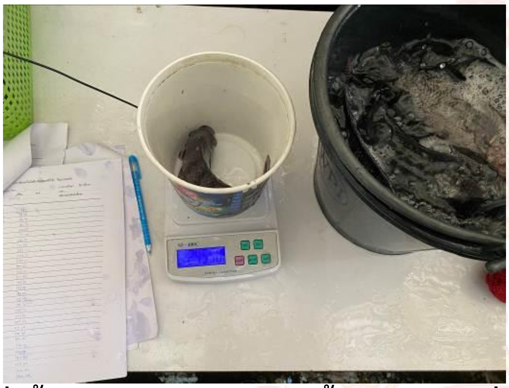
ทำการทดลองเลี้ยงปลา

เก็บรวบรวมข้อมูลน้ำหนักปลาเริ่มต้นทดลองเลี้ยง

ภาพผนวกที่ 7 การเตรียมระบบเลี้ยง และทำการทดลองเลี้ยงปลานิล

ชั่งน้ำหนักตลอดการทดลองเลี้ยง 6 เดือน เพื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักตลอดการทดลองเลี้ยง 6 เดือน เพื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโต



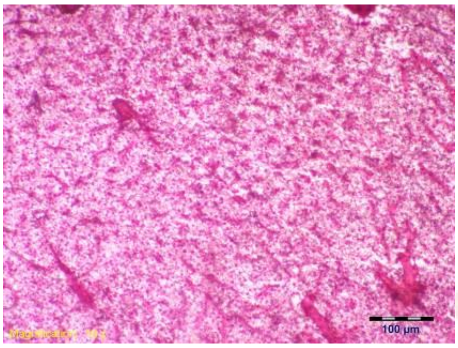
ชั่งน้ำหนักตลอดการทดลองเลี้ยง 6 เดือน เพื่อนำมาศึกษาการเจริญเติบโต

การศึกษาองค์ประกอบเลือด

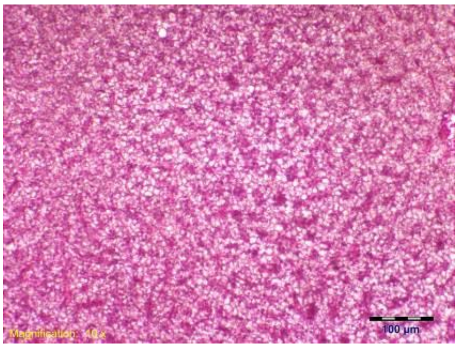
การศึกษาองค์ประกอบเลือด

การศึกษาองค์ประกอบเลือด

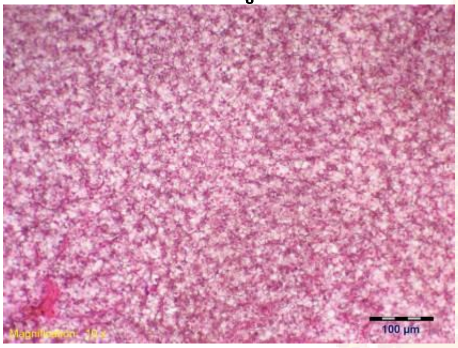
ภาพผนวกที่ 8 การศึกษาการเจริญเติบโต และการศึกษาองค์ประกอบเลือด



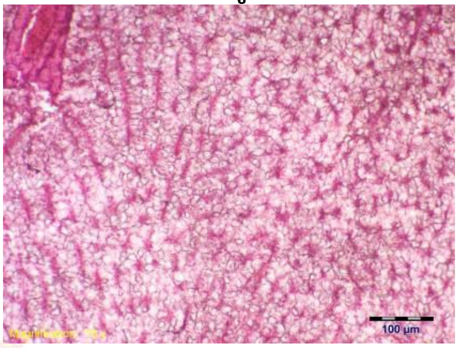
ตับปลานิลจากสูตร 1 (0%)



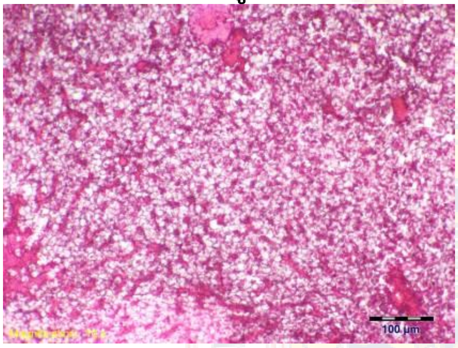
ตับปลานิลจากสูตร 2 (10%)



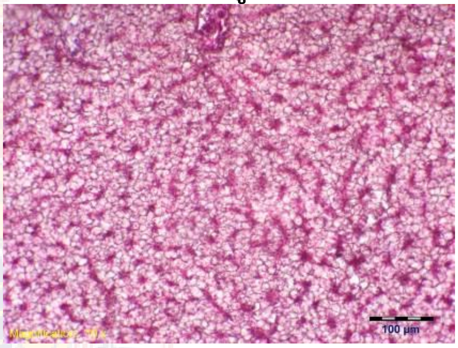
ตับปลานิลจากสูตร 3 (20%)



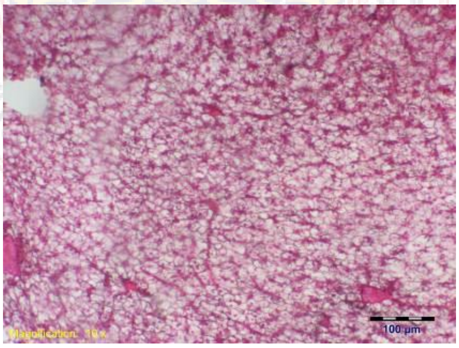
ตับปลานิลจากสูตร 4 (30%)



ตับปลานิลจากสูตร 5 (40%)



ตับปลานิลจากสูตร 6 (50%)



ตับปลานิลจากสูตร 7 (อาหารเม็ดสำเร็จรูป)

ภาพผนวกที่ 9 เนื้อเยื่อตับจากตัวอย่างปลานิลของทุกๆการทดลอง

เตรียมเนื้อปลา

อบแห้งเนื้อปลา

เนื้อปลาที่ผ่านการอบแห้งแล้ว

บดเนื้อปลาให้ละเอียด

เนื้อปลานิลบดละเอียด

เนื้อปลานิลบดละเอียด

ภาพผนวกที่ 10 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ภาพผนวกที่ 11 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาทดลอง (ต่อ)

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ

1. **การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC , 2000)**

อุปกรณ์เครื่องมือ

1. หลอดย่อยโปรตีน (kjeldalh flask)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. ชุดย่อยโปรตีน
4. ชุดกลั่นโปรตีน
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. บิวเรต (burret) ขนาด 25 มิลลิลิตร
8. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid ,H_2SO_4) เข้มข้น 98%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 (Sodium hydroxide ,NaOH)
   - เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
3. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มัล
   - เตรียมโดยใช้ปิเปตดูดกรดเกลือ 8.28 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
4. สารเร่งรวม (catalyst mixture)
   - เตรียมโดยชั่ง คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 7 กรัม และ โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
5. สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (boric acid , H_3BO_3)
   - เตรียมโดยต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อน ใส่กรดบอริกลงไป 4 กรัม คนจนละลายหมด เมื่อสารละลายเย็นลง แล้วจึงเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

     mixed indicator (methyl red 0.1 กรัม ผสมกับ bromocresol green 0.1 กรัม ละลายใน ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
6. อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator)
   - เตรียมโดย ละลาย methyl red 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลาย methylene blue 0.2 กรัมในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลาย methyl red 2 ส่วน ผสมกับสารละลาย methylene blue 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

วิธีการวิเคราะห์

1. ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1.1 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.5 - 1 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน

1.2 เติมสารเร่งปฏิกิริยา 3 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

1.3 นำ insert rack ที่มีหลอดย่อยตัวอย่างวางครบทุกช่องวางประกอบเข้ากับเครื่องย่อย และเปิดเครื่องกำจัดไอกรด ตั้งอุณหภูมิในการย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 350 เซลเซียส ทำการย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 90 นาที ทิ้งให้เย็น

2. ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

2.1 เมื่อสารละลายเย็นลง ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และหยด mixed indicator 2 – 3 หยด โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มอยู่ในสารละลาย

2.2 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในหลอดย่อยจนได้สารละลายสีดำ

2.3 ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา ประมาณ 7 นาที

3. ขั้นตอนการไตเตรท (titrion)

3.1 นำสารละลายที่กลั่นได้ ไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู (ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

3.2 บันทึกปริมาตรที่ได้ เพื่อใช้คำนวณต่อไป

3.3 ทำ blank ตามวิธีการในข้อ 2 - 10 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{(A\text{-}B) \times N\ HCL \times 1.4 \times 100}{W \times 100}$$

ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน x F

เมื่อ A = ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

Wt = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

F = 6.25

ตารางผนวก แฟกเตอร์ที่ใช้คำนวณปริมาณโปรตีนสำหรับอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	แฟกเตอร์
ธัญพืช	
แป้งสาลีจากข้าวทั้งเมล็ด	5.83
มักกะโรและสปาเก็ตตี้	5.70
ข้าวเจ้าและผลิตภัณฑ์	5.95
ข้าวไรน์และผลิตภัณฑ์	5.83
ข้าวบาเลย์และผลิตภัณฑ์	5.83
นัทและเมล็ดพืช	
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	5.71
แอลมอนด์	5.18
บราซิลนัท	5.46
มะพร้าว	5.30
เมล็ดงา ทานตะวัน คำฝอย และอื่นๆ	5.30
นมและผลิตภัณฑ์	6.38
อาหารอื่นๆ	6.25

2. **การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น** (A.O.A.C., 2000)

. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
2) ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาปริมาณความชื้น (aluminium can/moisture can)
3) โถดูดความชื้น (desiccator)
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1) อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 -105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2) ชั่งน้ำหนักให้ได้ตัวอย่างแน่นอนประมาณ 1 - 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมเกลี่ยตัวอย่างให้กระจาย

3) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่แน่นอนชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 - 0.003 มิลลิกรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1-W_2) \times 100}{W_2}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) เตาเผา (muffle furnace)
2) ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3) โถดูดความชื้น (desiccator)
4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1) เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30 – 45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อนแล้วนำออกจากเตาเผาใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2) เผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 1 ชั่วโมงและกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกัน 2 ครั้ง ไม่เกิน 0.001 - 0.003 มิลลิกรัม

3) ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอน แล้วนำไปเผาในตู้ดูดควันจนควันหมด แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส และกระทำซ้ำเช่นเดียวกันกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4. **การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน** (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

1) เครื่องวิเคราะห์ไขมัน
2) เครื่องทำความเย็น (cooling bath)
3) บีกเกอร์สาหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (glass extraction beader)
4) หลอดใส่ตัวอย่าง (thimble)
5) ตู้อบไฟฟ้าทศนิยม 4 ตาแหน่ง
6) โถดูดความชื้น (desiccator)
7) ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการวิเคราะห์

1) อบบีกเกอร์สาหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก และทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม บันทึกน้ำหนักที่ได้

2) ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว 1-2 กรัม ลงบนกระดาษกรอง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน แล้วห่อใส่ใน ทิมเบิล (thimble) นาทิมเบิลใส่ลงในลวดรองแล้ววางลงในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 150 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

3) ประกอบบีกเกอร์เข้ากับตัวเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที และชะล้างเป็นเวลา 60 นาที

4) จากนั้นนำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วาง บีกเกอร์ให้เย็นในโถดูดความชื้นหรือจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณปริมาณไขมัน ดังสมการ

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิธีการคำนวณ (Calculation)

คาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ) = 100 – (ความชื้น+โปรตีน +ไขมัน+ เถ้า+เยื่อใย)

6. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 1.25 เตรียมโดยตวงสารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ปริมาตร 7.01 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.25 เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 12.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

- แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 เตรียมโดยละลายแอลกอฮอล์ 960 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (w) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างกากด้วยน้ำร้อน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด เป็นเวลา 30 นาที กรองและล้างกากด้วยน้ำร้อน นำกรวยกรองอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เวลา 1 คืน นำมาวางให้เย็นใน desiccator และชั่งน้ำหนัก (w_1) และนำไปเผา ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาวางให้เย็นใน desiccator และชั่งน้ำหนัก (w_2) คำนวณหาปริมาณเยื่อใยจากสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ)} = \frac{(w_2-w_1) \times 100}{w}$$

โดย w = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

w_1 = น้ำหนักหลังจากอบแห้ง (กรัม)

w_2 = น้ำหนักหลังจากเผา (กรัม)

7. การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ ด้วยวิธี AOAC ,.1900

อุปกรณ์และสารเคมี

- 0.1 N Silver nitrate solution
- 5% Potassium chromate
- น้ำกลั่น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ใน flask บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
2. สกัดเกลือจากตัวอย่าง โดยเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย ปั่นด้วยเครื่องผสม
3. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นให้ได้ครบ 250 มิลลิลิตร

4. ดูดสารละลายที่ได้มา 25 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. เติม 5% Potassium chromate ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
6. ไทเทรต กับ 0.1 N Silver nitrate solution จนถึงจุดยุติ ได้สีแดงอิฐ
7. ทำ blank เปรียบเทียบ

สูตรคำนวณ %NaCl = 0.00585 × (A - B) × (100/C) × (250/25)

A = ปริมาตรที่ไทเทรตได้ของตัวอย่าง
B = ปริมาตรที่ไทเทรตได้ของ blank
C = น้ำหนักตัวอย่าง

8. การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง

อุปกรณ์

1. pH meter

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง ประมาณ 20 กรัม เติมน้ำกลั่น ประมาณ 40 มิลลิลิตร
2. ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาวัดค่า ด้วย pH meter ซึ่งมีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7 และ 4 ทำการวัดตัวอย่าง 3 ซ้ำ แล้วมาหาค่าเฉลี่ย

9. **ระดับการย่อยสลาย (% degree of hydrolysis; %DH)**

นำตัวอย่างสาหร่ายที่ไม่ผ่านการระเหย 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดเซนตริฟิวส์ เติมกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroaceticacid: TCA) เข้มข้นร้อยละ 20 ในปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันประมาณ 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4000 × g นาน 15 นาที นำส่วนของเหลวใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Kjeldahl method วัดระดับการย่อยสลายตามวิธีของ Netto and Galeazzi (1998) และนำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{ระดับการย่อยสลาย} = \frac{20\text{ \% TCA soluble-N} \times 100}{\text{Total-N}}$$

โดยที่ Total-N = ร้อยละไนโตรเจนทั้งหมดในวัตถุดิบ
20 % TCA soluble-N = ร้อยละไนโตรเจนที่ละลายได้ใน TCA

10. วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Lowry , 1957)

ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่างวิเคราะห์โดยใช้วิธีการของ Lowry และคณะ (1957) โดยใช้ Folin- Ciocalteu phenol's reagent ดังนี้

นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตรในหลอดแก้ว ผสมกับสารละลายแอลคาไลน์ (2% Na_2CO_3 ใน 0.1 N NaOH : 1% potassium sodium tartrate : 0.5% $CuSO_4$ อัตราส่วน 100:1:1) 3 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมสารละลายโฟลิน-ฟีนอล (Folin- Ciocalteu phenol reagent : น้ำกลั่น เท่ากับ 1:1) ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ (ภาพผนวกที่ 8E) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (ภาพผนวกที่ 9E) คำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานโดยใช้โบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

100 ไมโครลิตร ของ Crude enzyme

↓

เติม 3 มิลลิลิตร ของสารละลายแอลคาไลน์

↓

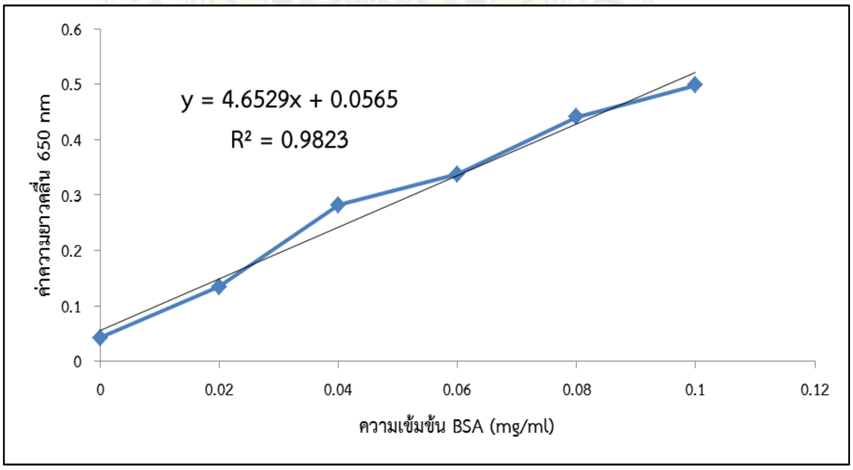
(2% Na_2CO_3 ใน 0.1 N NaOH : 1% potassium sodium tartrate : 0.5% $CuSO_4$ (100:1:1)

↓ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที

เติม 0.3 มิลลิลิตร ของ สารละลาย Folin-phenol regent (Folin : น้ำกลั่น = 1:1)

↓ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร



กราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน