



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากปลาชัคเกอร์

เป็นแหล่งโปรตีนใหม่ในสัตว์น้ำ

โดย ดร. ตรีนันท์ โพธารส และคณะ

ธันวาคม 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากปลาช่อน

เป็นแหล่งโปรตีนใหม่ในสัตว์น้ำ

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1. ดร. ตรีนันท์ โพธารส | มหาวิทยาลัยพะเยา |
| 2. ดร. รุ่งกานต์ กล้าหาญ | มหาวิทยาลัยพะเยา |
| 3. ดร. สุธิ ว่างเตื่อย | มหาวิทยาลัยบูรพา |

ชุดโครงการสัตว์น้ำกับความสามารถในการแข่งขันของเกษตรกร

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ. มยุรี จัยวัฒน์ และ ผศ.ดร. พงษ์เทพ วิไลพันธ์ เป็นอย่างสูงที่ทำให้การสนับสนุนและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์สำหรับการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงราย ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพะเยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่ และหน่วยงานในสังกัดกรมประมงประจำจังหวัดต่างๆ ได้แก่ พะเยา เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก และอุตรดิตถ์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูล ประสานงานและอำนวยความสะดวกในการลงพื้นที่ และการติดต่อประสานงานด้วยดีตลอดมา

คณะผู้วิจัย

ธันวาคม 2556

บทสรุปผู้บริหาร

ปลาซัคเกอร์ Suckermouth armored catfish ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pterygoplichthys pardalis* เป็นปลาที่นำเข้ามาเพื่อเลี้ยงในตู้ปลาสวยงามตั้งแต่ปี 2520 เนื่องจากเป็นปลาที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม แพร่พันธุ์ได้ง่าย ลักษณะลำตัวเป็นเกราะแข็ง และมีพฤติกรรมการกินแบบกัดแทะ จากการที่ปลาสามารถแพร่พันธุ์ง่ายและเจริญเติบโตจนมีขนาดใหญ่ ผู้เลี้ยงปลาจึงนำไปปล่อยตามแหล่งน้ำต่างๆ ส่งผลกระทบต่อปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำทำให้ปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำและที่อยู่ในบ่อเลี้ยงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ โดยปลาซัคเกอร์จะไปกัดแทะพื้นผิวบ่อเลี้ยง ทำลายแห อวนที่ใช้ทำกระชังเลี้ยงปลา แย่งอาหารและพื้นที่กับปลาที่เลี้ยง ทำให้ปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้สูญหายหรือเจริญเติบโตช้า ส่งผลให้เกษตรกรมีรายได้ลดลง สร้างความเดือดร้อนให้กับเกษตรกรบริเวณจังหวัดแถบภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ ลำปาง น่าน พะเยา และเชียงราย เป็นอันมาก กรมประมงจึงได้จัดทำโครงการแลกเปลี่ยนปลาซัคเกอร์กับลูกพันธุ์ปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่น ปลานิล ปลาสวาย ปลาไน ปลานวลจันทร์เทศ ปลาเยือกเทศ เป็นต้น จากการสำรวจพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา พบว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาที่ประสบปัญหาจากปลาซัคเกอร์ไม่ได้นำปลาซัคเกอร์ไปแลกพันธุ์ปลากับหน่วยงานของกรมประมงในพื้นที่ เนื่องจากปลาซัคเกอร์ที่จับได้คราวละไม่มากซึ่งไม่คุ้มค่างับค่าใช้จ่ายในการเดินทาง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์ทั้งตัว ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า โซเดียมคลอไรด์ และอื่นๆ พบว่า มีค่าเท่ากับ $49.83 \pm 2.77\%$, $19.09 \pm 0.63\%$, $7.74 \pm 0.67\%$, $17.87 \pm 0.66\%$, $2.78 \pm 0.93\%$ และ $2.69 \pm 1.24\%$ ตามลำดับ ผลการศึกษาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง พบว่าสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น : ปริมาณปลาซัคเกอร์บด เท่ากับ 100 : 100% ค่าพีเอช เท่ากับ 3.0 อุณหภูมิที่สกัด 45 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 30.06 ± 0.54 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ค่า Degree of Hydrolysis เท่ากับ 15.30% และผลผลิตแห้ง เท่ากับ $20.84 \pm 0.92\%$ ส่วนผลการศึกษาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค พบว่าสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ความเข้มข้นกรดฟอร์มิค เท่ากับ 5.5 โมลาร์ อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิค : ปริมาณปลาซัคเกอร์บด เท่ากับ 100 : 100% อุณหภูมิที่สกัด 67 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการสกัด 6 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 54.50 ± 1.86 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ค่า Degree of Hydrolysis เท่ากับ 27.74% และผลผลิตแห้ง เท่ากับ $21.81 \pm 0.24\%$ ดังนั้นจึงใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้นี้ไปศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก *Bacillus* sp. และที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิล ขนาด 4.24, 18.31, 102.50 กรัม พบว่าค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากปลานิลขนาด 4.24 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยได้สูงสุด รองลงมา คือ เอนไซม์ protease จากปลานิลขนาด 18.31 กรัม เอนไซม์ protease จาก *Bacillus* sp. และเอนไซม์ protease จากลำไส้ปลานิลขนาด 102.5 กรัม ตามลำดับ ขั้นตอนต่อไป คือ การทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคโดยทำการศึกษาในปลานิลขนาด 18.31 กรัม โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทดแทนปลาปน

ในสูตรอาหารที่ระดับการทดแทน 0, 25, 50, 75, 100% ตามลำดับ อาหารที่ใช้เป็นอาหารเม็ดลอยน้ำ ที่มีปริมาณโปรตีน 30% พลังงาน 3,000 Kcal/ kg. โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 3% ของน้ำหนักตัว ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25% มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลากลุ่มควบคุม แต่มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับอื่นๆ ($P \leq 0.05$) ซึ่งค่าที่แสดงชัดเจน ได้แก่ ค่าน้ำหนักสุดท้าย เท่ากับ 42.55 ± 0.34 กรัม/ ตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน เท่ากับ 0.26 ± 0.02 กรัม/ ตัว/ วัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.008 ± 0.00 นอกจากนี้การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ในอาหารปลานิล ยังไม่มีผลให้อัตรารอดของปลาแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิล ด้วยอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100% เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเนื้อปลาในแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไขมัน และเถ้า ของเนื้อปลานิลมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยระดับโปรตีนในเนื้อปลานิลได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25% มีค่าสูงสุด สำหรับค่าไขมันในเนื้อปลานิลพบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 75% มีค่าสูงสุด เมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก พบว่ามีต้นทุนประมาณ 1,735.47 บาท/ กิโลกรัม และต้นทุนอาหารปลานิลที่ทดแทนโปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25% ประมาณ 131.90 บาท/ กิโลกรัม ในขณะที่ต้นทุนอาหารปลานิลที่ไม่ทดแทนโปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ เท่ากับ 27.79 บาท/ กิโลกรัม ทั้งนี้ต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ สูงกว่าต้นทุนการผลิตปลาป่นมาก ถ้านำไปใช้เชิงพาณิชย์มีโอกาสประสบความสำเร็จทางธุรกิจต่ำ ดังนั้นการทดลองนี้ เพื่อเป็นแนวทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากปลาซัคเกอร์ ซึ่งจากการสังเกตพบว่ากลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวมีกลิ่นคล้ายกลิ่นน้ำปลา ด้วยคุณสมบัตินี้เกษตรกรอาจผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตในรูปแบบของเหลวเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมหรือสารแต่งกลิ่นในอาหารสัตว์น้ำต่อไป

บทคัดย่อ

จากการที่ปลาซัคเกอร์ได้สร้างความเสียหายต่ออุปกรณ์และเครื่องมือทำการประมงของเกษตรกร แย่งอาหาร และที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำส่งผลให้เกษตรกรและชาวบ้านที่ทำการประมงมีรายได้ลดลง จึงมีแนวคิดที่เพิ่มการใช้ประโยชน์จากปลาซัคเกอร์เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ วัตถุประสงค์การวิจัยนี้เพื่อศึกษาปริมาณปลาซัคเกอร์ที่จับได้จากแหล่งน้ำ การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเองและกรดฟอร์มิกและการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้เพื่อทดแทนโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ จากผลการวิจัยบริเวณจังหวัด เชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย อุดรดิตถ์ และพะเยา พบว่าเกษตรกรหรือชาวบ้านไม่ค่อยนำปลาซัคเกอร์ที่จับได้ไปแลกพันธุ์ปลาเศรษฐกิจกับหน่วยงานกรมประมงในพื้นที่ เนื่องจากไม่คุ้มกับการเดินทาง ผลการศึกษางค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือโซเดียมคลอไรด์ และอื่นๆ มีค่าดังนี้ $49.83 \pm 2.77\%$ $19.09 \pm 0.63\%$ $7.74 \pm 0.67\%$ $17.87 \pm 0.66\%$ $2.78 \pm 0.93\%$ และ $2.69 \pm 1.24\%$ ตามลำดับ จากการศึกษาสถานะการสกัดที่เหมาะสม คือ การสกัดด้วยกรดฟอร์มิกที่สถานะที่จะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ได้แก่ อัตราส่วนสารละลายกรดฟอร์มิกต่อปริมาณตัวอย่าง เท่ากับ 100 : 100 % ความเข้มข้นกรดฟอร์มิก 5.5 โมลาร์ อุณหภูมิ เท่ากับ 67 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 6 ชั่วโมง ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 54.50 ± 1.86 มิลลิกรัม/กรัม ค่า Degree of Hydrolysis (DH) เท่ากับ 27.74% ผลผลิตแห้ง เท่ากับ $21.81 \pm 0.24\%$ ค่าการเสื่อมสลายด้วยความร้อน เท่ากับ 91.33 องศาเซลเซียส องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากปลาซัคเกอร์ด้วยกรดฟอร์มิก ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือโซเดียมคลอไรด์ และอื่นๆ เท่ากับ $3.24 \pm 0.08\%$, $63.85 \pm 0.43\%$, $9.99 \pm 0.22\%$, $18.01 \pm 0.43\%$, $2.82 \pm 0.25\%$ และ $2.09 \pm 0.05\%$ ตามลำดับ จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ไปศึกษาทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิลที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100% พบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลควรใช้ทดแทนที่ระดับ 25% เพราะสูตรอาหารดังกล่าวให้ผลการเจริญเติบโตของปลานิลไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร

คำสำคัญ: ปลาซัคเกอร์ โปรตีนไฮโดรไลเซต อาหารปลาปลานิล

Abstract

Sucker Mouth Fish destroyed fish gear and entrench area that effected of fishing production. This research was aimed to study utilization of Suckermouth armored catfish as new source of protein in Tilapia fish feed. The objective of this study was to study amount of Suckermouth armored catfish found in 5 provinces such as Chiang Mai, Lampang, Uttaradit, Chiang Rai and Phayao, to study optimum condition on autolysis and acid extraction methods of protein hydrolysate from Sucker Mouth Fish, to utilize Sucker Mouth Fish protein hydrolysate substituted to fish meal in Tilapia fish feed. The result of this study indicated that there were farmers eliminated Sucker Mouth fish at their farms. Because long distance between their farms and Fishery Department center. The proximate composition content of whole Sucker Mouth fish such as moisture, protein, fat, ash, NaCl and the others are $49.83 \pm 2.77\%$, $19.09 \pm 0.63\%$, $7.74 \pm 0.67\%$, $17.87 \pm 0.66\%$, $2.78 \pm 0.93\%$ and $2.69 \pm 1.24\%$ respectively. The optimum extraction condition was acid extract as follows ratio of formic acid solution: fish 100 : 100%, formic acid concentration 5.5 M., temperature 67°C and time 6 hours. This condition gave the highest protein content $54.50 \pm 1.86 \text{ mg./g.}$ and Degree of Hydrolysis (DH) 27.74% whereas the proximate composition content of Sucker Mouth fish protein hydrolysate were following moisture, protein, fat, ash, NaCl and the others $3.24 \pm 0.08\%$, $63.85 \pm 0.43\%$, $9.99 \pm 0.22\%$, $18.01 \pm 0.43\%$, $2.82 \pm 0.25\%$ and $2.09 \pm 0.05\%$ respectively, dry weight basis $21.81 \pm 0.24\%$ and Denaturation temperature 91.33°C . Then, protein hydrolysate was to study on substitution to 5 fish meal formulas as 0%, 25%, 50%, 75% and 100% in Tilapia fish feed. The study found that the substitution at 25% level was appropriated because it was not shown different result comparing with control formula.

Keywords: Sucker mouth fish, Protein hydrolysate, Fish feed, Nile Tilapia fish

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปผู้บริหาร	II
บทคัดย่อ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	X
ตรวจเอกสาร	1
วัตถุประสงค์การทดลอง	6
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	7
สรุปผลการทดลอง	62
ข้อเสนอแนะ	63
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	64
เอกสารอ้างอิง	65
ภาคผนวก	69

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ข้อมูลการแลกเปลี่ยนปลาซัคเกอร์กับลูกพันธุ์ปลาของกรมประมง ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – สิงหาคม 2554	7
2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์สดทั้งตัว ด้วยวิธีวิเคราะห์ของ AOAC.(2000)	16
3 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลองสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต วิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	18
4 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต วิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการคำนวณ และการทำงานปริมาณของโปรตีนจากสมการของแบบจำลอง	19
5 ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพื้นที่ตอบสนองของปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซต จากปลาซัคเกอร์ที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	21
6 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	22
7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซต ที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	24
8 แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสถานะที่เหมาะสมของสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซตโดยการย่อยสลายด้วยตัวเองโดยฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab	25
9 แสดงค่าสถานะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยด้วยตัวเอง จากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง	26
10 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วย วิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองหลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC.(2000)	31
11 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลองสำหรับการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก	33

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
12 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองของการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค และปริมาณโปรตีนที่ได้จากการคำนวณและการทำนายปริมาณของโปรตีน จากสมการของแบบจำลอง	34
13 ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพื้นที่ตอบสนองของปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	36
14 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซท ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	37
15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนจากโปรตีนไฮโดรไลเซท จากปลาซัคเกอร์ที่ย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	39
16 แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซท โดยการย่อยสลายด้วยกรดโดยฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab	40
17 แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ด้วย วิธีการย่อยด้วยกรดฟอร์มิคจากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง	41
18 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่ย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค หลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC.(2000)	45
19 ปริมาณกรดอะมิโนที่องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วย วิธีการย่อยสลายตัวเองและวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคด้วยเครื่องมือ HPLC	46
20 ต้นทุนผันแปรของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลาย ด้วยกรดฟอร์มิคปริมาณ 1 กิโลกรัม	51
21 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นและโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิล และแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp.	52
22 การเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซท จากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน	55
23 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่น ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค ที่ระดับต่าง (in vitro) ด้วยเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 18.31 กรัม	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
24 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับต่าง (in vivo)	57
25 ประสิทธิภาพของโปรตีนและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	58
26 องค์ประกอบซากของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	59
27 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์	60

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการย่อยสลายด้วยตัวเองทั้ง 15 หน่วยทดลอง	20
2	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำงานโดย แบบจำลองการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	22
3	กราฟ Normal Probability Plot ของค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ จากการย่อยสลายด้วยตัวเอง	25
4	กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายด้วยตัวเอง	28
5	contour plot ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายด้วยตัวเอง	29
6	แสดงปริมาณโปรตีน (mg./ ml.) และ % Degree of hydrolysate ที่ได้จากการวิธีการ ย่อยสลายด้วยตัวเองตามสภาวะการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตที่เหมาะสม โดยอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น : ปริมาณปลาซัคเกอร์บดเท่ากับ 100 : 100% ค่าพีเอช 3.0 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	30
7	โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองหลังการทำแห้ง ด้วยวิธีการพ่นฝอย	31
8	แสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกทั้ง 15 หน่วยทดลอง	35
9	ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายโดย แบบจำลองการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก	38
10	กราฟ Normal Probability Plot ของค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ จากการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก	40
11	กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการใช้กรด โดยที่ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก: ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 คือ ค่าความเข้มข้นกรดฟอร์มิก (โมลาร์) X_3 คือ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต(องศาเซลเซียส) และ Y คือ ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	42
12	contour plot ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการใช้กรดฟอร์มิก	43
13	แสดงปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซต (mg/ml) และ % DH ที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วย กรดฟอร์มิกตามสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 5.5 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อ ปลาซัคเกอร์บดเท่ากับ 100 : 100% ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

14	โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	45
15	ปริมาณกรดอะมิโนที่องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเองและวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	47
16	องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วย วิธีการย่อยสลายตัวเองและวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค	48
17	SDS-PAGE ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้จากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลาย ด้วยกรดฟอร์มิคและวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	49

การตรวจเอกสาร

Formatted: Right: 1.67 cm

ปลาซัคเกอร์มีชื่อสามัญว่า Suckermouth armored catfish ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pterygoplichthys pardalis* มีรูปร่างส่วนหัวที่ค่อนข้างใหญ่ ปากคว่ำลง มีกล้ามเนื้อปากที่หนาและแข็งแรงเพื่อใช้ในการเกาะหรือดูดอาหาร และเป็นปลาที่ว่ายน้ำช้า (นฤมล, 2550: www.stou.ac.th) ปลาซัคเกอร์ได้นำเข้ามาจากประเทศบราซิลเพื่อเลี้ยงในตู้ปลาสวยงามตั้งแต่ปี 2520 ต่อมาเมื่อปลาซัคเกอร์ที่นำมาเลี้ยงมีขนาดใหญ่ขึ้นผู้เลี้ยงจึงนำไปปล่อยในแหล่งน้ำธรรมชาติ ด้วยลักษณะภูมิอากาศของประเทศไทยและประเทศบราซิลมีความคล้ายคลึงกัน ทำให้ปลาซัคเกอร์สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ประกอบกับปลาซัคเกอร์นั้นแข็งแรงและทนทานต่อทุกสภาพแวดล้อม กล่าวคือเมื่อนำขึ้นมาบนที่แห้ง ก็สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นเวลาประมาณ 6-12 ชั่วโมง และเมื่อนำไปแช่น้ำแข็งสามารถทนทานได้มากกว่า 2 ชั่วโมง ประกอบกับพฤติกรรมการกินของปลาชนิดนี้ที่มีนิสัยชอบกัดแทะสามารถกินอาหารได้หลากหลาย เช่น ขยะ เศษอาหาร สาหร่าย พืชและไขปลา (Sterba, 1983) ดังนั้นปลาซัคเกอร์จึงสร้างผลกระทบต่อปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติและที่อยู่ในบ่อเลี้ยงมีปริมาณลดลงโดยปลาซัคเกอร์จะไปกัดแทะพื้นผิวบ่อเลี้ยง ทำลายแหหรือวนที่ใช้ทำกระชัง เลี้ยงปลา แยกพื้นที่ และแย่งอาหารกับปลาที่เลี้ยง ทำให้ปลาที่เกษตรกรเลี้ยงไว้สูญหายหรือเจริญเติบโตช้าส่งผลให้เกษตรกรมีรายได้ลดลงสร้างความเดือดร้อนให้กับเกษตรกรบริเวณจังหวัดแถบภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ ลำปาง น่าน พะเยา และเชียงรายเป็นอันมาก ดังเช่นข่าวที่ปรากฏที่บ้านหนองฟ้า หมู่ 7 ตำบลสบปราบ อำเภอสบปราบ จังหวัดลำปาง ชาวบ้านช่วยกันวางข่ายจับปลาซัคเกอร์ซึ่งแพร่พันธุ์ให้หนองน้ำซึ่งทำให้ปลาที่ชาวบ้านปล่อยเพื่อเป็นแหล่งอาหารของหมู่บ้านมีจำนวนลดลงโดยสามารถจับปลาซัคเกอร์ได้ประมาณ 2 ตัน ชาวปลาซัคเกอร์ทั้งหมดนำไปทำปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพเพื่อใช้ประโยชน์ในการปลูกข้าวนาปี (เดลินิวส์, 2555: www.dailynews.co.th) จากการที่ปลาซัคเกอร์มีลักษณะภายนอกที่ไม่สวยงาม ลำตัวเป็นเกราะแข็ง รสชาติไม่ดี และมีปริมาณเนื้อน้อย จึงทำให้ไม่เป็นที่นิยมต่อผู้บริโภค เมื่อชาวประมงหรือชาวบ้านจับได้ ก็จะปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำยิ่งทำให้ปลาซัคเกอร์เพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ ปริมาณประชากรปลาซัคเกอร์ที่เพิ่มมากขึ้น จึงส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำ ด้วยเหตุนี้กรมประมงจึงได้ประชาสัมพันธ์ให้ความรู้การควบคุมการแพร่พันธุ์ของปลาซัคเกอร์ ดังต่อไปนี้

1. สร้างความรู้ความเข้าใจให้กับกลุ่มผู้เลี้ยงปลาตัวว่าเมื่อนำปลาซัคเกอร์ไปเลี้ยงในปลาตู้ แล้วปลาซัคเกอร์มีขนาดใหญ่ขึ้นหรือหยุดเลี้ยง ต้องทำลายปลาซัคเกอร์นั้น
2. เมื่อพบปลาซัคเกอร์ในแหล่งน้ำหรือต้องการทำลายปลาซัคเกอร์สามารถนำส่งในกรมประมงเป็นผู้จัดการทำลาย โดยในต่างจังหวัดสามารถนำส่งให้ศูนย์หรือสถานีประมงประจำจังหวัดนั้น

3. ต้องมีการสำรวจแหล่งน้ำตลอดเวลาและประชาสัมพันธ์ให้ความรู้กับชาวบ้านที่อาศัยรอบแหล่งน้ำนั้นเกี่ยวกับปลาชัคเกอร์

4. ประชาสัมพันธ์ว่าปลาชัคเกอร์สามารถนำมาทำเป็นอาหารได้ โดยการนำไปต้มหรือย่างแล้วลอกหนังออก ทั้งนี้เนื้อปลาชัคเกอร์ไม่เป็นอันตรายและไม่เป็นพิษ (นฤมล, 2550: www.stou.ac.th)

ตามที่กรมประมงได้ทำโครงการแลกเปลี่ยนปลาชัคเกอร์กับปลาสวยงามน้ำจืด (หนังสือราชการกรมประมง เลขที่ กษ0514/ว1025 ลงวันที่ 17 ธันวาคม 2550) ทางสถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงรายจึงดำเนินโครงการดังกล่าวฯ โดยการแลกเปลี่ยนปลาชัคเกอร์กับลูกพันธุ์ปลา เพื่อลดปริมาณปลาชัคเกอร์โดยมีเกษตรกรนำมาชัคเกอร์ที่จับได้มาแลกเปลี่ยนกับลูกพันธุ์ปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เช่น ปลานิล ปลาตะเพียน ส่วนปลาชัคเกอร์ที่เกษตรกรนำมาแลกเปลี่ยนมีจำนวนมากจากปลาส่งกลิ่นเน่าเสีย ทำให้เกิดปัญหากลิ่นเหม็นรบกวนชาวบ้านที่อาศัยอยู่พื้นที่โดยรอบ ทางสถานีประมงฯ ได้หาวิธีทำลายซากปลาโดยการเผา ซึ่งทำให้เกิดผลเสียต่อสภาวะแวดล้อมโดยระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2551 – ธันวาคม 2552 ทางสถานีประมงฯ ได้แลกเปลี่ยนปลาชัคเกอร์แล้วจำนวน 11,922 ตัว ปริมาณ 9,814.52 กิโลกรัม (สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงราย, 2552) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกิดแนวความคิดในการจัดการที่เหมาะสมกับซากปลาชัคเกอร์อันมีเป็นจำนวนมาก เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดและสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ซากปลา จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าปลาชัคเกอร์ทั้งตัวบดละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 22 – 24% จึงมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากซากปลาชัคเกอร์อันจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป มีนักวิจัยทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากปลาชัคเกอร์โดยสิทธิพัฒน์ (2551) ศึกษาเรื่องการใช้ปลาชัคเกอร์และหอยเชอรี่เป็นอาหารเลี้ยงปลาซึ่งในการทดลองนี้ใช้หอยเชอรี่ หอยเชอรี่ผสมปลาชัคเกอร์สด ปลาชัคเกอร์สด และอาหารสำเร็จรูปเป็นอาหารเลี้ยงลูกปลานิล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเฉลี่ยและอัตราการรอดตายเฉลี่ยของปลานิลมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ปลาชัคเกอร์และหอยเชอรี่เป็นอาหารเลี้ยงปลานิลได้ ซึ่งเป็นการช่วยลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงปลาอีกทางหนึ่งและยังเป็นการช่วยกำจัด—ปลาชัคเกอร์ซึ่งเป็นอันตรายต่อระบบนิเวศได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการใช้ปลาชัคเกอร์สดนั้นมีข้อเสียได้แก่คือ—ทำให้คุณภาพน้ำเลวลงจากเศษอาหารเหลือที่กินไม่หมดทำให้เกิดการสะสมของแก๊สพิษ เช่น แอมโมเนีย (NH_3) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และมีเทน (CH_4) ซึ่งแก๊สเหล่านี้จะเป็นพิษโดยตรงต่อปลา

โปรตีนไฮโดรไลเซตปลา (Fish protein hydrolyzate) เป็นโปรตีนที่สกัดจากปลาที่ย่อยจนได้โพลีเปปไทด์ เปปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ โดยการบดปลาทั้งตัวกับน้ำกลั่นแล้วย่อยสลายด้วยกรดหรือด่างหรือใช้เอนไซม์หลังจากการย่อยแล้วนำไปให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และนำไปทำแห้ง โดยจุดประสงค์หลักของการย่อยสลายโปรตีนปลาเพื่อให้ได้โปรตีนปลาที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ง่ายต่อการดูดซึม มีคุณสมบัติและหน้าที่ที่ดีเหมาะสม

ต่อการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทั้งนี้การนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นอาหารจุลินทรีย์ อาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ (Aksnes *et al.*, 2006)

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท

วิธีการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทโดยทั่วไปมี 3 วิธี ได้แก่

1. การย่อยด้วยกรด ได้แก่ การใช้สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) การย่อยสลายด้วยกรดนั้นพันธะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติกอยู่ทางด้านปลายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเปปไทด์อื่นๆ และยังทำให้กรดอะมิโนทริปโตเฟน ซีรีน หรืออินิน กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบถูกทำลาย ส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้หลังจากการย่อยต้องผ่านการปรับพีเอชให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาคือขึ้นอยู่กับ

ก. ชนิดและความเข้มข้นของกรด ซึ่งกรดไฮโดรคลอริกยังเป็นที่นิยมเนื่องจากมีประสิทธิภาพการย่อยพันธะเปปไทด์ได้มากกว่ากรดซัลฟูริก

ข. อุณหภูมิ ความดัน และเวลา การเพิ่มอุณหภูมิกับความดันจะเพิ่มอัตราเร็วของการย่อยโปรตีน ทำให้ใช้เวลาในการย่อยลดลง

ค. องค์ประกอบของวัตถุดิบ วัตถุดิบที่มีไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูงจะชะลอการเกิดปฏิกิริยาการย่อยของโปรตีน (อาภัสรา, 2535)

2. การย่อยด้วยด่าง ได้แก่ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งนิยมเป็นส่วนใหญ่ การใช้สารละลายด่างในการย่อยสลายโปรตีน จะมีปฏิกิริยาการย่อยที่เร็วกว่าการใช้สารละลายกรด แต่สารละลายด่างจะทำลายกรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ ซีรีน ซีสตีน ซิสเทอีน และไลซีน โดยปฏิกิริยาบีต้าเอลิมีเนชัน (β -elimination) (อาภัสรา, 2535)

3. การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส การผลิตด้วยเอนไซม์โปรติเอสอิสระพบว่าเอนไซม์อิสระมักมีความคงทนต่ำ สามารถใช้งานได้เพียงครั้งเดียวทำให้ต้นทุนการใช้งานสูง จากการศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเซทจากวัสดุเหลือใช้เอนไซม์อัลคาเลส พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี แต่ปริมาณผลผลิตที่ได้ต่ำประมาณ 3% การผลิตเป็นแบบไม่ต่อเนื่อง ต้องหยุดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยความร้อน จึงสิ้นเปลืองเอนไซม์ ด้วยเหตุนี้จึงควรศึกษาถึงแนวทางการเพิ่มปริมาณผลผลิตโดยการนำเทคโนโลยีการตรึงรูปร่างเอนไซม์มาใช้ สำหรับการเตรียมเอนไซม์อัลคาเลสตรึงรูปร่างได้มีการศึกษาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปร่างเอนไซม์อัลคาเลส ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงาน และศึกษาความคงทนของเอนไซม์อัลคาเลสตรึงรูปร่างเปรียบเทียบกับ เอนไซม์อัลคาเลสอิสระ (อาภัสรา, 2535)

โปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดได้จากซากปลาซัคเกอร์นี้จะนำไปศึกษาเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงปลานิลเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น วีรพงศ์ (2536) รายงานว่าปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำทุกชนิด เพราะมีโปรตีนที่มีคุณภาพสูงมากประมาณ 55 –60% มีกรดอะมิโนครบทุกชนิด มีปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมสูง มีกลิ่นที่ดีช่วยดึงดูดให้สัตว์น้ำกินอาหารได้มากขึ้น จากการที่ปลาป่นมีราคาแพงประมาณ 32.06 บาทต่อกิโลกรัม (รุ่งกานต์, 2552) จึงมีการนำวัตถุดิบชนิดอื่นๆ จากสัตว์ เช่น เลือดปลา เนื้อปลา หางนมผง มาใช้ทดแทน ถึงแม้ว่าวัตถุดิบเหล่านี้มีปริมาณโปรตีนสูงแต่เป็นโปรตีนที่ไม่มีคุณภาพ เนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนชนิด Leucine และ Isoleucine ต่ำมาก จึงมีข้อจำกัดในการใช้โดยให้ผสมในอาหารได้ไม่เกิน 5% (วีรพงศ์, 2536) นอกจากนี้ยังมีการนำแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีราคาถูกมาทดแทนปลาป่น เช่น กากถั่วเหลือง มีราคาประมาณ 20 บาทต่อกิโลกรัม (รุ่งกานต์, 2552) แต่มีข้อควรระวังเนื่องจากการผลิตกากถั่วเหลืองจำเป็นต้องมีความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งถ้าใช้ความร้อนมากเกินไป ทำให้กากถั่วเหลืองมีกลิ่นเหม็นและกรดอะมิโนชนิด Lysine จับตัวกับน้ำตาลทำให้ปลาไปใช้ประโยชน์ได้น้อยและเจริญเติบโตช้า แต่ถ้าให้ความร้อนน้อยเกินไปจะทำให้สารยับยั้งเอนไซม์ Trypsin ในกากถั่วเหลืองที่ไม่ถูกทำลายและเป็นอันตรายต่อปลา (วีรพงศ์, 2536) อีกทั้งกากถั่วเหลืองอาจมีการปนเปื้อนสารพิษ Aflatoxin ถึงแม้ว่าจะไม่เป็นอันตรายต่อปลาแต่สามารถก่อให้เกิดสารตกค้างในเนื้อปลาได้ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของต่างประเทศ Webster and Lim (2002) กล่าวว่าระดับโปรตีนในอาหารปลานิลขึ้นกับอายุและขนาดของปลา ซึ่งระดับโปรตีนในอาหารควรมีค่าตั้งแต่ 28 – 50 % โดยสูตรอาหารปลานิลมีส่วนผสมที่เป็น % โดยน้ำหนักของวัตถุดิบดังนี้ ปลาป่น 12% ถั่วลิสงป่น 6% ปลาช่อน 40% รำข้าว 41% และวิตามินกับเกลือแร่ 1% (เวียง, 2543) การศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากหนอนไหมอีรีทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดุกลูกผสมโดย-ณัฐกานต์และคณะ-(2552) พบว่าปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทจากหนอนไหมอีรีทดแทนที่ระดับ 25% ของโปรตีนปลาป่นให้ผลดีที่สุด เพราะทำให้อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และประสิทธิภาพของอาหารใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม วันชัย (2545) ศึกษาการผลิตและการใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซทและสารสกัดจากปลาจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารดึงดูด—การกินอาหารของปลากดเหลือง พบว่าระดับโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ใช้เคลือบเม็ดอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลา ปริมาณอาหารที่ปลากิน และ %น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ปลาที่ได้รับอาหารเคลือบโปรตีนไฮโดรไลเซท—ที่ระดับ 10% มีอัตราการรอดตายและน้ำหนักปลาสุดท้ายที่สูงกว่าอาหารที่เคลือบโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ระดับ 5%

คณะกรรมการบริหารสินค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ซึ่งประกอบด้วยกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล โรงงานผลิตอาหารปลาและโรงงานแปรรูปปลานิลได้ร่วมกันจัดทำยุทธศาสตร์การบริหารสินค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออกขึ้นในระหว่างปี พ.ศ. 2551-2554 เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพการผลิตปลานิลตามมาตรฐานระบบการผลิตที่ถูกต้องในฟาร์ม—และขยายช่องทางตลาดการส่งออกปลานิลให้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น

(กรมประมง, 2552) เพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมในการขับเคลื่อนการดำเนินงานตามยุทธศาสตร์ดังกล่าว การเพิ่มศักยภาพการผลิตปลานิลเพื่อการส่งออกจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง-คณะผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะนำโปรตีนไฮโดรไลเซต—ที่สกัดได้จากปลาซัคเกอร์มาใช้ทดแทนปลาป่นเพื่อลดต้นทุนการเลี้ยงด้านอาหารปลาของเกษตรกร โดยต้นทุนอาหารปลา—คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 60 % ของต้นทุนการเลี้ยงปลานิลทั้งหมด ทั้งนี้อาหารปลาจะมีปลาป่นเป็นส่วนประกอบประมาณ 20 – 25% ปี 2552 ปลาป่นมีราคาเฉลี่ยประมาณ 32.06 บาท/ กิโลกรัม ซึ่งปรับตัวสูงขึ้นจากปีก่อน—ซึ่งมีราคาเฉลี่ยประมาณ 30.54 บาท/กิโลกรัม สาเหตุที่ราคาปรับตัวสูงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศทำให้—ปลาที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปลาป่นมีปริมาณลดลง อาหารปลานิลสำเร็จรูป-1-กระสอบ/ น้ำหนัก-20-กิโลกรัม ราคาประมาณ 400 บาท จะประกอบด้วยต้นทุนของปลาป่นประมาณ 150 บาท ซึ่งถ้าเราสามารถลดต้นทุนการผลิตอาหารลงได้จะทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนการเลี้ยงลงและทำให้มีรายได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นการเพิ่มศักยภาพ—การผลิตของเกษตรกรโดยสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การบริหารสินค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ด้วยจังหวัดแถบภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา เป็นแหล่งการเลี้ยงปลา เพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออกที่สำคัญแหล่งหนึ่งของประเทศ ผลจากการศึกษาในครั้งนี้จะสามารถนำไปเผยแพร่และส่งเสริมให้เกษตรกรและกลุ่มเกษตรกรบริเวณดังกล่าว-สามารถผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก ปลาซัคเกอร์เพื่อที่จะนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารปลานิลเองได้ ทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนอาหาร และเป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากปลาซัคเกอร์ ทำให้ปลาซัคเกอร์ที่เป็นปัญหาต่อการประมงมีปริมาณที่ลดลง และทำให้เกิดการพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. สํารวจปริมาณปลาซัคเกอร์ที่จับได้จากแหล่งน้ำต่างๆ
2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยด้วยกรด
5. ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้เพื่อทดแทนโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสำรวจและรวบรวมข้อมูลปริมาณการแลกปลาซัคเกอร์กับพันธุ์ปลาของกรมประมงบริเวณจังหวัด เชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา

จากการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – สิงหาคม 2554 ซึ่งพบว่ามีจังหวัดเชียงรายเพียงจังหวัดเดียวที่มีการแลกปลาซัคเกอร์กับลูกพันธุ์ปลาโดยปลาซัคเกอร์ 208.30 กิโลกรัม แลกกับลูกพันธุ์ปลา ปลาสร้อยขาว ปลานิล ปลานิลแดง ปลาไน ปลานวลจันทร์เทศ ปลาเยี่ยงเทศ มีมูลค่าทั้งสิ้น 38,750 บาท ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลการแลกเปลี่ยนปลาซัคเกอร์กับลูกพันธุ์ปลาของกรมประมง
ระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – สิงหาคม 2554

จังหวัด	ปริมาณปลาซัคเกอร์ (กิโลกรัม)	มูลค่าพันธุ์ปลาที่แลกเปลี่ยน (บาท)
พะเยา	ไม่มีรายงาน	-
เชียงราย	208.30	38,750
เชียงใหม่	ไม่มีรายงาน	-
ลำปาง	ไม่มีรายงาน	-
ตาก	ไม่มีรายงาน	-
อุตรดิตถ์	ไม่มีรายงาน	-
รวม	208.30	38,750

2. ผลการศึกษาถึงผลกระทบและมูลค่าความเสียหายของเกษตรกรที่นำปลาซัคเกอร์มาแลกพันธุ์ปลาของ กรมประมงในจังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา

จากการสำรวจพื้นที่เพื่อศึกษาผลกระทบและมูลค่าความเสียหายของเกษตรกรที่นำปลาซัคเกอร์มาแลกพันธุ์ปลาของกับหน่วยงานของกรมประมงที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา ระหว่างช่วงเดือนตุลาคม-2553- -สิงหาคม 2554 พบว่าจังหวัดเชียงใหม่มีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ-12,468 ราย มีพื้นที่

มีพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 9,355 ไร่ จำนวนบ่อ 21,091 บ่อ และพื้นที่ประมงน้ำจืดประมาณ 1,394,515 ไร่ ปลาที่นิยมเพาะเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุก ปลาดุกเพี้ยน ปลาตะเพียน ปลาหมอสี และปลาสวาย เป็นต้น ปริมาณการจับสัตว์น้ำ 11,279,877 กิโลกรัม มูลค่าประมาณ 451,195,080 บาท

จากการสัมภาษณ์นายอนันต์ โกเสส หัวหน้ากลุ่มผู้เลี้ยงปลานิลสันทรายพัฒนา หมู่ 5 ตำบลหนองจ่อม อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีสมาชิกกลุ่ม 98 คน มีจำนวนบ่อเลี้ยงบ่อดิน ประมาณ 400 บ่อ ทราบว่า ปลาชัคเกอร์ได้สร้างปัญหาต่อการเลี้ยงปลานิลของทางกลุ่ม-โดยปลาชัคเกอร์ที่สามารถเล็ดลอดเข้ามาในบ่อเลี้ยง จะขยายขยายพันธุ์ พันธุ์ทำให้เกิดการแย่งทั้งอาหารและพื้นที่อาศัยของปลานิล ทำให้ปลานิลเจริญเติบโตช้า ส่งผลให้ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานกว่าปกติ ซึ่งระยะเวลาการเลี้ยงปกติ 7-8 เดือน อัตราการปล่อยปลา 5,000 ตัว/ไร่ ได้ปลานิลขนาด ขนาด ขนาด 9-10 ซีด/กิโลกรัม ต้องใช้เวลาเพิ่มเป็น 10-12 เดือน ถึงจะได้ปลานิลขนาดดังกล่าว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการเลี้ยง ได้แก่ ค่าอาหาร โดยปกติทางกลุ่มฯ ให้อาหารประมาณ 237 ถัง (20 กิโลกรัม)/บ่อ (2 ไร่)/8 เดือน ถ้าระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้นเป็น 10-12 เดือน ทำให้ปริมาณอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 297- 356 ถัง ส่งผลให้ต้นทุนด้านอาหารเพิ่มขึ้นประมาณ 25,620-50,813 บาท เมื่อดำเนินการจากราคาอาหารปลาที่มีโปรตีน 30% ในราคาเท่ากับ 427 บาท/ถัง ต่อการเลี้ยงปลา หนึ่งวงรอบ นอกจากนี้ปลาชัคเกอร์ยังสร้างปัญหาตอนที่ทางกลุ่มฯ จับปลา เพราะปลาชัคเกอร์ซึ่งลำตัวมีหนามที่แข็งและแหลมคม ทำความเสียหายให้กับปลานิลระหว่างการลากอวน ทำให้ปลานิลที่จับได้เกิดบาดแผล มีสภาพไม่สมบูรณ์ส่งผลให้จำหน่ายไม่ได้ราคา ส่วนปลาชัคเกอร์ที่ได้จากการขุดลอกบ่อเลี้ยงประมาณ 20 กิโลกรัม/บ่อ สมาชิกไม่ได้นำไปแลกพันธุ์ปลากับหน่วยงานของกรมประมง แต่ทำลายโดยวิธีการเผาหรือทิ้ง



นายอนันต์ โกเสส (ขวามือ) หัวหน้ากลุ่มผู้เลี้ยงปลานิลสันทรายพัฒนา



บริเวณบ่อเลี้ยงกลุ่มผู้เลี้ยงปลานิลสันทรายพัฒนา

จากการสัมภาษณ์นายวิญญู บุญประเสริฐ นักวิชาการประมง ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงใหม่ ทราบว่าไม่มีข้อมูลการแลกเปลี่ยนปลาสลิดเกอร์กับพันธุ์ปลาของกรมประมง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากระยะทางไกล ปลาสลิดเกอร์ที่นำมาแลกเปลี่ยนแต่ละครั้งมีจำนวนที่ไม่คุ้มค่างับค่าใช้จ่ายในการเดินทาง เกษตรกรจึงนิยมทำลายหลังจากจับได้



นายวิญญู บุญประเสริฐ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงใหม่

จังหวัดเชียงรายมีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 2,058 ราย มีพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 2,581 ไร่ จำนวน บ่อ 3,500 บ่อ และพื้นที่ประมงน้ำจืดประมาณ 1,394,515 ไร่ มีแหล่งน้ำสาธารณะ จำนวน 2,134 แห่ง พื้นที่ 57,684.74 ไร่ ปลาที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุก ปลาดุกเพี้ยน ปลากดหลวง และปลาสวาย เป็นต้น ปริมาณการจับสัตว์น้ำ 11,279,877 กิโลกรัม มูลค่า 451,195,080 บาท

จากการสัมภาษณ์นายเสกสรร คำเตือน นักวิชาการประมง สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงราย ทราบว่า เกษตรกรในจังหวัดเชียงราย ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอขุนตาล อำเภอเวียงชัย อำเภอแม่จัน จำนวน 10 ราย ได้รับความเสียหายจากปลาซัคเกอร์ โดยปัญหาส่วนใหญ่ที่เกิดจากปลาซัคเกอร์ คือ สร้างความเสียหายให้กับเครื่องมือประมง เช่น แห อวน และบริเวณคันรอบบ่อ โดยมีมูลค่าความเสียหายประมาณ 25,000 - 35,500 บาท/ราย

จากการสัมภาษณ์นายทัศนัย แก้วไชยา อติตสารวัตรกำนัน หมู่ 5 ตำบลจอมสวรรค์ อำเภอแม่จัน จังหวัด เชียงราย ซึ่งพื้นที่ดังกล่าวพบปลาซัคเกอร์ในแหล่งน้ำสาธารณะที่ประมงให้เลี้ยงปลานิลและปลาไน-ในบ่อดินจำนวน 7 บ่อ พื้นที่เฉลี่ยบ่อละ 3 งาน - 1 ไร่ โดยพบปลาซัคเกอร์ประมาณ 40-50 กิโลกรัม/บ่อ โดยทางคุณทัศนัยจะเป็นผู้ รวบรวมปลาซัคเกอร์ที่จับได้และนำไปแลกพันธุ์ปลาที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงราย



นายทัศนัย แก้วไชยา อติตสารวัตรกำนัน



แหล่งน้ำสาธารณะ



ปลาซัคเกอร์ที่พบ

จังหวัดตากมีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวน 5,114 ราย มีแหล่งน้ำสาธารณะจำนวน 307 แห่ง พื้นที่ประมาณ 18,197.16 ไร่ ปลาที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาดุก ปลาดุก ปลาตะเพียน และปลาไน เป็นต้น จากการสัมภาษณ์นายสุนทรี วงษ์เสนสะ เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลานิล ปลาไน ปลาอีสกเทศ ในบ่อดินจำนวน 29 บ่อ ทราบว่าสภาพของปัญหาจากปลาซัคเกอร์นั้นคล้ายกันกับพื้นที่อื่นๆ คือปลาซัคเกอร์จะไปแย่งพื้นที่อาศัยของปลาที่เลี้ยงในบ่อทำให้มีความหนาแน่นของปลาทั้งหมดต่อพื้นที่สูงขึ้น ส่งผลให้ปลาเจริญเติบโตได้ช้าทำให้ต้นทุนการเลี้ยงสูงขึ้น โดยฟาร์มคุณสุนทรี พบปลาซัคเกอร์ตอนลอกบ่อประมาณ 5-10 กิโลกรัม/บ่อ และมักทำลายโดยการเผา

จังหวัดอุดรดิตถ์มีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวน 9,889 ราย มีพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 12,474.70 ไร่ จำนวนบ่อ 21,844 บ่อ มีแหล่งน้ำสาธารณะจำนวน 8 แห่ง พื้นที่ 11,063 ไร่ ปลาที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุก ปลาตะเพียน ปลากดหลวง และปลาสร้อย เป็นต้น

จากการสัมภาษณ์นายสมพล ศุกระกาญจน์ หัวหน้ากลุ่มบริหารจัดการด้านการประมง สำนักงานประมงจังหวัดอุดรดิตถ์ ทราบว่าไม่มีเกษตรกรนำปลาซัคเกอร์มาแลกเปลี่ยนกับพันธุ์ปลาของกรมประมง อาจมีสาเหตุเนื่องจากไม่คุ้มค่ากับค่าใช้จ่ายในการเดินทาง โดยเกษตรกรนิยมทำลายทิ้งเอง

จังหวัดพะเยามีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวน 5,184 ราย มีพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 62,523.31 ไร่ มีแหล่งน้ำสาธารณะจำนวน 330 แห่ง พื้นที่ประมาณ 49,809.14 ไร่ ปลาที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุก ปลาตะเพียน ปลากดหลวง และปลาสร้อย เป็นต้น

จากการสัมภาษณ์นายสมิง อ้อยหวาน สมาชิกสหกรณ์ผู้เลี้ยงปลานิลบ้านต้า ตำบลบ้านต้า อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา ทางสหกรณ์ฯ มีสมาชิกจำนวน 70 ราย จำนวนบ่อเลี้ยง 200 บ่อ ทราบว่าได้พบปลาซัคเกอร์ตอนลอกบ่อประมาณ 10 – 15 กิโลกรัม/บ่อ ส่งผลทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นเพราะปลาอาศัยอยู่อย่างหนาแน่น ส่งผลกระทบทำให้ปลานิลเจริญเติบโตช้า

จังหวัดลำปางมีเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวน 14,366 ราย มีพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประมาณ 9,704.20 ไร่ จำนวนบ่อ 19,424 บ่อ ปลาที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุก เป็นต้น

จากการสัมภาษณ์นายล้วน จันทร์หอม ปราชญ์ด้านการเลี้ยงปลานิลในกระชังและประมงอาสา ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงปลานิลในกระชัง ประมาณ 60 กระชัง ขนาดกระชัง กว้างxยาวxลึก เท่ากับ 3x3x2.5 เมตร อวนที่ใช้ทำการเพาะเลี้ยงปลานิลในกระชัง ประมาณ 5 – 6 เดือน ทราบว่าปลาซัคเกอร์นั้นไม่ได้รับกวนการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง แต่ทำให้อวนฉีกขาดและเสียหายได้เนื่องจากลักษณะลำตัวที่เป็นเกราะแข็งมีหนามที่แหลมคม ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการซ่อมบำรุง จากข้อมูลที่ได้ทราบว่าค่าอวนที่ใช้ทำกระชัง เท่ากับ

Formatted: Left

1,800 บาท/กระชัง (พื้นที่อวนประมาณ 22.50 ตารางเมตร/ กระชัง) สามารถคำนวณได้ ค่าอวน 1 ตารางเมตร เท่ากับ 80 บาท ซึ่งความเสียหายที่เกิดขึ้นจากปลาชัคเกอร์นั้น ประมาณ 1-2 ตารางเมตร-/กระชัง คิดเป็นมูลค่า ประมาณ 80 – 160 บาท/ กระชัง โดย หนึ่งรอบการเลี้ยงจะต้องซ่อมแซมกระชังประมาณ 2 ครั้ง ทำให้ต้องเสีย ค่าใช้จ่ายใน—การซ่อมแซมกระชังประมาณ 160 – 320 บาท/กระชัง/รอบการเลี้ยง รวมมูลค่าความเสียหายทั้งหมด ประมาณ 9,600 – 19,200 บาท ต่อการเลี้ยงหนึ่งรอบ



นายล้วน จันทร์หอม



กระชังเลี้ยงปลานิล



อวนที่ชำรุด

จากข้อมูลของกรมประมง (2548) ได้รายงานว่าปลาซัคเกอร์พบได้เกือบทั่วทุกภาคของประเทศไทยส่วนใหญ่จะพบในแหล่งน้ำที่เป็นแหล่งน้ำปิด ที่มีการทำการประมงจึงทำให้เกิดปัญหาต่างๆ ดังนี้

1. ปลาซัคเกอร์จะทำลายเครื่องมือประมงของชาวประมง เช่น เครื่องมือข่าย แห อวน เป็นต้น โดยปลาซัคเกอร์ที่จับได้ด้วยเครื่องมือข่ายส่วนมากจะมีขนาดใหญ่ และจะติดข่ายก่อนปลาชนิดอื่นโดยทั่วไปแล้วเมื่อปลาติดข่ายมักจะดิ้นและมีการสะบัดตัวเพื่อให้หลุดจากข่าย แต่เนื่องจากปลาซัคเกอร์มีอวัยวะป้องกันตัวที่แข็งแรงและคมมาก เมื่อปลาดิ้นหรือสะบัดตัว จะทำให้ข่ายขาดและใช้งานไม่ได้เพราะจะเกิดรูขนาดใหญ่มากเกิดขึ้น

2. เมื่อจับได้ปลาซัคเกอร์ชาวประมงไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากปลาซัคเกอร์ไม่ใช่ปลาเศรษฐกิจและไม่ก่อให้เกิดผลประโยชน์ต่อชาวประมง ไม่สามารถนำไปขายเป็นรายได้เพื่อการยังชีพได้แล้ว ปลาซัคเกอร์ยังไม่เป็นที่นิยมรับประทานอีกจึงทำให้เมื่อชาวประมงจับปลาซัคเกอร์ได้แล้วส่วนใหญ่จะปล่อยกลับลงสู่แหล่งน้ำที่จับได้

3. ทำให้ปลาเศรษฐกิจลดจำนวนลง สาเหตุเนื่องจากปลาซัคเกอร์ที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นไปทำลายหรือกินไข่ปลาและลูกปลาที่มีขนาดเล็ก ซึ่งโดยธรรมชาติปลาน้ำจืดเหล่านี้มักวางไข่ติดตามรากไม้หรือก้อนหิน และปลาซัคเกอร์เป็นปลาที่กินซากพืชซากสัตว์หรือตะไคร่น้ำที่ติดตามวัสดุต่างๆ บริเวณพื้นน้ำ ดังนั้นไข่ปลาที่ติดอยู่จึงถูกจับกินเป็นอาหารด้วย หากปล่อยไว้โดยไม่หาวิธีป้องกันจะทำให้ปลาท้องถิ่นเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้

4. ผลต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปลาซัคเกอร์ส่วนใหญ่จะอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่เป็นแหล่งน้ำปิด ซึ่งส่วนใหญ่จะมีผลต่อชาวประมงที่เลี้ยงปลาในกระชังในบริเวณที่มีปลาซัคเกอร์อาศัยอยู่ ปลาซัคเกอร์ว่ายน้ำไปติดกระชังของชาวประมงทำให้เกิดความเสียหาย ปลาในกระชังหลุดลอดออกสู่แหล่งน้ำ ทำให้ชาวประมงขาดรายได้

3. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์ทั้งตัว

นำตัวอย่างปลาซัคเกอร์สดทั้งตัว มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และปริมาณ เกลือโซเดียมคลอไรด์ ตามวิธีการของ AOAC (2000)

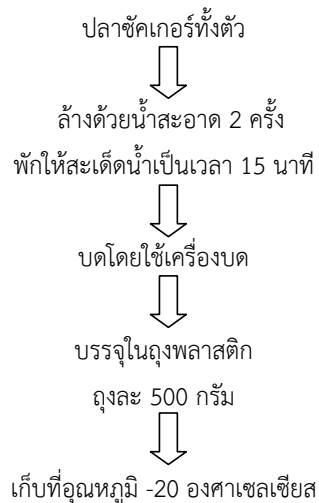
ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์ทั้งตัว ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เกลือโซเดียมคลอไรด์ และอื่นๆ พบว่ามีค่าดังนี้ $49.83 \pm 2.77\%$, $19.09 \pm 0.63\%$, $7.74 \pm 0.67\%$, $17.87 \pm 0.66\%$, $2.78 \pm 0.93\%$ และ $2.69 \pm 1.24\%$ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

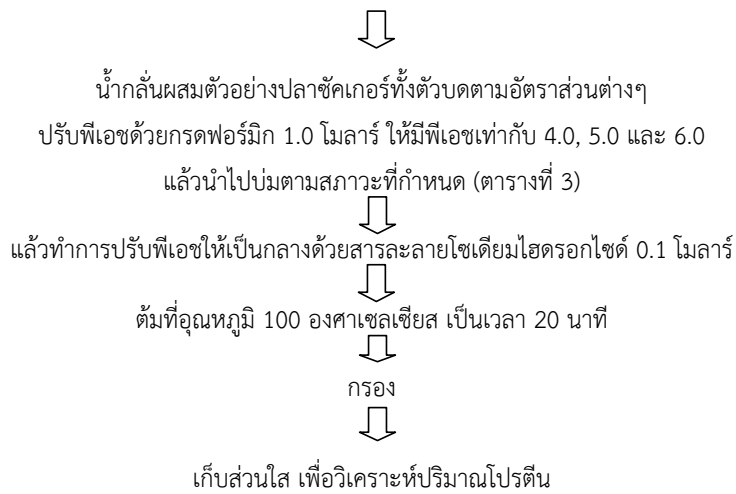
ตารางที่ 2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของปลาซัคเกอร์สดทั้งตัวด้วยวิธีการวิเคราะห์ของ-AOAC._(2000)

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%) $\pm$ SD
ความชื้น	49.83 ± 2.77
โปรตีน	19.09 ± 0.63
ไขมัน	7.74 ± 0.67
เถ้า	17.87 ± 0.66
เกลือโซเดียมคลอไรด์	2.78 ± 0.93
อื่นๆ	2.69 ± 1.24

4. ศึกษาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis)

การศึกษากการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเองดัดแปลงมาจากการทดลองของ Samaranayaka และ Li-Chan (2008) ซึ่งมีขั้นตอนการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต ดังนี้





ตัวอย่างปลาซัคเกอร์ที่นำมาทดลอง



ตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียด

การวางแผนการทดลองแบบ Response Surface Methodology (RSM) เป็นเทคนิคทางสถิติอย่างหนึ่งที่ใช้หลักการของการสร้างแบบจำลองของการทดลอง (experimental model) และนำโมเดลที่สร้างมาใช้ประโยชน์ในการอธิบายความสัมพันธ์และอิทธิพลของระดับของปัจจัย/ตัวแปรต้นต่างๆ ที่เป็นที่น่าสนใจของนักวิจัย (independent variables) ต่อตัวแปรตาม (dependent variables) หรือค่าตอบสนอง (responses) (Box และ Draper, 2007) ผลที่ตามมาคือนักวิจัยสามารถจุดที่เหมาะสมจากความสัมพันธ์เหล่านั้นได้ ซึ่ง Santisawadi *et al.* (2013) อธิบายว่า RSM คือเครื่องมือทางคณิตศาสตร์ที่ช่วยในการหาสภาวะที่เหมาะสมได้โดยใช้จำนวนหน่วยทดลองน้อยที่สุด (minimum number of experiments) สำหรับทำการทดลองที่จะให้ได้มาซึ่งผลการทดลองที่เป็นที่ยอมรับและ

พึงพอใจ เทคนิค RSM นั้นสามารถใช้ประเมินอิทธิพลของตัวแปรต่างๆ ต่อค่าตอบสนอง ได้ครั้งละหนึ่งตัวแปร-หรือพร้อมกันหลายๆ ตัวแปรหรือศึกษาอิทธิพลร่วมของตัวแปรต่างๆก็ได้ ทั้งยังสามารถใช้ทำนายค่าตอบสนองได้ตามสมภาวะที่เรากำหนด ซึ่งเทคนิค RSM นี้สามารถประยุกต์ใช้ได้หลากหลายงานวิจัย และเป็นที่ยอมรับสำหรับการใช้หาสมภาวะที่เหมาะสมในการวิจัยทางอาหารเพื่อหากระบวนการที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูปเนื่องจากวิธี RSM นี้ใช้หลักการหรือทฤษฎีที่หลากหลาย (Artega *et al.*, 1994)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเองด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ พีเอช (3-5) อุณหภูมิ (30-50°C) และอัตราส่วนระหว่างน้ำต่อปลาซัคเกอร์บด (100:100, 150:100, 200:100%) โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4 แสดงจำนวนของสิ่งทดลองและการทำนายปริมาณโปรตีนที่ได้จากการคำนวณ

ปริมาณน้ำที่ใช้ในการทดลองใช้การปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นและการปรับพีเอชด้วยกรดฟอร์มิกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ เป็นระดับต่างๆ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ ตามแผนการทดลอง ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ นำตัวอย่างไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองเก็บส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ค่าโปรตีนโดยวิธีของ Biuret method (Gornall *et al.*, 1949)

ตารางที่ 3 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลองสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตวิธีกรย่อยสลายด้วยตัวเอง

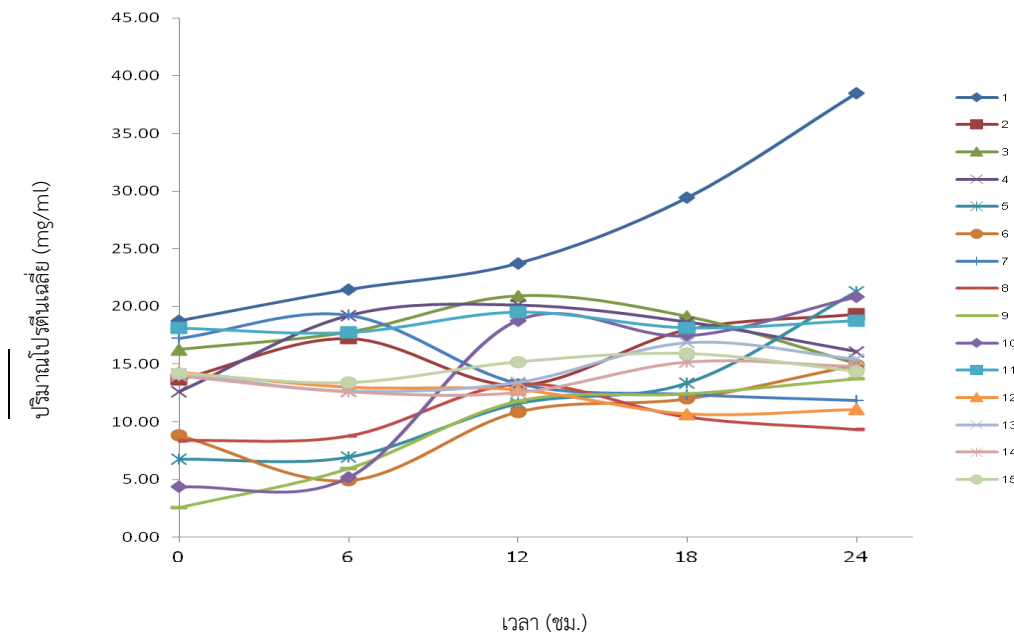
ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
อัตราส่วนระหว่างน้ำ:ปลาซัคเกอร์บด (%) : X_1	100:100	150:100	200:100
พีเอช : X_2	3.0	4.0	5.0
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส): X_3	30	40	50

ตารางที่ 4 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองสัปดาห์โปรตีนไฮโดรไลเซทวิธีกรย่อยสลายด้วยตัวเอง และปริมาณโปรตีนที่ได้จากการคำนวณและการทำนายปริมาณของโปรตีนจากสมการของแบบจำลอง

	Code level			ปัจจัย			ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (mg/ml)	ปริมาณโปรตีนทำนายจากสมการ (mg/ml)
	X_1	X_2	X_3	ปริมาณน้ำกลั่นต่อปริมาณตัวอย่าง (%)	พีเอช	อุณหภูมิที่บ่ม ($^{\circ}\text{C}$)		
1	-1	-1	0	100:100	3.0	40	26.37±7.83	25.17
2	+1	-1	0	200:100	3.0	40	16.29±2.72	16.13
3	-1	+1	0	100:100	5.0	40	17.83±2.32	17.99
4	+1	+1	0	200:100	5.0	40	17.33±3.04	18.53
5	-1	0	-1	100:100	4.0	30	11.99±5.92	11.73
6	+1	0	-1	200:100	4.0	30	10.34±3.74	9.03
7	-1	0	+1	100:100	4.0	50	14.80±3.26	15.96
8	+1	0	+1	200:100	4.0	50	10.04±1.98	10.17
9	0	-1	-1	150:100	3.0	30	9.29±4.82	10.62
10	0	+1	-1	150:100	5.0	30	13.32±7.91	13.28
11	0	-1	+1	150:100	3.0	50	18.46±0.68	18.36
12	0	+1	+1	150:100	5.0	50	12.39±1.50	10.92
13	0	0	0	150:100	4.0	40	14.52±1.66	14.32
14	0	0	0	150:100	4.0	40	13.81±1.21	14.32
15	0	0	0	150:100	4.0	40	14.63±0.96	14.32

หมายเหตุ: X_1 = อัตราส่วนระหว่างน้ำ : ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 = ระดับพีเอช X_3 = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

Formatted: Space After: 0 pt



ภาพที่ 1 แสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการย่อยสลายด้วยตัวเองทั้ง -15 หน่วยทดลอง

ค่าปริมาณโปรตีนเฉลี่ยคำนวณจากการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (0, 6, 12, 18, 24 ชั่วโมง) และหาค่าเฉลี่ยโดยจากผลการทดลองพบว่าหน่วยทดลองที่ให้แนวโน้มการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายตัวเองได้ดีที่สุด คือ หน่วยทดลองที่ 1 ซึ่งได้ปริมาณค่าเฉลี่ย (ชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 18 และ 24) ของโปรตีนค่อนข้างสูงที่ระดับ 26.37 ± 7.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนในหน่วยทดลองอื่นจะให้ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยที่คล้ายคลึงกัน จากนั้นนำค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่ได้ของแต่ละหน่วยทดลองไปคำนวณหาจุดที่เหมาะสมของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายตัวเองโดยโปรแกรม Minitab 16 เพื่อสร้างแบบจำลองการสกัดโปรตีนและหาจุดที่เหมาะสมของสภาวะการสกัด การที่กำหนดปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างปริมาณน้ำกลั่นต่อตัวอย่างพีเอช อุณหภูมิ และเวลาที่สกัด เพราะปัจจัยเหล่านี้มีความสัมพันธ์ต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้สอดคล้องกับการทดลองของ Bhaskar and Mahendrakar (2008) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเครื่องในปลา Catla โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อปริมาณตัวอย่าง พีเอช อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้สกัด ส่วนของกระเพาะปลาชัคเกอร์นั้นมีเอนไซม์เปปซิน ซึ่งมีความสามารถในการย่อยโปรตีน (Sikorski et al., 1994) และช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เปปซินระหว่าง 3 – 4 ถ้าพีเอชสูงกว่านี้กิจกรรมของเอนไซม์เปปซินจะลดลงเนื่องจากเสื่อมเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน (ปราณี, 2535)

ตารางที่ 5 ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพื้นที่ตอบสนองของปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง

Parameter	Term	Coefficient	P-value
B0	Constant	14.3200	0.000**
B1	X_1	-2.1239	0.009**
B2	X_2	-1.1924	0.066 ^{ns}
B3	X_3	1.3435	0.046*
B11	X_1^2	1.7797	0.064 ^{ns}
B12	X_1X_2	2.3955	0.021*
B13	X_1X_3	-0.7750	0.331 ^{ns}
B22	X_2^2	3.3534	0.007**
B23	X_2X_3	-2.5255	0.017*
B32	X_3^2	-4.3077	0.002**

หมายเหตุ : X_1 = อัตราส่วนระหว่างน้ำ:ปลาชัคเกอร์บด (%) X_2 = พีเอช X_3 = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

* หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

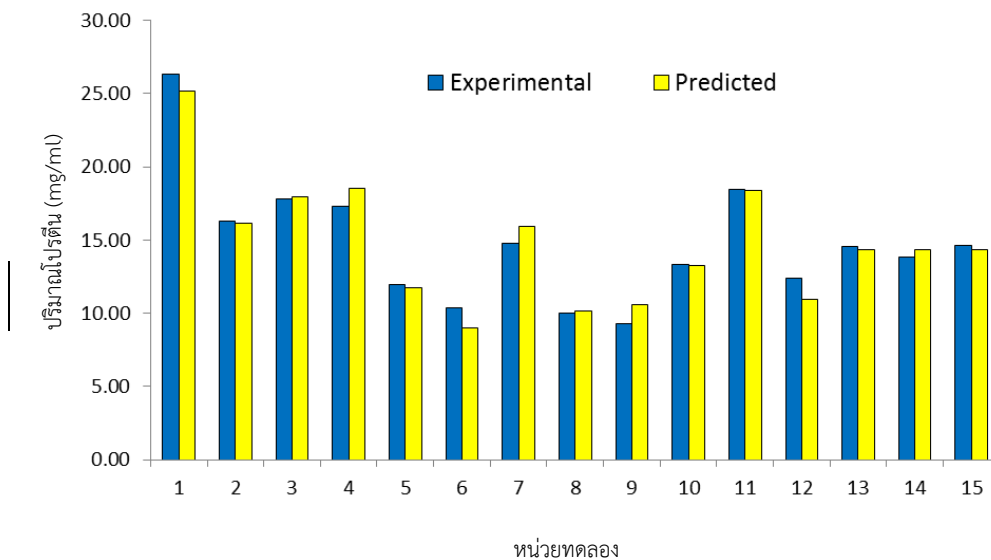
จากการทำการทดลองโดยวิธีการสุ่มเพื่อลดผลกระทบจากความแปรปรวนของการทำนายในการวิเคราะห์โดยวิธีพื้นที่การตอบสนองโดยการสร้างสมการถดถอยเพื่อให้เหมาะสม จะประกอบด้วยสมการเส้นตรง (X_1 , X_2 , X_3) ปฏิสัมพันธ์ (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) และสมการกำลังสอง (X_1^2 , X_2^2 , X_3^2) ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการกำลังสองของแบบจำลอง แสดงในตารางที่ 5 และแสดงค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายโดยแบบจำลอง แสดงในตารางที่ 4 โดยการวิเคราะห์ได้เลือกใช้สมการเต็มรูป (full model) เพื่อใช้ในการทำนายปริมาณโปรตีนและหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตได้สมการดังตารางที่ 6 ซึ่งแสดงค่า R^2 ที่ค่อนข้างสูง (0.96) แสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองที่สามารถใช้ในการหาพื้นที่การตอบสนองได้ ประกอบด้วยแบบจำลองมีค่า P-value ที่น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง

Response	Quadratic polynomial model	R^2	P-value
Protein	Full model $Y_1 = 14.320 - 2.124X_1 - 1.192X_2 + 1.344X_3 + 1.780X_1^2 + 2.396X_1X_2 - 0.775X_1X_3 + 3.353X_2^2 - 2.526X_2X_3 - 4.308X_3^2$	0.9593	0.006

Y (ปริมาณโปรตีน, มิลลิกรัม/มิลลิลิตร), X_1 (อัตราส่วนระหว่างน้ำ:ปลาซัคเกอร์บด, %), X_2 (พีเอช), X_3 (อุณหภูมิ, องศาเซลเซียส)

ผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองซึ่งจะแสดงให้เห็นความแม่นยำในการทำนาย ค่าตอบสนองภายใต้สภาวะที่กำหนดของแบบจำลองที่สร้างขึ้น (Arteaga *et al.*, 1994)



ภาพที่ 2 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

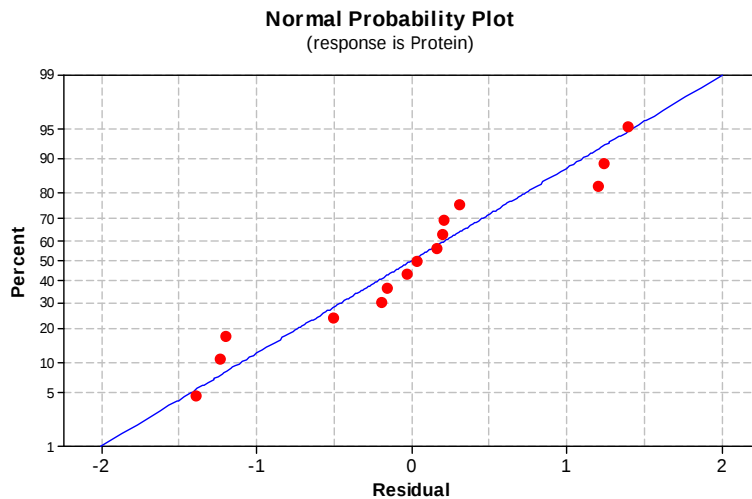
การวิเคราะห์ความแปรปรวนสามารถนำมาใช้ในการประเมินความเหมาะสมของรูปแบบสมการพหุนาม สมการกำลังสอง โดยสมการที่มีความเหมาะสม จะมีค่า F -value ที่สูง และ P -value จะมีค่าที่น้อยมากๆ จะแสดงผล อย่างมีนัยสำคัญของการตอบสนองของตัวแปรตาม (Yuan *et al.*, 2008) ซึ่งตารางที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่อธิบายถึงการตอบสนองของตัวแปรอย่างมีนัยสำคัญที่แสดงโดยค่า P -value ของ สมการเส้นตรงของแบบจำลอง (X_1 , X_2 และ X_3) และปฏิสัมพันธ์ของแบบจำลอง (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) ความแตกต่าง ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ส่วนสมการกำลังสอง (X_1^2 , X_2^2 , X_3^2) ของแบบจำลองมีความแตกต่างทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$) ซึ่งการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เป็นการทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติ ของทุกเทอมของสมการ (สมการเส้นตรง สมการกำลังสอง และปฏิสัมพันธ์) และ residual variances (ค่า lack of fit และค่า pure experimental error) ของแบบจำลองวิเคราะห์เพื่อจะกำหนดพื้นที่การตอบสนอง (response surface) (Madamba, 2002) แบบจำลองที่เหมาะสมนั้นต้องแสดงค่า F -value ของแบบจำลอง ที่ต้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และค่า lack of fit ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (อนุวัตร, 2549) แบบจำลองการสกัดโปรตีนจากปลาชัคเกอร์ด้วยการย่อยสลายด้วยตัวเอง แสดงค่า F -value ที่มีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และค่า lack of fit ที่แสดงถึงความเหมาะสมของโมเดล โดยค่า lack of fit ต้องแสดงในลักษณะ ที่ค่า P -value สูง หมายถึงเป็นแบบจำลองที่เหมาะสมแล้ว (Cho *et al.*, 2005; Zhou & Regenstien, 2004) จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ตารางที่ 7 พบว่าค่า P -value ของ lack of fit มีค่า 0.056 ซึ่งเป็นค่า ที่มากกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้เหมาะสมแล้ว ($P > 0.05$) จึงสามารถใช้แบบจำลองนี้สำหรับการทำนายการสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ได้เป็นอย่างดีประกอบกับข้อมูลจากการทดลองนี้ได้แสดงค่า R^2 ของแบบจำลอง ที่ค่อนข้างสูง (0.96) สามารถแสดงถึงความแม่นยำในการทำนายตัวแปรตามได้

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	9	244.468	27.1631	13.09	0.006**
Linear	3	61.902	20.6341	9.95	0.015*
Square	3	131.694	43.8981	21.16	0.003**
Interaction	3	50.871	16.9569	8.17	0.023*
Residual Error	5	10.374	2.0747		
Lack-of-Fit	3	9.980	3.3267	16.91	0.056 ^{ns}
Pure Error	2	0.393	0.1967		
Total	14	254.841			

หมายเหตุ : * หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)
 ** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)
 ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

ความเหมาะสมของแบบจำลองสามารถดูจากการกระจายของข้อมูลที่ถูกกำหนดเป็นตัวแปรตาม (ปริมาณโปรตีน) ซึ่งวิเคราะห์โดยโปรแกรม Minitab กราฟการกระจายของข้อมูลแสดงดังภาพที่ 3 จากกราฟแสดงการกระจายของข้อมูลที่เป็นปกติ ซึ่งหมายความว่าแบบจำลองที่ดี ซึ่งความเหมาะสมของแบบจำลองสามารถสังเกตได้โดยการตรวจสอบจากกราฟ Normal Probability Plot คือถ้า Normal Probability Plot ของตัวแปรตามแสดงการกระจายปกติของกราฟ แสดงว่ารูปแบบของแบบจำลองมีความเหมาะสม (Bezerra *et al.*, 2008)



ภาพที่ 3 กราฟ Normal Probability Plot ของค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากการย่อยสลายด้วยตัวเอง

การหาสถานะที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม Minitab

หาสถานะที่เหมาะสมโดยรวมสำหรับการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง โดยใช้ฟังก์ชันทางสถิติของโปรแกรม Minitab โดยตัวแปรของฟังก์ชันจะถูกกำหนดไว้ดังตารางที่ 8 เป้าหมายของการหาสถานะที่เหมาะสมคือ การได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด และให้ความสำคัญเท่ากับ 1.0

ตารางที่ 8 แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสถานะที่เหมาะสมของสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต

โดยการย่อยสลายด้วยตัวเอง-โดยฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab

Protein	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Importance
	Maximum	9	28	28	1	1

ผลที่ได้จากการหาจุดที่เหมาะสมโดยโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 9 จากจุดที่เหมาะสมที่ได้จากโปรแกรม พบว่าสถานะที่จะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ สถานะที่ใช้ ปริมาณน้ำกลั่น (-1 ของ code value) เท่ากับ 100% ค่าพีเอช (-1 ของ code value) ประมาณ 3.0 และอุณหภูมิ (0.54 ของ code value) ที่ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสามารถ

สกัดโปรตีนได้ปริมาณเท่ากับ 26.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยฟังก์ชันของโปรแกรม อยู่ในระดับความพึงพอใจเท่ากับ 0.92%

ตารางที่ 9 แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยด้วยตัวเอง
จากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง

Optimal solution			Predicted response	
X ₁	X ₂	X ₃	Protein (mg/ml)	
(code value)				
-1	-1	0.54	Predicted value	26.42
			Individual desirability	0.92 %
			Composite desirability	0.92 %
(Real value)				
100%	3.0	45°C	Experimental value*	<u>29.1230-06</u> ± <u>0.4254</u>

หมายเหตุ : X₁ = อัตราส่วนระหว่างน้ำกับปลาซัคเกอร์บด (%) X₂ = พีเอช X₃ = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

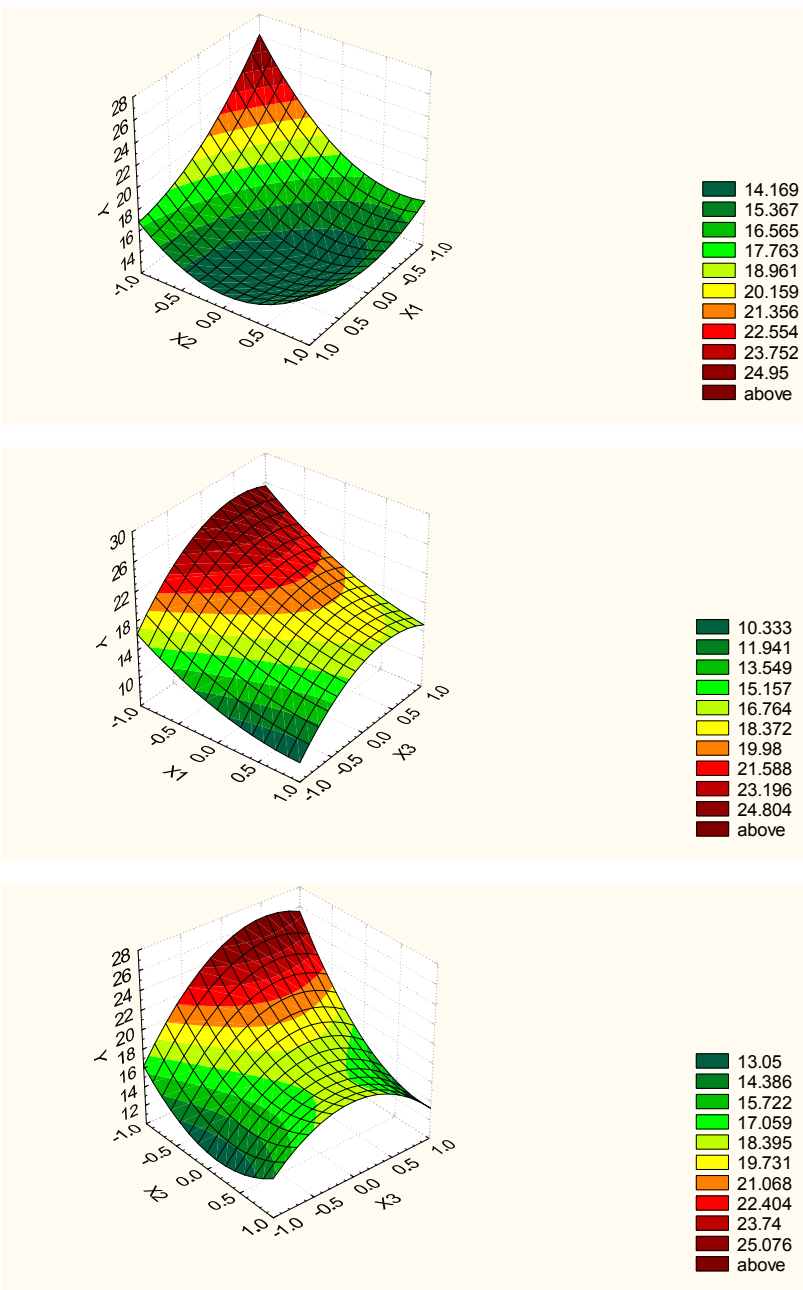
*ข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำตามสภาวะที่เหมาะสมจากแบบจำลองระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง

ผลการทดลองในภาพที่ 4 และภาพที่ 5 แสดงกราฟพื้นที่การตอบสนองจากแบบจำลองที่แสดงถึงผลของอัตราส่วนระหว่างน้ำกับปลาซัคเกอร์บด (X₁) ค่าพีเอชของสารละลายปลาซัคเกอร์ (X₂) และระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต (X₃) ต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้ (Y) กล่าวคือ ภาพที่ 4 และภาพที่ 5 เป็นภาพที่แสดงให้เห็นอิทธิพลและความสัมพันธ์ของ independent variables ต่อ responses หรือ dependent variables ซึ่ง independent variables ได้แก่ ปริมาณน้ำที่เติมในตัวอย่างปลาซัคเกอร์บด (%) ค่าพีเอชของสารละลายปลาซัคเกอร์ และระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต (องศาเซลเซียส) ส่วน responses คือปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร)

จากกราฟพื้นที่การตอบสนองแสดงให้เห็นว่าปัจจัยทั้ง 3 เป็นสิ่งสำคัญในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง คืออัตราส่วนระหว่างน้ำกับปลาซัคเกอร์บด และระดับพีเอชของปลาบดผสมน้ำ พบว่าเมื่อใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำกับปลาซัคเกอร์บด เท่ากับ 100:100 จะทำให้สามารถสกัดโปรตีนได้ดียิ่งขึ้นโดยสังเกตว่าปริมาณโปรตีนยิ่งเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณน้ำน้อยลง ในทำนองเดียวกันการปรับพีเอชที่ระดับต่ำจะช่วยให้การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ซึ่งพีเอชที่เหมาะสมควรอยู่ระดับ 3 และอุณหภูมิที่ใช้

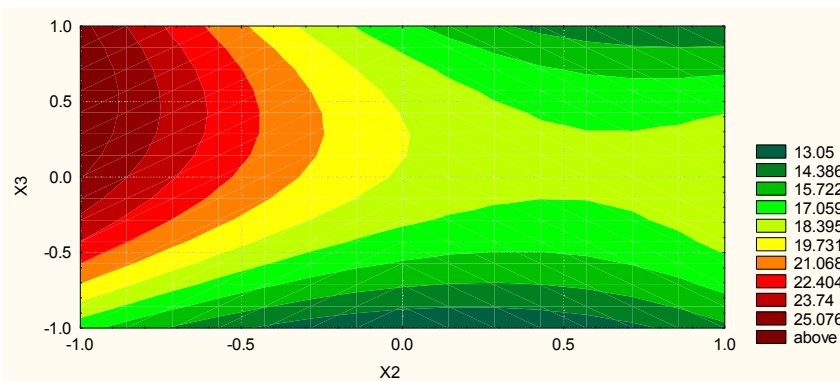
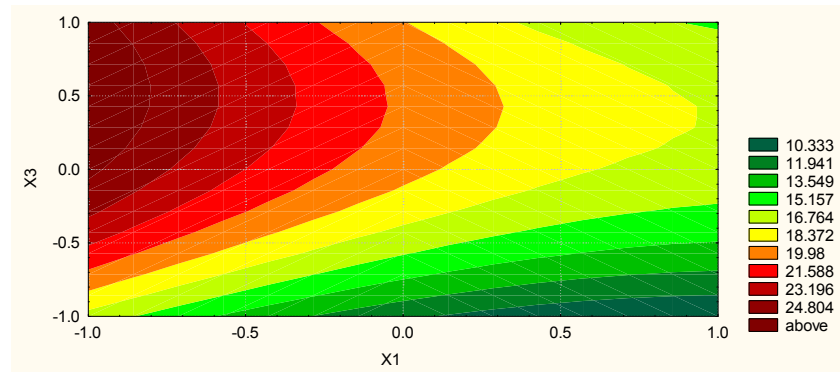
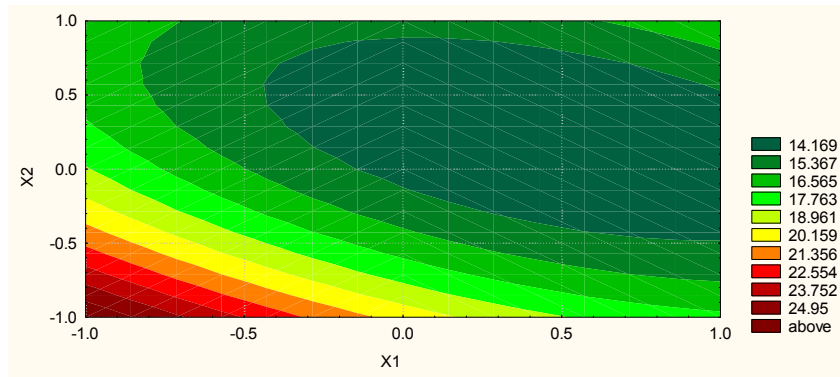
ในกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองต้องเป็นระดับอุณหภูมิที่สูงระดับหนึ่ง คือประมาณ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งจากพื้นที่การตอบสนองแสดงว่าหากอุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้ได้ปริมาณโปรตีนที่ลดลง อาจจะเป็นไปได้ว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นนั้นจะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์และจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติในวัตถุดิบปลาซัคเกอร์

$$Y_1 = 14.320 - 2.124X_1 - 1.192X_2 + 1.344X_3 + 1.780X_1^2 + 2.396 X_1X_2 - 0.775X_1X_3 + 3.353 X_2^2 - 2.526X_2X_3 - 4.308 X_3^2$$



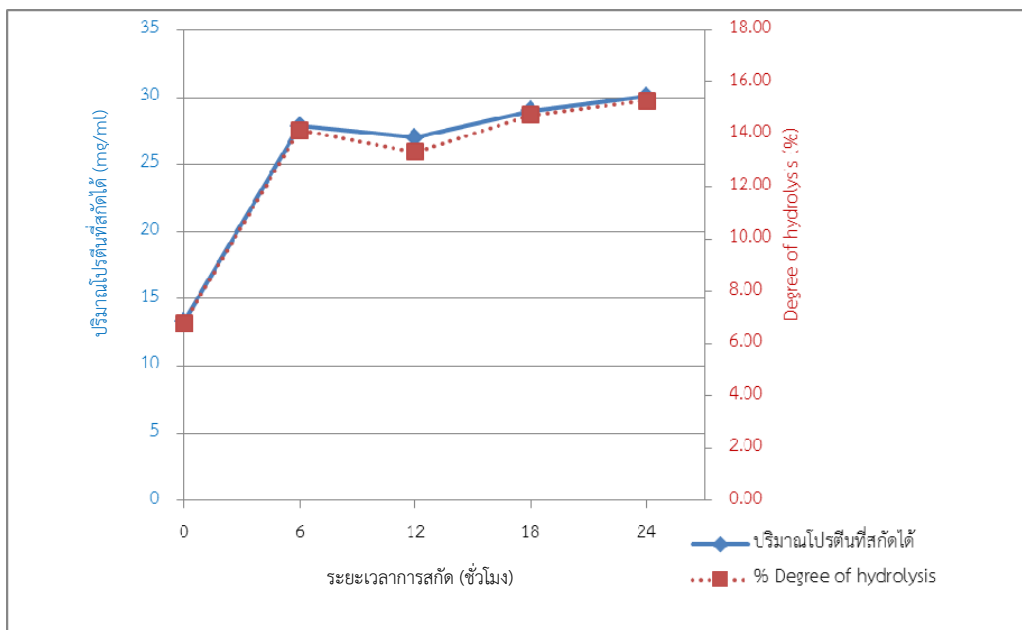
ภาพที่ 4 กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายตัวเอง โดยที่ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำกับปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 คือ ค่าพีเอชของสารละลายปลาซัคเกอร์ X_3 คือ ระดับอุณหภูมิ

$$Y_1 = 14.320 - 2.124X_1 - 1.192X_2 + 1.344X_3 + 1.780X_1^2 + 2.396X_1X_2 - 0.775X_1X_3 + 3.353X_2^2 - 2.526X_2X_3 - 4.308X_3^2$$



ภาพที่ 5 contour plot ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายตัวเอง โดยที่ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำ: ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 คือ ค่าพีเอชของสารละลายปลาซัคเกอร์ X_3 คือ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซต (องศาเซลเซียส) และ $-Y$ คือ ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

หลังจากนั้นนำสภาวะที่เหมาะสมตามตารางที่ 9 ประกอบด้วยอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น : ปริมาณปลาซัคเกอร์บด (-1 ของ code value) เท่ากับ 100 : 100% ค่าพีเอช (-1 ของ code value) ประมาณ 3.0 และอุณหภูมิ (0.54 ของ code value) ที่ 45 องศาเซลเซียส มาศึกษาเพื่อหาระยะเวลาการสกัดที่เหมาะสมที่จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดพบว่าการย่อยสลายด้วยตัวเองตามสภาวะการสกัดข้างต้น ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงสามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ เท่ากับ 30.06 ± 0.54 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตรกรัม และมีค่า Degree of Hydrolysis (DH) เท่ากับ 15.30 % ดังแสดงใน ตามภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แสดงปริมาณโปรตีน (mg./ mL.) และ % Degree of hydrolysate ที่ได้จากการวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองตามสภาวะการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทที่เหมาะสม โดยอัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น : ปริมาณปลาซัคเกอร์บด เท่ากับ 100 : 100% ค่าพีเอช 3.0 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

เมื่อได้สภาวะการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทที่สมบูรณ์แล้ว คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำกลั่น:ปริมาณปลาซัคเกอร์บด พีเอช อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัด จึงนำมาผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท เพื่อนำผลผลิตที่สกัดได้มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีตามวิธีการของ AOAC. (2000) ซึ่งได้ผลการศึกษาดังแสดงตามตารางที่ 10

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง
หลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย-ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC.(2000)

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%) $\pm$ SD
ความชื้น	3.38 ± 0.12
โปรตีน	58.88 ± 0.37
ไขมัน	11.74 ± 0.13
เถ้า	21.24 ± 0.57
เกลือโซเดียมคลอไรด์	2.72 ± 0.30
อื่นๆ	2.04 ± 0.30

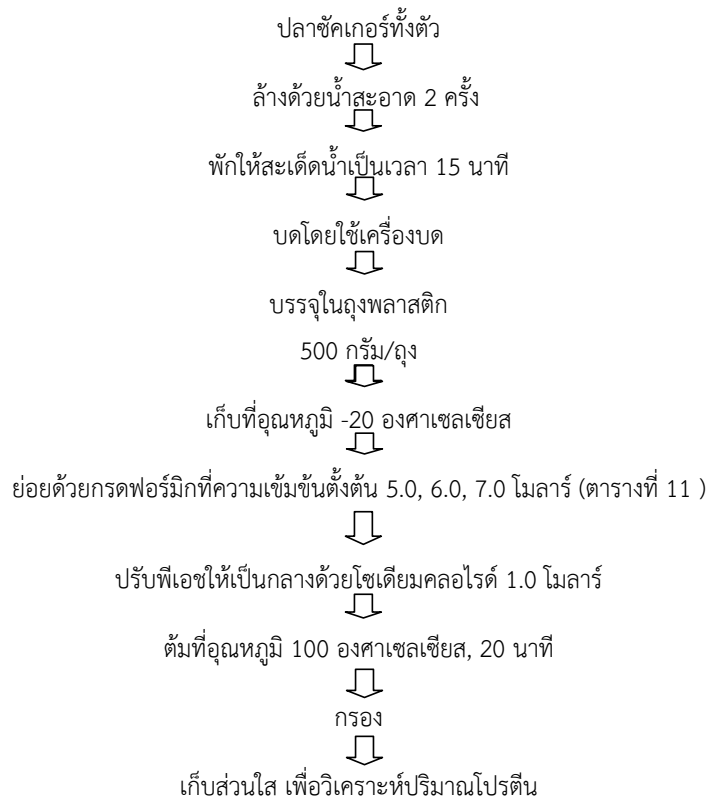
เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทไปทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอยแล้ว-พบว่ามีความผลลิตแห้ง เท่ากับ $20.84 \pm 0.92\%$
มีค่าการเสื่อมสลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 91.65 องศาเซลเซียส โดยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการ
ย่อยสลายด้วยตัวเองเมื่อผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอยแล้ว-แสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 โปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเองหลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย

5. การศึกษาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริก (Acid hydrolysis)

ขั้นตอนการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกดัดแปลงมาจากวิธีการของ Dong *et al.* (2008) โดยคล้ายกับการสกัดด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง แต่แตกต่างกันตรงที่ระดับปัจจัยที่ศึกษา



ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกด้วยวิธีพื้นที่การตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) กับแผนการทดลอง Box-Behnken Design ประกอบด้วย 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกรด (5-7 โมลาร์) อุณหภูมิ (50-70°C) และปริมาณสารละลายกรดฟอริกต่อตัวอย่าง (100-200%) ดังตารางที่-11 และแสดงระดับของปัจจัยทั้ง 3 ตามแผนการทดลองและจำนวนสิ่งทดลอง-ดังตารางที่ 12

ปริมาณน้ำที่ใช้ในการทดลองใช้การปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และการเติมกรดฟอริกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในปริมาณเท่ากับปริมาณของตัวอย่างปลาซัคเกอร์บดรวมกับน้ำกลั่น-แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิต่างๆ ตามแผนการทดลอง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้เป็นกลาง-เพื่อหาปริมาณโปรตีน-โดยนำตัวอย่างไปต้ม

ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วกรองเก็บส่วนใส เพื่อวิเคราะห์ค่าโปรตีนโดยวิธีของ Biuret (Gornall *et al.*, 1949)

ตารางที่ 11 ระดับต่างๆ ของปัจจัยที่ใช้ทำการทดลองสำหรับการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก

ปัจจัยที่ศึกษา	-1	0	+1
ปริมาณสารละลายกรดต่อตัวอย่าง (%) : X_1	100:100	150:100	200:100
ความเข้มข้นของกรด (โมลาร์) : X_2	5.0	6.0	7.0
อุณหภูมิที่บ่ม (องศาเซลเซียส): X_3	50	60	70

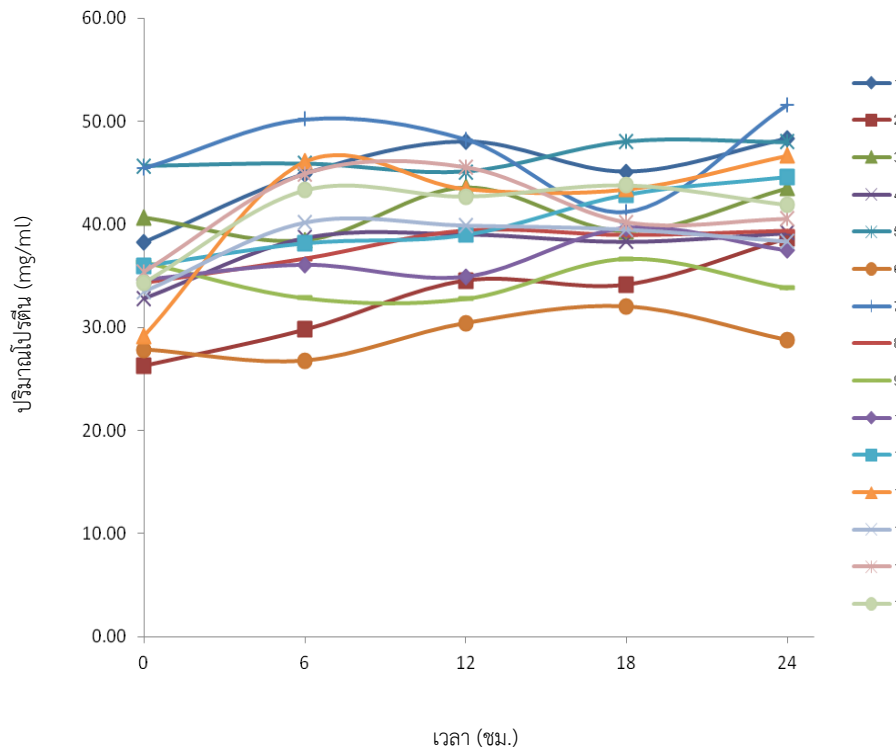
ตารางที่ 12 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองของการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการคำนวณและการทำนายปริมาณของโปรตีนจากสมการของแบบจำลอง

สิ่งทดลอง	Code level			ปัจจัย			ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการทดลอง	ปริมาณโปรตีนทำนายจากสมการ
	X ₁	X ₂	X ₃	ปริมาณสารละลายกรดต่อตัวอย่าง(%)	ความเข้มข้นของกรด(โมลาร์)	อุณหภูมิที่ปัม(°C)	(mg/ml)เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	(mg/ml)
1	-1	-1	0	100:100	5.0	60	44.89±4.06	41.63
2	+1	-1	0	200:100	5.0	60	32.67±4.06	35.31
3	-1	-1	0	100:100	5.0	60	41.11±2.36	47.20
4	+1	+1	0	200:100	7.0	60	37.61±2.70	32.16
5	-1	0	-1	100:100	6.0	50	46.54±1.40	44.94
6	+1	0	-1	200:100	6.0	50	29.15±2.08	30.37
7	-1	0	+1	100:100	6.0	70	47.33±4.15	46.11
8	+1	0	+1	200:100	6.0	70	37.72±2.21	39.31
9	0	-1	-1	150:100	5.0	50	34.48±1.87	34.98
10	0	+1	-1	150:100	7.0	50	36.54±2.05	36.41
11	0	-1	+1	150:100	5.0	70	40.13±3.52	40.26
12	0	+1	+1	150:100	7.0	70	41.74±7.20	41.25
13	0	0	0	150:100	6.0	60	38.26±2.78	40.25
14	0	0	0	150:100	6.0	60	41.30±4.09	40.25
15	0	0	0	150:100	6.0	60	41.20±3.91	40.25

Formatted: Space After: 0 pt

หมายเหตุ: X_1 = อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก: ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 = ความเข้มข้นกรด (โมลาร์)

X_3 = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 8 แสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยจากการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกทั้ง 15 หน่วยทดลอง

ค่าปริมาณโปรตีนเฉลี่ยคำนวณจากการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (0, 6, 12, 18, 24 ชั่วโมง) และหาค่าเฉลี่ยซึ่งปริมาณโปรตีนเฉลี่ยในแต่ละหน่วยทดลองจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสกัด โดยหน่วยทดลองที่ให้ค่าเฉลี่ยโปรตีนสูงสุดคือหน่วยทดลองที่-7 ที่สภาวะอัตราส่วนระหว่างสารละลายกรดฟอร์มิกต่อปลาซัคเกอร์บดเท่ากับ-100:-100-(%) ความเข้มข้นกรดที่ระดับกลาง-(6.0 โมลาร์)-และอุณหภูมิที่ระดับสูง (50 องศาเซลเซียสเซลเซียส) จากนั้นนำค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนในทุกหน่วยทดลองไปหาจุดที่เหมาะสมของการสกัดโปรตีนโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกโดยโปรแกรม Minitab 16 เพื่อสร้างแบบจำลองการสกัดโปรตีนและหาจุดที่เหมาะสมของสภาวะการสกัดซึ่งจากรายงานของ-เสวลักษณะและพหุยา (2541) พบว่าสภาวะการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ใช้อัตราส่วนระหว่างสารละลายกรดต่อปริมาณตัวอย่าง (100:100)

ซึ่งมีความเข้มข้นสูงและอุณหภูมิที่ใช้สกัดเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายได้สูงขึ้น ทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูง

ตารางที่ 13 ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการพหุคูณที่ตอบสนองของปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาช่อนเกอร์ ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริก

Parameter	Term	Coefficient	P-value
B0	Constant	40.2502	0.000**
B1	X_1	-5.3404	0.001**
B2	X_2	0.6051	0.461 ^{ns}
B3	X_3	2.5277	0.021*
B11	X_1^2	0.3900	0.741 ^{ns}
B12	X_1X_2	2.1798	0.098 ^{ns}
B13	X_1X_3	1.9427	0.130 ^{ns}
B22	X_2^2	-1.5704	0.218 ^{ns}
B23	X_2X_3	-0.1100	0.922 ^{ns}
B32	X_3^2	-0.4571	0.699 ^{ns}

หมายเหตุ : X_1 = อัตราส่วนระหว่างกรดฟอสฟอริก: ปลาช่อนเกอร์บด (%) X_2 = ความเข้มข้นกรด (โมลาร์)

X_3 = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

* หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

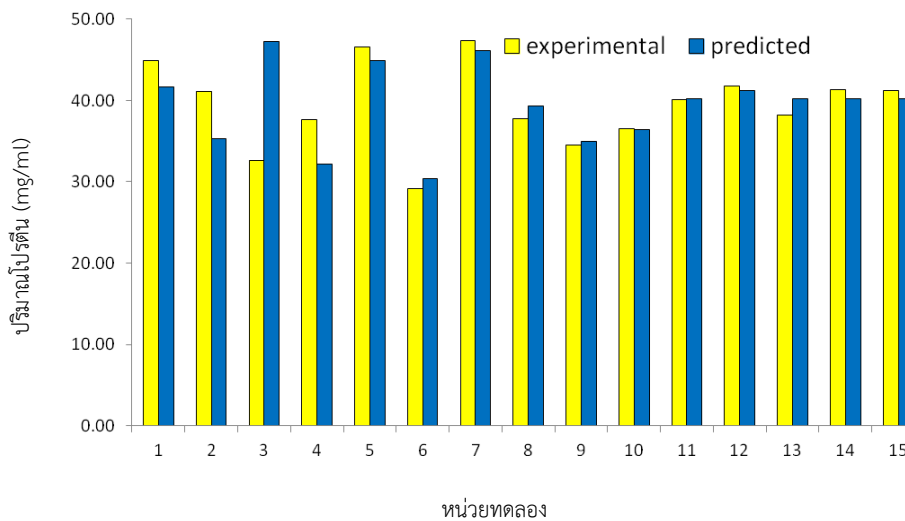
จากการทำการทดลองโดยวิธีการสุ่มเพื่อลดผลกระทบจากความแปรปรวนของการทำนายในการวิเคราะห์โดยวิธีพื้นที่การตอบสนองโดยการสร้างสมการถดถอยเพื่อให้เหมาะสม จะประกอบด้วย สมการเส้นตรง (X_1 , X_2 , X_3) ปฏิสัมพันธ์ (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) และสมการกำลังสอง (X_1^2 , X_2^2 , X_3^2) ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการกำลังสองของแบบจำลอง แสดงในตารางที่ 13 และแสดงค่าจากการทดลองและค่าจากการทำนายโดยแบบจำลองแสดงในตารางที่ 12 โดยการวิเคราะห์ได้เลือกใช้สมการเต็มรูป (full model) เพื่อใช้ในการทำนายปริมาณโปรตีนและหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตได้สมการดังตารางที่ 14 ซึ่งแสดงค่า R^2 ที่ค่อนข้างสูง (0.93) แสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองที่สามารถใช้ในการหาพื้นที่การตอบสนองได้ ประกอบด้วยแบบจำลองมีค่า P -value ที่น้อยกว่า 0.05- แสดงว่าแบบจำลองนี้มีความเหมาะสมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 14 แบบจำลองพื้นที่การตอบสนอง (Response surface model) ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค

Response	Quadratic polynomial model	R^2	P -value
Protein	Full model	0.9343	0.017
	$Y = 40.250 - 5.340X_1 + 0.605X_2 + 2.528X_3 + 0.390X_1^2 - 1.570X_2^2 - 0.457X_3^2 + 2.180X_1X_2 + 1.943X_1X_3 - 0.110X_2X_3$		

Y (ปริมาณโปรตีน, มิลลิกรัม/มิลลิลิตร), X_1 (อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิค: ปลาซัคเกอร์บด, %), X_2 (ความเข้มข้นสารละลายกรดฟอร์มิค, โมลาร์), X_3 (อุณหภูมิ, องศาเซลเซียส)

ผลการทดลองในภาพที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกันของค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายโดยสมการซึ่ง Arteaga *et al.* (1994) อธิบายว่าแบบจำลองที่พัฒนาได้จะเหมาะสมก็ต่อเมื่อสามารถทำนายค่าได้เหมาะสมและใกล้เคียงกับค่าจริง



ภาพที่ 9 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทำนายโดยแบบจำลองการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนสามารถนำมาใช้ในการประเมินความเหมาะสมของรูปแบบสมการพหุนามสมการกำลังสอง โดยสมการที่มีความเหมาะสม จะมีค่า F -value ที่สูง และ P -value จะมีค่าที่น้อยมากๆ จะแสดงผลอย่างมีนัยสำคัญของการตอบสนองของตัวแปรตาม (Yuan *et al.*, 2008) ตารางที่ 15 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของโปรตีนที่อธิบายถึงการตอบสนองของตัวแปรอย่างมีนัยสำคัญ ที่แสดงโดยค่า P -value ของสมการเส้นตรงของแบบจำลองแบบจำลอง (X_1X_2 และ X_3) ที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ส่วนปฏิสัมพันธ์, (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3) และสมการกำลังสอง (X_1^2 , X_2^2 , X_3^2) ของแบบจำลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) Madamba (2002) อธิบายว่าการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เป็นการทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกเทอมของสมการ (สมการเส้นตรง สมการกำลังสอง และปฏิสัมพันธ์) และ residual variances (ค่า lack of fit และค่า pure experimental error) ของแบบจำลองวิเคราะห์เพื่อจะกำหนดพื้นที่การตอบสนอง (response surface) สอดคล้องกับ อนุวัตร (2549) ซึ่งอธิบายว่าแบบจำลองที่เหมาะสมจากค่า F -value ของแบบจำลอง จะต้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแบบจำลองการสกัดโปรตีนจากปลาชัคเกอร์ด้วยการย่อยสลายด้วยกรด แสดงค่า F -value ที่มีความแตกต่าง—ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และค่า lack of fit จะแสดงถึงความเหมาะสมของโมเดล โดยค่า lack of fit ต้องแสดงในลักษณะที่ค่า P -value สูง หมายถึงเป็นแบบจำลองที่เหมาะสมแล้ว (Cho *et al.*, 2005; Zhou & Regenstein, 2004) จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ตารางที่ 15 พบว่าค่า P -value ของ lack of fit มีค่า 0.363 ซึ่งเป็นค่าที่มากกว่า 0.05 แสดงว่าแบบจำลองนี้เหมาะสมแล้ว ($P > 0.05$) จึงสามารถใช้

แบบจำลองนี้สำหรับ สำหรับการทำการนายการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ได้เป็นอย่างดี ประกอบกับ ข้อมูลจากการทดลองนี้ ได้แสดงค่า R^2 ของแบบจำลองที่ค่อนข้างสูงสามารถแสดงถึงความแม่นยำในการทำนายตัวแปรได้

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนจากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ ที่ย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริก

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	9	326.942	36.327	7.90	0.017*
Linear	3	282.198	94.066	20.47	0.003**
Square	3	10.594	3.531	0.77	0.559 ^{ns}
Interaction	3	34.150	11.383	2.48	0.176 ^{ns}
Residual Error	5	22.980	4.596		
Lack-of-Fit	3	17.007	5.669	1.90	0.363 ^{ns}
Pure Error	2	5.973	2.987		
Total	14	349.922			

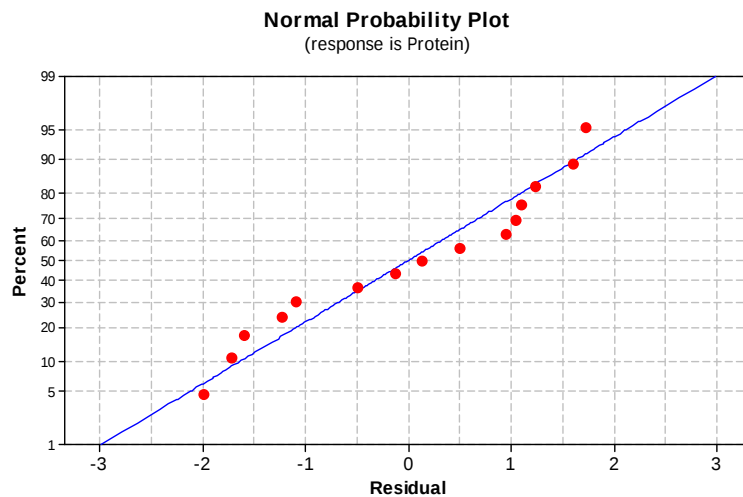
หมายเหตุ : * หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

จากการศึกษาความเหมาะสมของแบบจำลองโดยดูจากการกระจายของข้อมูลที่ถูกกำหนดเป็นตัวแปรตาม (ปริมาณโปรตีน) วิเคราะห์โดยโปรแกรม Minitab กราฟการกระจายของข้อมูลแสดงดังภาพที่ 10 จากกราฟแสดงการกระจายของข้อมูลที่เป็นปกติ ซึ่งหมายความว่าแบบจำลองที่ดี ซึ่งความเหมาะสมของแบบจำลองสามารถสังเกตได้โดยการตรวจสอบจากกราฟ Normal Probability Plot คือถ้า Normal Probability Plot ของตัว

แปลตาม — แสดงการกระจายปกติของกราฟ แสดงว่ารูปแบบของแบบจำลองมีความเหมาะสม (Bezerra *et al.*, 2008)



ภาพที่ 10 กราฟ Normal Probability Plot ของค่าปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก

การหาสถานะที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม Minitab

หาสถานะที่เหมาะสมโดยรวมสำหรับการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรด โดยใช้ฟังก์ชันทางสถิติของโปรแกรม Minitab โดยตัวแปรของฟังก์ชัน จะถูกกำหนดไว้ดังตารางที่ 16 เป้าหมายของการหาสถานะที่เหมาะสมคือ การได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด และให้ความสำคัญเท่ากับ 1.0

ตารางที่ 16 แสดงการตั้งค่าสำหรับการวิเคราะห์หาสถานะที่เหมาะสมของสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต

โดยการย่อยสลายด้วยกรดโดยฟังก์ชันเมนู Response optimizer ของโปรแกรม Minitab

Protein	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Importance
	Maximum	30	47	47	1	1

ผลที่ได้จากการหาจุดที่เหมาะสมโดยโปรแกรม แสดงดังตารางที่ 17 พบว่า สถานะที่จะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ สถานะที่ใช้ อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก:ปลาซัคเคอไรบด (-1 ของ code value) เท่ากับ 100: 100%

ค่าความเข้มข้นกรด (-0.54 ของ code value) ประมาณ 5.5 โมลาร์ และอุณหภูมิ (0.70 ของ code value) ที่ 67 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสามารถสกัดโปรตีนได้ปริมาณเท่ากับ 46.60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยฟังก์ชันของโปรแกรมอยู่ในระดับความพึงพอใจเท่ากับ 0.98%

ตารางที่ 17 แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยด้วยกรดฟอรั่มิกจากการทำนายโดยสมการแบบจำลอง

Optimal solution			Predicted response	
X ₁	X ₂	X ₃	Protein (mg/ml)	
(code value)				
-1	-0.54	0.70	Predicted value	46.60
			Individual desirability	0.98 %
			Composite desirability	0.98 %
(Real value)				
100%	5.5	67°C	Experimental value*	52.51±1.35

หมายเหตุ : X₁ = อัตราส่วนระหว่างกรดฟอรั่มิก: ปลาชัคเกอร์บด (%) X₂ = ความเข้มข้นกรด (โมลาร์)

X₃ = อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

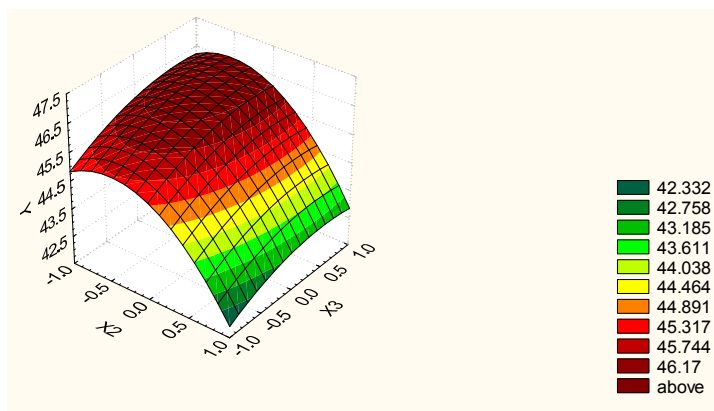
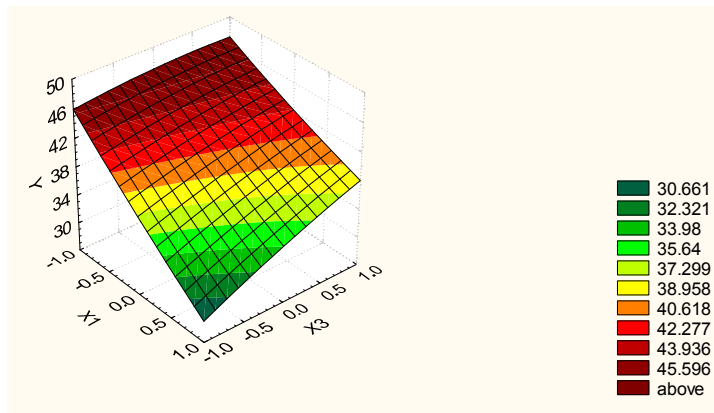
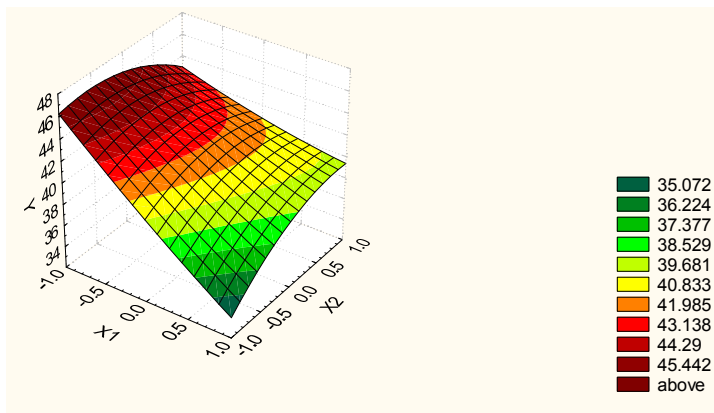
*ข้อมูลจากการทดลอง 3 ซ้ำตามสภาวะที่เหมาะสมจากแบบจำลอง ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง

กราฟพื้นที่การตอบสนอง (Response surface plots)

ภาพที่ 11 – 12 แสดงกราฟพื้นที่การตอบสนองจากแบบจำลองที่แสดงถึงผลของอัตราส่วนระหว่าง **กรดฟอรั่มิก: ปลาชัคเกอร์บด** (X₁) ค่าความเข้มข้นกรด (X₂) และระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต (X₃) ต่อปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้ (Y)

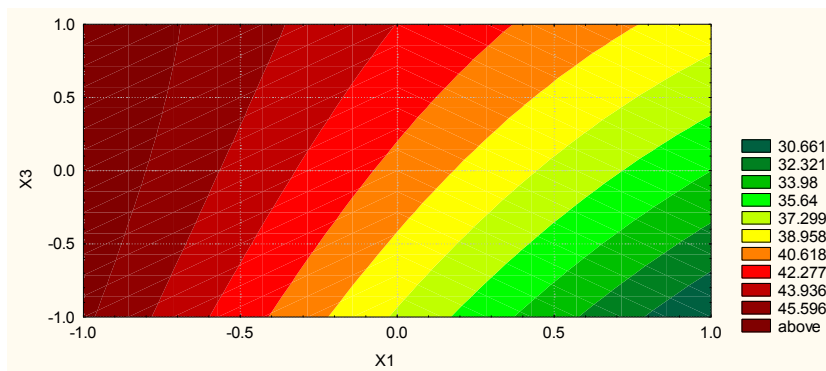
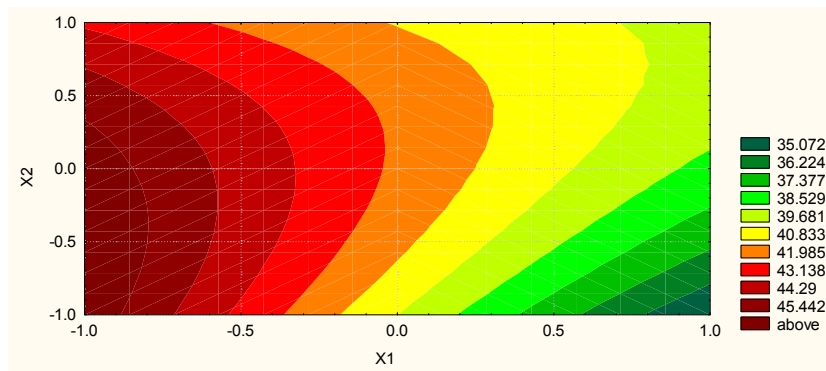
จากกราฟพื้นที่การตอบสนองแสดงให้เห็นว่าปัจจัยที่สำคัญในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยกรดฟอรั่มิกคืออัตราส่วนระหว่างกรดฟอรั่มิก: ปลาชัคเกอร์บด และระดับความเข้มข้นกรดฟอรั่มิก พบว่าเมื่อใช้ระดับกรด **ค่อนข้างน้อย—ค่อนข้างน้อย** คือประมาณ 100% จากน้ำหนักปลาบด จะทำให้สามารถสกัดโปรตีนได้ดียิ่งขึ้นโดยสังเกตว่าปริมาณโปรตีนยัง **เพิ่มขึ้น** เมื่อใช้ปริมาณกรดน้อยลง ในทำนองเดียวกันความเข้มข้นของกรดที่ใช้สกัดระดับต่ำจนเข้าใกล้ระดับกลาง **—** จะช่วยให้การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยกรดฟอรั่มิกมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ซึ่งความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมควรอยู่ระดับ **—** 5.5 โมลาร์ ขณะที่ระดับของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่มีแนวโน้มสูงขึ้นจะช่วยให้การสกัดโปรตีนได้ดีขึ้น ซึ่งระดับอุณหภูมิ ที่เหมาะสมคือ 67 องศาเซลเซียส

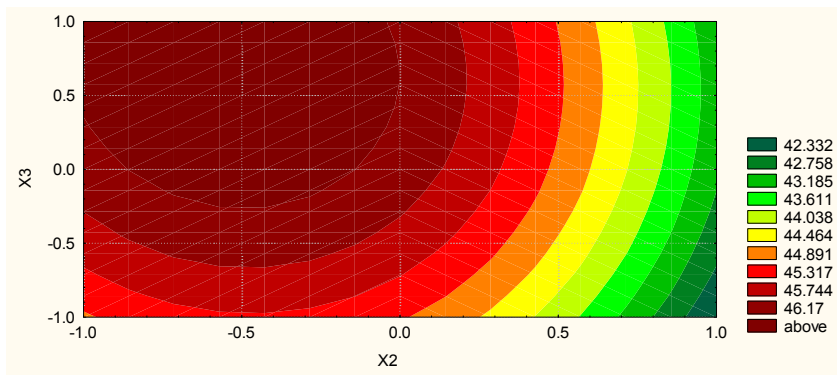
$$Y = 40.250 - 5.340X_1 + 0.605X_2 + 2.528X_3 + 0.390X_1^2 - 1.570X_2^2 - 0.457X_3^2 + 2.180X_1X_2 + 1.943X_1X_3 - 0.110X_2X_3$$



ภาพที่ 11 กราฟพื้นที่การตอบสนองของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการใช้กรด โดยที่ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก: ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 คือ ค่าความเข้มข้นกรดฟอร์มิก (โมลาร์) X_3 คือ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต (องศาเซลเซียส) และ Y คือ ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

$$Y = 40.250 - 5.340X_1 + 0.605X_2 + 2.528X_3 + 0.390X_1^2 - 1.570X_2^2 - 0.457X_3^2 + 2.180X_1X_2 + 1.943X_1X_3 - 0.110X_2X_3$$

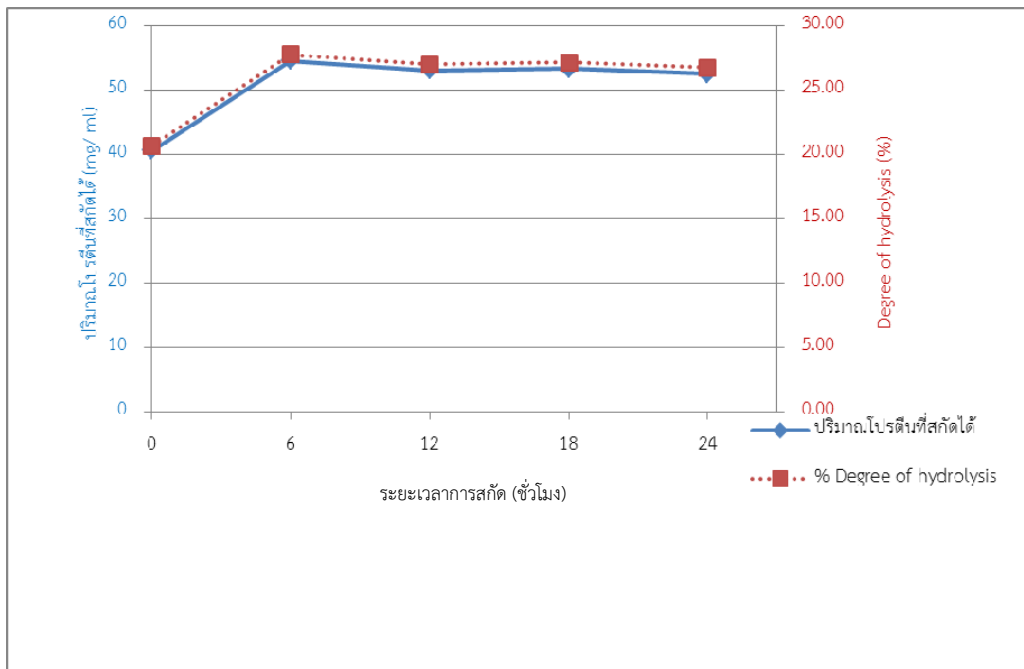




ภาพที่ 12 contour plot ของการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยการใช้กรดฟอร์มิก โดยที่ X_1 คือ อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก: ปลาซัคเกอร์บด (%) X_2 คือ ค่าความเข้มข้นกรด (โมลาร์) X_3 คือ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต (องศาเซลเซียส) และ Y คือ ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

จากนั้นนำเสนอภาพที่เหมาะสมจากตารางที่ 17 ประกอบด้วย-อัตราส่วนระหว่างกรดฟอร์มิก: ปลาซัคเกอร์บด (-1 ของ code value) เท่ากับ 100 : 100% ค่าความเข้มข้นกรดฟอร์มิก (-0.54 ของ code value) 5.5 โมลาร์ และอุณหภูมิ (0.70 ของ code value) ที่ 67 องศาเซลเซียส มาใช้ในการศึกษาเพื่อหาระยะเวลาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยด้วยกรดที่จะทำให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดซึ่งพบว่าชั่วโมงที่ 6 สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 54.50 ± 1.86 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร และมีค่า Degree of Hydrolysis (DH) เท่ากับ 27.74% ดังแสดงใน

ตามภาพที่ 13



ภาพที่ 13 แสดงปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซต (mg/ml) และ % DH ที่สกัดได้ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก ตามสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 5.5 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อปลาซัคเกอร์บดเท่ากับ 100 : 100% ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ตามสภาวะที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้น 5.5 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อปลาซัคเกอร์บดเท่ากับ 100: 100% ที่อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส ระยะเวลาสกัด 6 ชั่วโมง-ไปทำแห้งด้วยวิธี การพ่นฝอยด้วยสภาวะดังกล่าว-พบว่ามีความผลผลิตแห้ง เท่ากับ $21.81 \pm 0.24\%$ ค่าการเสื่อมสลายด้วยความ ร้อน 91.33 องศาเซลเซียส และผลการศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตตามวิธีการของ-AOAC. (2000) แสดงดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก หลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย-ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการของ-AOAC. (2000)

Formatted: Left

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%) $\pm$ SD
ความชื้น	3.24 ± 0.08
โปรตีน	63.85 ± 0.43

ไขมัน	9.99 ± 0.22
เถ้า	18.01 ± 0.43
เกลือโซเดียมคลอไรด์	2.82 ± 0.25
อื่นๆ	2.09 ± 0.05

โปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่ย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกหลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย
ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 โปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก
หลังผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองและวิธีการย่อยสลาย
ด้วยกรดฟอร์มิกซึ่งผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอยแล้วไปทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่องมือ
High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 19 และภาพที่ 15 ตามลำดับ

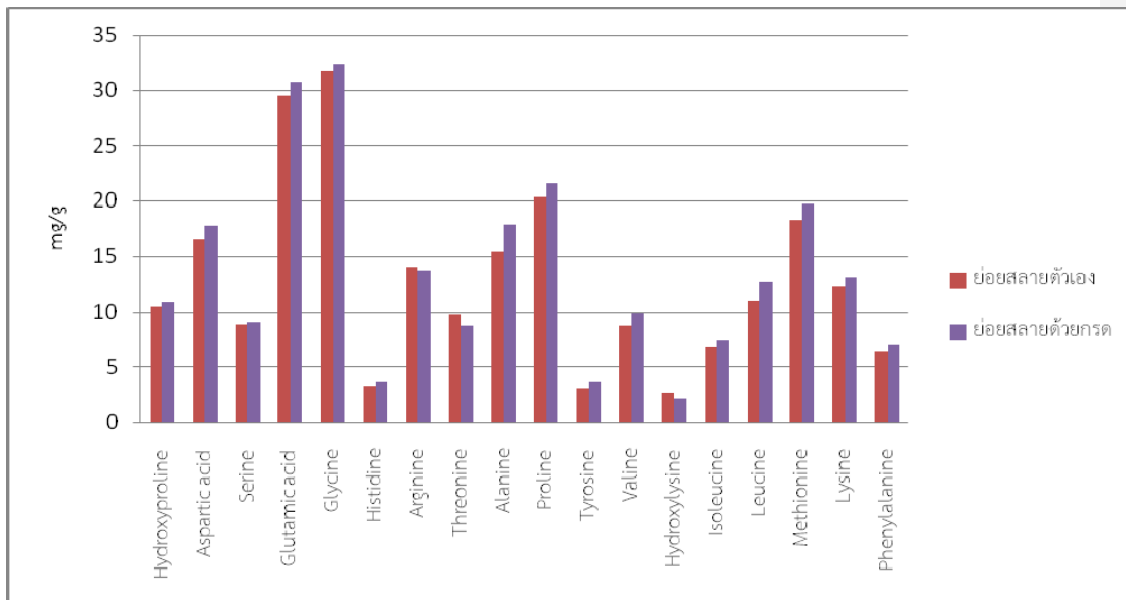
ตารางที่ 19 ปริมาณกรดอะมิโนที่องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลาย
____ตัวเอง

Formatted: Indent: First line: 1.27
cm

—และวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกด้วยเครื่องมือ HPLC

Formatted: Indent: Left: 0 cm, First line: 1.27 cm

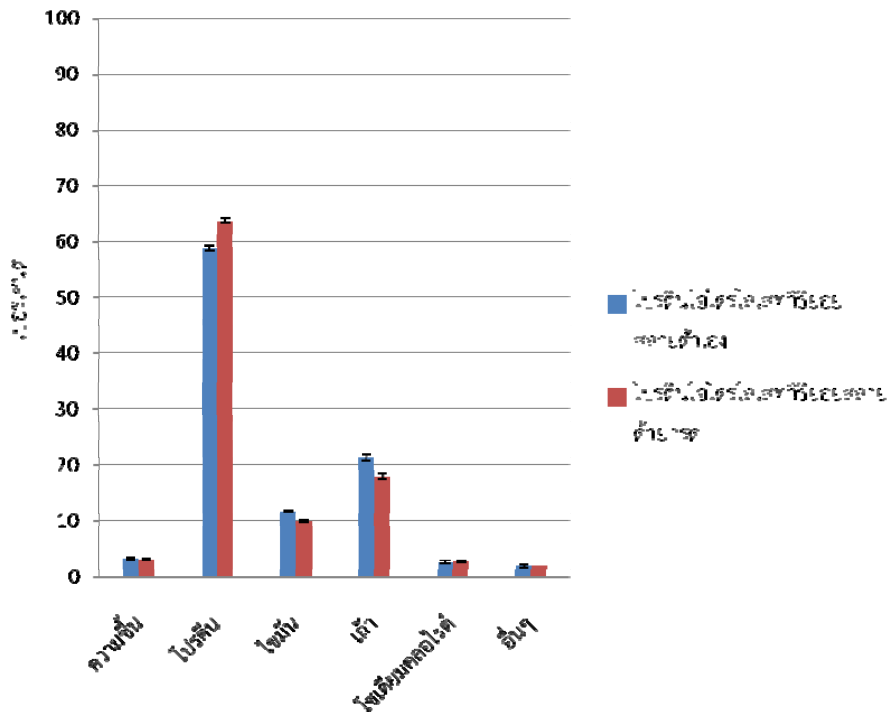
องค์ประกอบ	โปรตีนไฮโดรไลเซทย่อยสลายด้วยตัวเอง (มิลลิกรัม/กรัม)	โปรตีนไฮโดรไลเซทย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก (มิลลิกรัม/กรัม)
Hydroxyproline	10.50	10.90
Aspartic acid	16.50	17.80
Serine	8.80	9.00
Glutamic acid	29.50	30.70
Glycine	31.70	32.30
Histidine	3.20	3.60
Arginine	14.00	13.60
Threonine	9.80	8.70
Alanine	15.40	17.90
Proline	20.30	21.60
Tyrosine	3.10	3.60
Valine	8.70	9.80
Hydroxylysine	2.70	2.20
Isoleucine	6.80	7.40
Leucine	11.00	12.60
Methionine	18.30	19.70
Lysine	12.20	13.00
Phenylalanine	6.40	7.00



ภาพที่ 15 ปริมาณกรดอะมิโนที่องค์ประกอบของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาซัคเกอร์ที่สกัด

- ด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง
- และวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก

Formatted: Indent: First line: 1.27 cm



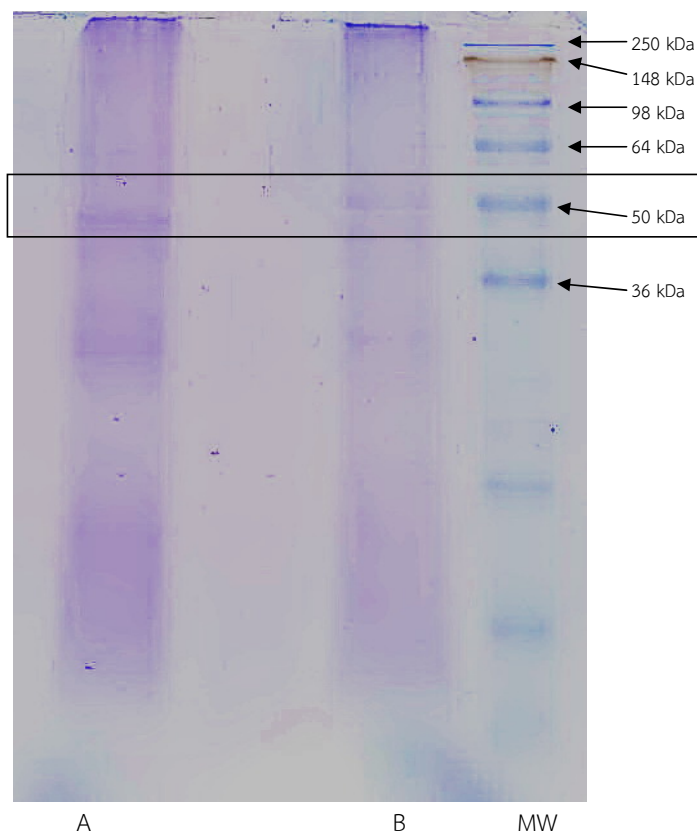
ภาพที่ 16 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายตัวเอง และวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซสจากปลาซัคเกอร์และคุณสมบัติด้านต่างๆ ของโปรตีนไฮโดรไลเซสที่สกัดได้ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ค่าองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณกรดอะมิโน และผลผลิต พบว่า พบว่าวิธีการสกัดโดยใช้กรดฟอร์มิกที่สภาวะการสกัดดังนี้ อัตราส่วนน้ำกลั่นต่อซัคเกอร์บดเท่ากับ 100 : 100 % ความเข้มข้นกรดฟอร์มิกเท่ากับ 5.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 67 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 6 ชั่วโมง นั้น เหมาะสมที่นำไปทำการทดลองขั้นตอนต่อไป

Formatted: Left

6. การศึกษา SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากปลาชังเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองและวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคตามวิธีการของ Laemmli (1970)

เตรียมตัวอย่างที่สกัดได้ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรในสารละลาย SDS ที่ความเข้มข้น 5% ใช้สาร 2-mercaptoethanol ที่ความเข้มข้น 5% เป็นตัวรีดิวซ์ (ละลายพันธะไดซัลไฟด์) ใส่ตัวอย่าง $5\ \mu\text{l}$ ลงในแต่ละหลุม และทำอิเล็กโตรโฟรีซิสใน 7.5% separating gel และ 4% stacking gel และย้อมสีด้วย coomassie blue R250 เปรียบเทียบเปรียบเทียบกับ high molecular weight marker น้ำหนักโมเลกุลในช่วง 4-250 kDa.



ภาพที่ 17 SDS-PAGE ของโปรตีนไฮโดรไลเซทที่สกัดได้จากปลาชังเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค และวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง

A โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค

B โปรตีนไฮโดรไลเซทสกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง

MW Molecular weight marker (kDa)

ภาพที่ 17 แสดงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากปลาชัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคและวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล < 50 kDa. และ 50 kDa. ตามลำดับ โดยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ที่สกัดด้วยกรดฟอร์มิคและสกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเองมีขนาดใหญ่กว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเครื่องในของปลา-Catla (Catla catla) ที่ทำการสกัดด้วยเอนไซม์ neutral protease (Bhaskar และ Mahendrakar, 2006) และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากไข่ของปลา Meriga (Cirrhinus mrigala) ด้วยเอนไซม์ อัลคาเลสและเอนไซม์ปาเปน (Chalamaiah et al., 2010) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลดังนี้ <8 kDa และ 10 kDa ตามลำดับ เพราะโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากปลาชัคเกอร์ทั้ง 2 วิธีการนั้นใช้ปลาชัคเกอร์ทั้งตัวซึ่งประกอบไปด้วย—ส่วนที่เป็น เกราะแข็ง กระดูก เครื่องในและเนื้อมาทำการสกัด โดยส่วนอื่นๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนอาจไปขัดขวางกระบวนการทำงานของกรดฟอร์มิคและกระบวนการย่อยสลายตัวเองของโปรตีน ทำให้โปรตีนของปลาชัคเกอร์ถูกย่อยสลายได้—ไม่เต็มที่ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีขนาดโมเลกุลใหญ่

การศึกษาต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคนั้น โดยต้นทุนการผลิต หมายถึง ค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายในปัจจัยการผลิตที่ใช้ในกระบวนการผลิต เนื่องจากปัจจัยการผลิตสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ ปัจจัยคงที่ และปัจจัยผันแปร ดังนั้นต้นทุนการผลิตซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายในปัจจัยการผลิตจึงแบ่งตามประเภทปัจจัยการผลิตออกเป็น 2 ประเภทเช่นเดียวกัน คือ

1) ต้นทุนคงที่ หมายถึง ค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายในการผลิตที่เกิดจากการใช้ปัจจัยคงที่ หรือกล่าวอีกอย่างหนึ่งได้ว่าต้นทุนคงที่เป็นค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายที่ไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณผลผลิต ไม่ว่าจะผลิตปริมาณมากหรือปริมาณน้อยก็จะเสียค่าใช้จ่ายในจำนวนคงที่ ตัวอย่างของต้นทุนคงที่ได้แก่ ค่าใช้จ่ายในการซื้อที่ดิน ค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างสถานที่ผลิต เป็นต้น

2) ต้นทุนผันแปร หมายถึง ค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายในการผลิตที่เกิดจากการใช้ปัจจัยผันแปร หรือกล่าวอีกอย่างหนึ่งได้ว่าต้นทุนผันแปรเป็นค่าใช้จ่ายหรือรายจ่ายที่ขึ้นอยู่กับปริมาณผลผลิต ถ้าทำการผลิตปริมาณมากก็จะเสียต้นทุนมาก หรือทำการผลิตปริมาณน้อยก็จะเสียต้นทุนน้อย เช่น ค่าแรงงาน ค่าวัตถุดิบ ค่าน้ำประปา ค่าไฟฟ้า ค่าขนส่ง เป็นต้น การคำนวณต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค ซึ่งจะคำนวณเฉพาะส่วนที่เป็นต้นทุนผันแปรเปรียบเทียบกับผลผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจำนวน 1 กิโลกรัม โดยมีค่าใช้จ่ายดังนี้ ค่าวัตถุดิบ ปลาชัคเกอร์ กรดฟอร์มิค ค่าเช่าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย และค่าแรงงาน ดังแสดงตารางที่ 20

ตารางที่ 20 ต้นทุนผันแปรของการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิค ปริมาณ 1 กิโลกรัม

ลำดับที่	รายการ	จำนวน	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ราคารวม (บาท)
1	ค่าวัตถุดิบปลาซัคเกอร์ (เป็นค่าใช้จ่ายในการเดินทางให้กับเกษตรกรที่นำ ปลาซัคเกอร์มาให้)	4.59 กิโลกรัม	10	45.90
2	กรดฟอร์มิค	1 ลิตร	380	380
3	ค่าไฟฟ้า (หน่วย+ค่าบริการรายเดือน 228.17 บาท)	10	2.14	249.57
4	ค่าน้ำประปา	10	16	160
53	ค่าเช่าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย	3 ชั่วโมง	200	600
64	ค่าแรงงาน	1	300	300
	รวมทั้งสิ้น			1,735.47 325.90

Formatted Table

7.การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก *Bacillus* sp. และที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาดเฉลี่ย 4.24, 18.31 และ 102.50 กรัม

7.1. การสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากลำไส้ปลานิล

นำปลานิล ขนาด 4.24, 18.31 และ 102.50 กรัม จำนวน 500, 100 และ 50 ตัว ตามลำดับ ชั่งน้ำหนักลำไส้ จากนั้นนำตัวอย่างมาบดให้ละเอียดโดยใช้ homogenizer โดยบดตัวอย่างใน Tris – HCl buffer ความเข้มข้น 50 mM pH 7.5 จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g อุณหภูมิ 4°C นาน 5 นาที- เก็บ ส่วน ที่เป็นของเหลวด้านบน (supernatant) ไว้ที่ – 20 °C (Gimenez *et al.*, 1999) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ต่อไป

Formatted: Left, Space After: 0 pt, Line spacing: single

7.2. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก *Bacillus* sp. และที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิล

Formatted: Space After: 0 pt, Line spacing: single

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้โดยวิธี enzyme assay โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จาก *Bacillus* sp. และเอนไซม์ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของปลาป่น—วิธีการศึกษานำตัวอย่างโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้จากวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคและปลาป่นมาบดละเอียด—มาบดละเอียด—ผ่านการกรองโดยตะแกรงตาถี่ 200 ไมโครเมตร—ไปสกัดน้ำมันในตัวอย่างออกโดยใช้วิธี ether extraction ตามวิธีการของ AOAC. (2000) และชั่งน้ำหนักวัตถุดิบให้ได้ประมาณ 1 กรัม จากนั้นนำตัวอย่างไปย่อยโดยเอนไซม์ protease ที่สกัดได้จากลำไส้และ protease ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (P 5860; Sigma-Aldrich Inc. USA.) ที่ 6 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 U ในสภาวะการทดลอง คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพีเอช 7.0 ตามวิธีของ Fageer and El-Tinay (2004)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนโดยวิธี enzyme assay ซึ่งเป็นการวัดปริมาณโปรตีนละลายละลายน้ำที่ถูกย่อยได้ด้วยวิธีการ Lowry's method โดยนำโปรตีนที่เหลือในวัตถุดิบหลังจากโปรตีนในวัตถุดิบเริ่มต้น—จะได้ค่าโปรตีนที่ถูกย่อยได้—ซึ่งทำการศึกษาในวัตถุดิบซึ่งเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนได้แก่ ปลาป่น และโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์—จากเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิล 3 ขนาด ได้แก่ ปลานิลขนาด 4.24 18.31 และ 102.50 กรัม และเอนไซม์โปรติเอสจากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. พบว่าเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 4.24-4.24 กรัม ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากปลาป่นสูงที่สุด ($P \leq 0.05$) รองลงมาคือเอนไซม์โปรติเอส—ที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 102.50 กรัม และจาก แบคทีเรีย *Bacillus* sp. สำหรับเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้ลำไส้ของปลานิลขนาด 18.31 กรัม ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นต่ำที่สุด ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 21) สำหรับค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์พบว่ามีความแตกต่างกันเช่นกัน—($P \leq 0.05$) โดยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากปลานิลขนาดเล็กมีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนไฮโดรไลเซต—จากปลาซัคเกอร์สูงที่สุด รองลงมาคือเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 18.31 กรัม และแบคทีเรีย *Bacillus* sp. สำหรับเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด 102.5 กรัม มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้—ของโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ต่ำที่สุด

ตารางที่ 21 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นและโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลและแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

แหล่งที่มาของเอนไซม์โปรติเอส	ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน (%)	
	ปลาป่น	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์
ปลานิลขนาด 4.24 กรัม	95.87 ± 1.42 ^a	88.25 ± 1.95 ^a
ปลานิลขนาด 18.31 กรัม	69.34 ± 3.05 ^c	76.35 ± 1.83 ^b
ปลานิลขนาด 102.50 กรัม	83.28 ± 2.11 ^b	68.47 ± 1.37 ^c

<i>Bacillus</i> sp.	81.097 ± 0.61^b	73.87 ± 2.39^b
---------------------	---------------------	--------------------

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าปลาขนาดเล็กมีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นและโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกสูงกว่าปลาขนาดอื่นๆ เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในปลาขนาดเล็ก คือ ขนาด 4.24 กรัม มีค่าสูงกว่าปลากลุ่มอื่น ดังนั้นจึงส่งผลให้ค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น สำหรับปลาขนาด 18.31 กรัม ซึ่งเป็นปลาขนาดลงเลี้ยงกระชังนั้น มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจากปลาป่นต่ำกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ ซึ่งผลการทดลองคล้ายกับการทดลองของรุ่งกานต์ (2552) ที่พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในปลาขนาดกลาง (18.31 กรัม) มีค่าสูงกว่าปลาขนาดใหญ่ (102.50 กรัม) แต่มีประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นต่ำกว่า-ทั้งนี้อาจเกิดจากโปรตีนในปลาป่นและโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่แตกต่างกัน เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นโปรตีนที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมาแล้วอาจมีผลให้การย่อยได้ทำได้ง่ายกว่าที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ที่ระดับดังกล่าว-แต่ในปลาขนาดใหญ่ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสต่ำกว่าปลาขนาดอื่น และต่ำกว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จึงทำให้การย่อยได้ของโปรตีนในโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์มีค่าน้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ

8. วิธีการทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริก

ทำการศึกษานิลขนาด 18.31 กรัม แบ่งการทดลองเป็น 5 กลุ่มทดลอง กลุ่มทดลองละ 3 ซ้ำ โดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารที่ระดับการทดแทน 0 25 50 75 และ 100% ตามลำดับอาหารที่ใช้เป็นอาหารเม็ดลอยน้ำที่มีปริมาณโปรตีน 30% พลังงาน 3,000 Kcal/kg โดยแบ่งกลุ่มทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 0%

กลุ่มที่ 2 ปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์

ที่ระดับ 25%

กลุ่มที่ 3 ปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์

ที่ระดับ 50%

กลุ่มที่ 4 ปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์

ที่ระดับ 75%

กลุ่มที่ 5 ปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์

ที่ระดับ 100%

Formatted: Indent: Left: 1.27 cm

Formatted: Indent: Left: 1.27 cm

Formatted: Indent: Left: 1.27 cm

ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 3% ของน้ำหนักตัว เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 3 วัน ที่ระดับ 100 % ทำการทดลอง
 ระยะ—เป็นระยะเวลา 90 วัน จากนั้นเก็บผลการทดลองดังต่อไปนี้

Formatted: Left

1) การเจริญเติบโต

1.1) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG)

$$WG = \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}$$

1.2) เปอร์เซ็นน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Percent Weight gain, % WG)

$$\% WG = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

1.3) น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (Average daily gain, ADG)

$$ADG = \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$$

1.4) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR)

$$SGR = \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}} \times 100$$

หมายเหตุ: $\ln$ คือ $\log$ ฐาน e

Formatted: Left

1.5) อัตราการรอดตาย (Survival rate)

$$\text{Survival rate} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือรอดจากการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

2.ประสิทธิภาพการใช้อาหาร

2.1) ปริมาณอาหารที่กิน (Feed intake, FI)

$$FI = \frac{(\text{ปริมาณอาหารที่ปลากินทั้งหมด/จำนวนปลาที่เหลือหลังสิ้นสุดการทดลอง})}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$$

2.2) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักเนื้อปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

น้ำหนักปลานิลที่เพิ่มขึ้น

2.3) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion efficiency, FCE)

$$FCE = \frac{\text{น้ำหนักปลานิลที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลานิลกิน}} \times 100$$

จากการศึกษาการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 % เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ที่ระดับ 25 % มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากปลากลุ่มควบคุมควบคุม แต่มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ที่ระดับอื่น (P ≤ 0.05) ซึ่งค่าที่แสดงได้ชัดเจนได้แก่ ค่าน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ นอกจากนี้การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ในอาหารปลานิลไม่มีผลให้อัตรารอดของปลาแตกต่างกันทางสถิติ (P ≤ 0.05)

ตารางที่ 22 การเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิกที่ระดับต่างๆเป็นระยะเวลา 90 วัน

การเจริญเติบโต และอัตราการรอด	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ (%)				
	0	25	50	75	100
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	18.11 ± 0.34 ^a	18.28 ± 0.53 ^a	18.16 ± 0.43 ^a	18.33 ± 0.50 ^a	18.68 ± 0.18 ^a
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	44.67 ± 0.45 ^a	42.55 ± 1.34 ^{ab}	36.61 ± 2.53 ^c	38.01 ± 2.06 ^{bc}	37.26 ± 1.78 ^c
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	26.50 ± 0.00 ^a	23.96 ± 1.46 ^b	18.61 ± 2.06 ^c	21.75 ± 3.59 ^{bc}	18.57 ± 1.52 ^c
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	0.29 ± 0.00 ^a	0.26 ± 0.02 ^b	0.20 ± 0.00 ^c	0.24 ± 0.04 ^b	0.20 ± 0.02 ^c
%น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	145.96 ± 3.84 ^a	129.00 ± 8.68 ^b	103.27 ± 8.73 ^c	128.10 ± 9.54 ^b	99.37 ± 6.76 ^c
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ	0.009 ± 0.00 ^a	0.008 ± 0.00 ^a	0.007 ± 0.00 ^a	0.008 ± 0.00 ^a	0.008 ± 0.001 ^a
อัตราการรอด (%)	78.33 ± 2.35 ^a	75.00 ± 7.78 ^a	88.33 ± 7.07 ^a	91.67 ± 7.07 ^a	95.00 ± 7.07 ^a

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

Formatted: Indent: First line: 0 cm, Space After: 0 pt

การเจริญเติบโตของปลานิลได้แก่ น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และ% น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันของ ~~ของ~~ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25 % มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมและสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นที่ทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนที่พบว่ามีความสูงในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25% เช่นกัน เนื่องจากประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนที่สูง-จึงทำให้ใช้ประโยชน์จากทั้งโปรตีนและโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ได้อย่างสูงสุด-จึงทำให้มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับอื่นๆ นอกจากนี้ที่ระดับการทดแทนดังกล่าว มีผลต่อความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารที่มีผลต่อการย่อยโปรตีน-และนำกรดอะมิโนไปใช้ในการสร้างโปรตีน ~~ขึ้น~~เพื่อการเจริญเติบโตซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดลองของอรพินท์และคณะ (2547) และนิคม (2555) ซึ่งศึกษาการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยโปรตีนจากหอยเชอร์รี่ในกุ้งก้ามกราม และปลาอุก และพบว่าการทดแทนที่ระดับ 25 % มีผลให้กุ้งก้ามกรามและปลาอุกมีการเจริญเติบโตดีที่สุด นอกจากนี้ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Gui *et al.* (2010) ที่พบว่าปลา ~~เจริญเจริญ~~เติบโตของปลา crucian carp ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก cotton seed meal ที่ระดับสูงขึ้นคือ 100 % มีผลให้การเจริญเติบโตของปลาดำกว่ากลุ่มทดลองอื่น

จากตารางที่ 23 พบว่าอาหารปลานิลที่ทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25 % ถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากปลานิลขนาด 18.31 กรัม ซึ่งเป็นปลาที่ใช้เลี้ยงทดสอบอาหารได้ดีที่สุดแต่ที่ระดับ ~~ทดแทนทดแทน~~สูงกว่า 25% ความสามารถในการย่อยได้ของเอนไซม์มีค่าลดลง เนื่องจากระดับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส มีขีดจำกัดในการย่อยโปรตีนดังกล่าวจึงทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ลดลงซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของอรพินท์และคณะ (2547) ซึ่งทดลองใช้โปรตีนจากหอยเชอร์รี่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกรามที่พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้จะลดลงเมื่อระดับการทดแทนเพิ่มสูงขึ้นและสอดคล้องกับการทดลองของสมฤทัย (2555) ที่พบว่าเมื่อปลาอุกได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยหอยเชอร์รี่ที่ระดับสูงกว่า 25% ขึ้นไป ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนจะลดลงเนื่องจากระดับเอนไซม์โปรติเอสในลำไส้ที่ลดลง (สมฤทัย, 2555) สำหรับการศึกษาแบบ *in vivo* พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 50 % มีค่า สูงกว่ากลุ่มควบคุม อาจเป็นเพราะที่ระดับการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตดังกล่าวมีสารกลุ่มไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (nonprotein nitrogen) ปนในระดับที่เหมาะสมอยู่ด้วยซึ่งง่ายต่อการนำไปใช้ในร่างกาย (Refstie *et al.*, 2004) โปรตีนไฮโดรไลเซตถูกย่อยได้ง่ายกว่าโปรตีนที่อยู่ในปลาป่นที่ปริมาณการใช้อัตราส่วนประมาณ 50 % ซึ่งถ้ามากหรือน้อยกว่านี้จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ลดลง ซึ่งผลที่ได้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Refstie *et al.* (2004) ที่พบว่าปลา Atlantic salmon ที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 5 – 15 % ให้ผลประสิทธิภาพ-การย่อยได้ของโปรตีนในอาหารไม่แตกต่างจากปลากลุ่มควบคุมเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Gui *et al.* (2010) ซึ่งใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจาก cotton seed ทดแทนปลาป่นในอาหารปลา crucian carp ที่ระดับ 10 และ 50 % มีค่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vitro* สูงกว่ากลุ่มทดแทนที่ระดับ 0 และ 100 % เช่นเดียวกับที่พบในการทดลองนี้

ตารางที่ 23 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกที่ระดับต่างๆ (*in vitro*) ด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ของปลานิลขนาด 18.31 กรัม

แหล่งเอนไซม์โปรติเอส	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ (%)				
	0	25	50	75	100
ลำไส้ปลานิล	89.35 ± 1.76 ^b	93.22 ± 1.52 ^a	87.69 ± 2.60 ^b	70.58 ± 1.35 ^c	77.74 ± 1.47 ^d

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3)

8.1- การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิล

ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ด้วยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์โดยเลี้ยงปลานิลขนาด 18.31 กรัม ในตู้กระจกขนาด 0.45 x 0.35 x 0.61 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 15 ตู้ ตู้ละ 5 ตัว ด้วยอาหารทดลอง (ตามข้อ 8) ผสมโครมิกซ์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1% ทั้ง 5 สูตร เลี้ยงปรับสภาพปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเริ่มทำการเก็บข้อมูลปลาทุกวันก่อนการให้อาหารแต่ละครั้ง ทั้งนี้ก่อนการเก็บข้อมูลปลาควรเก็บอาหารเหลือออกให้หมดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของอาหารเหลือซึ่งอาจทำให้การคำนวณผิดพลาดได้ ใช้เวลาเก็บข้อมูลประมาณ 90 วัน นำมูลที่ได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง จากนั้นนำมูล และอาหารไปวิเคราะห์โดยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000) และคำนวณประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนตามสมการด้านล่าง

$$\text{Protein digestibility} = 100 - \left\{ \frac{100 \times \frac{\% \text{ marker in diet}}{\% \text{ marker in faeces}} \times \frac{\% \text{ protein in faeces}}{\% \text{ protein diet}} \right\}$$

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้แบบ *in vivo* ด้วยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์พบว่าอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกที่ระดับ 50 % ถูกย่อยได้ดีที่สุด ($P \leq 0.05$) และเมื่อเพิ่มระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนลดลงตามลำดับ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอริกที่ระดับต่างๆ (*in vivo*)

ประสิทธิภาพ	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ (%)
-------------	---

Formatted: Font: Bold, Complex Script
Font: Bold

Formatted: Font: Bold, Complex Script
Font: Bold

Formatted: Font: Bold, Complex Script
Font: Bold

Formatted: Line spacing: single

การย่อยได้	0	25	50	75	100
โปรตีน	83.92 ± 0.06^b	81.37 ± 0.93^c	90.36 ± 0.53^a	75.28 ± 0.12^d	75.72 ± 2.41^d

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ประสิทธิภาพของโปรตีนและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

จากการศึกษาการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับประติบัติ 0, 25, 50, 75 และ 100 % เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าประสิทธิภาพของโปรตีนและค่าการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิ—ในปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปลากลุ่มควบคุมมีค่าดังกล่าวทั้งสองค่าสูงกว่า กลุ่มทดลองอื่นๆ และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 100 % มีค่าการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิต่ำที่สุด ($P \leq 0.05$) สำหรับประสิทธิภาพการใช้อาหารซึ่งสังเกตจากค่าปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 25% กินอาหารมากที่สุด แต่ปลากลุ่มควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และค่าประสิทธิภาพ—การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด

Formatted: Space After: 0 pt, Line spacing: single

Formatted: Space After: 0 pt

ตารางที่ 25 ประสิทธิภาพของโปรตีนและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน+2 สัปดาห์

ประสิทธิภาพโปรตีนและการใช้อาหาร	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ (%)				
	0	25	50	75	100
ประสิทธิภาพโปรตีน	3.46 ± 0.09^a	1.92 ± 0.16^c	1.82 ± 0.05^c	1.74 ± 0.31^c	2.34 ± 0.32^b
การใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิ (%)	76.99 ± 4.63^a	44.20 ± 3.50^{bc}	48.53 ± 4.44^b	40.34 ± 6.57^{bc}	33.55 ± 1.27^c
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	0.28 ± 0.00^b	0.45 ± 0.07^a	0.38 ± 0.02^{ab}	0.36 ± 0.02^{ab}	0.29 ± 0.02^b
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	0.96 ± 0.02^c	1.82 ± 0.02^{ab}	1.83 ± 0.05^{ab}	1.94 ± 0.34^a	1.42 ± 0.01^b
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (%)	103.82 ± 3.08^a	54.89 ± 0.94^c	54.55 ± 1.67^c	52.19 ± 9.19^c	70.37 ± 0.53^b

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าประสิทธิภาพของโปรตีนและการใช้ประโยชน์สุทธิของโปรตีนของปลากลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ—
ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ เนื่องจากชนิดของโปรตีนและความสมดุลของกรด

Formatted: Line spacing: single

อะมิโน ————— ของกรดอะมิโนในอาหารที่ต่างกัน นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ได้จากอาหารของปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปน—ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทุกระดับมีค่าน้อยกว่าปลากลุ่มควบคุม—ทั้งนี้เนื่องจากค่าประสิทธิภาพ ————— การใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลากลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าปลากลุ่มทดลองอื่นๆ ดังนั้นจึงส่งผล—ให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ—และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ—เพราะ ————— อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเกิดจากการสังเคราะห์โปรตีนด้วยกรดอะมิโนจำเป็นที่เป็นตัวตั้งต้น และกรดอะมิโน—ด้วยสัดส่วนที่เหมาะสม ดังนั้นถ้าสัดส่วนกรดอะมิโนจำเป็น—และไม่จำเป็นมีในอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสม ————— การสังเคราะห์โปรตีนเพื่อใช้ในการสร้างกล้ามเนื้อจะไม่เกิดขึ้น ส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ต่ำ ————— (Go´mez-Requena *et al.*, 2004)

4) 8.2- การศึกษาองค์ประกอบซากของปลานิลทั้งตัวทางเคมีของเนื้อปลานิล

การวิเคราะห์องค์ประกอบซากของปลานิลทั้งตัวทางเคมีของวัตถุดิบอาหาร—อาหารและเนื้อปลา—ตามวิธีการของ AOAC (2000) —พบว่าผลการศึกษาการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนปลาปนด้วย —โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 % เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่ามีผลให้เปอร์เซ็นต์ซากของปลานิล ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เนื้อ—เปอร์เซ็นต์กระดูก—และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในของปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปลา—กลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ—100% % มีค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อ—สูงที่สุด—แต่ค่าเปอร์เซ็นต์กระดูก—และเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายในอวัยวะภายในสูงที่สุด—ส่วนปลากลุ่มควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อและเปอร์เซ็นต์กระดูกสูงที่สุด—สำหรับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25 % มีค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อและเปอร์เซ็นต์กระดูกต่ำที่สุดของปลาแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)—ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 26 องค์ประกอบซากของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริกที่ระดับต่างๆ—เป็นระยะเวลา 90 วัน

องค์ประกอบซาก (%)	ระดับการทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ (%)				
	0	25	50	75	100
เนื้อ	30.03 ± 1.65 ^a	25.1924.30 ± 0.281.53 ^b	26.07 ± 0.48 ^b	26.89 ± 0.80 ^b	24.69 ± 1.33 ^b
กระดูก	62.4255.79 ± 3.020.69 ^a	39.2049.95 ± 6.36 ^{ab}	57.04 ± 1.48 ^a	53.9649.16 ± 5.021.76 ^a	53.48 ± 1.31 ^a
อวัยวะภายใน	13.3212.66 ±	9.7012.59 ±	15.55 ± 2.91 ^{ab}	14.9213.82 ±	17.49 ± 1.43 ^a

Formatted: Font: Bold, Complex Script
Font: Bold

Formatted: Font: Bold, Complex Script
Font: Bold

Formatted: Space After: 0 pt, Line
spacing: single

Formatted: Superscript

	1.2±0.82 ^{ab}	0.862.44 ^{ca}	0.161.90 ^{ab}	
--	------------------------	------------------------	------------------------	--

Formatted: Superscript

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

อาหารที่ปลาได้รับในแต่ละกลุ่มทดลองถูกนำไปใช้ในการสร้างกล้ามเนื้อ กระดูก ส่วนของอวัยวะภายใน และไขมัน สำหรับปลากลุ่มควบคุมน้ำโปรตีนและสารอาหารอื่นๆ ถูกนำไปใช้เป็นพลังงานและสร้างกล้ามเนื้อของร่างกายทำให้เปอร์เซ็นต์ส่วนที่เป็นเนื้อมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ อย่างไรก็ตามปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่น — ด้วยปลาซัคเกอร์ที่ระดับ -2550 - 100 % — มีค่าเปอร์เซ็นต์เนื้อกระดูกและอวัยวะภายในสูงกว่า และบางกลุ่มมีค่าใกล้เคียง — กับต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เพราะความไม่สมดุลของโปรตีน — และปริมาณกรดอะมิโนในอาหาร จึงมีผลให้การนำสารอาหาร โดยเฉพาะโปรตีนไปใช้ในการสังเคราะห์สารอาหารชนิดอื่น ส่งผลให้กรดอะมิโนที่ถูกนำไปใช้สร้างโปรตีนในกล้ามเนื้อ — มีค่าน้อยกว่า มีผลต่อปริมาณของกล้ามเนื้อที่น้อยกว่า กลุ่มควบคุม (Rønnestad *et al.*, 2000 และ Hansen *et al.*, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพของโปรตีน และการใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิ — ซึ่งพบมีค่าสูงในปลากลุ่มควบคุม และมีค่าต่ำในปลากลุ่มทดลองอื่น — นอกจากนี้ปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนในกรดอะมิโนที่ได้รับ — รวมถึง — ความสามารถในการใช้กรดอะมิโนจำเป็น และการสังเคราะห์โปรตีน จึงมีความสัมพันธ์กันต่อการสร้างกล้ามเนื้อปลาด้วย (Go´mez-Requena *et al.*, 2004) ซึ่งปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มี ความสมดุลของกรดอะมิโนที่คิดว่าจะสามารถสังเคราะห์โปรตีนในซึ่งได้แก่กล้ามเนื้อได้ดีกว่าปลาในกลุ่มอื่น สำหรับผลรวมของ ค่าเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบซากในบางกลุ่มทดลองมีค่ารวมไม่ถึง 100 % เนื่องจากส่วนของเกล็ดปลาที่ขูดออกมาจะอยู่ในสภาวะที่มีน้ำอยู่ด้วย — และไม่ถูกนำไปเป็นน้ำหนักรวมกับส่วนใด — จึงทำให้น้ำหนักส่วนนี้หายไป — และการแยกอวัยวะออกมาอาจจะมีส่วนที่ยังติดอยู่ในตัวปลา — ทำให้ไม่สามารถนำออกมาได้ — และค่าน้ำหนักที่ได้จากขาดหายไป — จากการแตกออกของบางอวัยวะ เช่น -ถุงน้ำดี - หรือ ถุงปัสสาวะ เป็นต้น สำหรับกลุ่มที่ค่ารวมเกิน 100% อาจจะเกิดจากส่วนที่เป็นน้ำของตัวปลาด้านนอก — และบางส่วนของร่างกายที่ตัดแยกออกมาแล้ว ยังมีส่วนค้างอยู่ ดังนั้นจึงทำให้ค่าที่ได้มีค่าเกิน 100 %

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt

Formatted: Font: 16 pt, Font color: Black, Complex Script Font: 16 pt, Pattern: Clear

Formatted: Indent: First line: 1.27 cm

Formatted: Font: Bold, No underline, Complex Script Font: Bold

Formatted: Indent: First line: 1.27 cm, Space After: 10 pt

Formatted: Font: Bold, No underline, Complex Script Font: Bold

Formatted: Font: Bold, No underline, Complex Script Font: Bold

Formatted: Space After: 10 pt

5) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิล

จากการศึกษาการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ — ที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 % เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเนื้อปลาในแต่ละกลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไขมัน และเถ้าของเนื้อปลามีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่

ระดับ -25 % มีค่าโปรตีนในเนื้อสูงที่สุด และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 75 และ 100 % มีค่าโปรตีนในเนื้อต่ำที่สุด สำหรับค่าไขมันในเนื้อปลาพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 75 % มีค่าดังกล่าวสูงสุด ค่าเถ้าในเนื้อปลาพบมีค่าสูงในปลากลุ่มควบคุม และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ทั้งตัวที่ระดับ 75 %

ตารางที่ 27 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต

จากปลาซัคเกอร์สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิคที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน

องค์ประกอบทางเคมี ในเนื้อปลา (%)	ระดับการทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ (%)				
	0	25	50	75	100
โปรตีน	57.87 ± 1.07 ^b	60.28 ± 1.25 ^a	59.27 ± 0.07 ^{ab}	54.81 ± 0.19 ^c	54.68 ± 1.29 ^c
ไขมัน	5.46 ± 0.317 ^{ab}	4.88 ± 0.26 ^{bc}	4.38 ± 0.42 ^{dc}	5.81 ± 0.64 ^a	3.78 ± 0.45 ^d
ความชื้น	17.96 ± 0.58 ^a	17.78 ± 0.33 ^a	16.89 ± 0.01 ^a	17.81 ± 0.45 ^a	17.42 ± 1.77 ^a
เถ้า	10.61 ± 0.53 ^a	9.20 ± 0.53 ^{bc}	9.75 ± 0.18 ^{ab}	10.72 ± 0.53 ^a	8.34 ± 0.16 ^c

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ระดับโปรตีนในเนื้อของปลานิลที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับ 25 % มีค่าสูงที่สุด ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์เนื้อที่ได้จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และไม่แตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่ระดับอื่นๆ ระดับโปรตีนที่ลดลงในปลาที่ระดับโปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนปลาปนอาจเกิดจากการดูดซึมกรดอะมิโนอิสระที่ได้รับจากอาหารอย่างรวดเร็วทำให้เกิดความไม่สมดุลของกรดอะมิโน (Rønnestad *et al.*, 2000) และความไม่สมดุลของกรดอะมิโนนี้ยังก่อให้เกิดการสลายโปรตีน และเพิ่มการหมุนเวียนของโปรตีนในร่างกายด้วย (Hansen *et al.*, 2007) เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้กับการทดลองของ Gui *et al.* (2010) พบว่าสอดคล้องกับการทดลองนี้ที่พบว่าระดับโปรตีนในเนื้อปลาจะลดลง เมื่อระดับการทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจาก cotton seed meal เพิ่มขึ้นในปลา crucian carp

จากการศึกษาต้นทุนการอาหารปลานิลที่ไม่ทดแทนโปรตีนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต เท่ากับ 27.79 บาท/ กิโลกรัม และต้นทุนอาหารปลานิลที่ทดแทนโปรตีนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 25% เท่ากับ 157.61+26.48 บาท/ กิโลกรัม ดังแสดงตารางที่ 28

ตารางที่ 28 เปรียบเทียบต้นทุนระหว่างอาหารปลานิลที่ไม่ทดแทนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต

กับอาหารปลานิลที่ทดแทนโปรตีนปลาปนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 25%

Formatted: Space After: 10 pt

Formatted: Thai Distributed Justification, Line spacing: single

วัตถุดิบ	อาหารปลานิลที่ไม่ทดแทนโปรตีนปลาป่น ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต (1 กก.)			อาหารปลานิลที่ทดแทนโปรตีนปลาป่น ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ระดับ 25% (1 กก.)		
	ปริมาณ (กก.)	ราคา/หน่วย (บาท)	ราคา (บาท)	ปริมาณ (กก.)	ราคา/หน่วย (บาท)	ราคา (บาท)
ปลาป่น	0.25	33.00	8.25	0.187	33.00	6.17
โปรตีนไฮโดรไลเซต	0.00	1,735.47325.90	0.00	0.076	1,735.47325.90	131.90100.77
กากถั่วเหลือง	0.30	20.00	6.00	0.30	20.00	6.00
รำละเอียด	0.13	12.00	1.56	0.13	12.00	1.56
ข้าวโพด	0.70	10.00	0.70	0.70	10.00	0.70
มันสำปะหลัง	0.15	10.00	1.50	0.15	10.00	1.50
น้ำมันพืช	0.035	47.00	1.65	0.035	47.00	1.65
น้ำมันปลา	0.035	125.00	4.38	0.035	125.00	4.38
พรีมิกซ์	0.01	250.00	2.50	0.01	250.00	2.50
สารเหนียว	0.01	125.00	1.25	0.01	125.00	1.25
			27.79			157.61126.48

สรุปผลการทดลอง

1. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง มีสภาวะการสกัดที่เหมาะสม ดังนี้ ปริมาณน้ำกลั่นต่อปริมาณตัวอย่าง เท่ากับ 100 : 100 %, พีเอช 3.0, อุณหภูมิ เท่ากับ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 30.06 ± 0.54 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ค่า Degree of Hydrolysis (DH) เท่ากับ 15.30% ผลผลิตแห้งเท่ากับ $20.84 \pm 0.92\%$ และค่าการเสื่อมสลายด้วยความร้อน เท่ากับ ~~91.65~~ 91.65 องศาเซลเซียส

Formatted: Thai Distributed Justification

2. โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริก มีสภาวะการสกัดที่เหมาะสม ดังนี้ ปริมาณน้ำกลั่นต่อปริมาณตัวอย่าง เท่ากับ 100 : 100 %, ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก 5.5 โมลาร์, อุณหภูมิ เท่ากับ 67 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 6 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 54.50 ± 1.86 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ค่า Degree of Hydrolysis (DH) เท่ากับ 27.74 % ผลผลิตแห้ง เท่ากับ 21.81 ± 0.24 % และค่าการเสื่อมสลายด้วยความร้อน เท่ากับ 91.33 องศาเซลเซียส

3. องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริก ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ไนโตรเจน คาร์โบไฮเดรต และอื่นๆ ดังต่อไปนี้ 63.85 ± 0.43 % 18.01 ± 0.43 % 9.99 ± 0.22 % 3.24 ± 0.08 % 2.82 ± 0.25 % และ 2.09 ± 0.05 % ตามลำดับ ดังนั้นจึงใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริกนี้ไปทำการทดลองเป็นส่วนผสมอาหารปลานิล

Formatted: Thai Distributed Justification

4. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ที่สกัดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอสฟอริกทดแทนปลาป่น ในสูตรอาหารปลานิล ควรใช้ทดแทนที่ระดับ 25% เนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าวให้ผลการเจริญเติบโตของปลานิล ที่ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร

5. ต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากปลาซัคเกอร์ เท่ากับ ~~1,735.47325.90~~ บาท/กิโลกรัม และ ต้นทุนอาหารปลานิลที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์เป็นส่วนผสม 25% เท่ากับ ~~157.6126.48~~ บาท/กิโลกรัม

Formatted: Left

ข้อเสนอแนะ

1. ถึงแม้ว่าปริมาณปลาซัคเกอร์ที่พบทั้งแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะมีปริมาณพอสมควร แต่กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไม่นำปลาซัคเกอร์มาแลกลูกพันธุ์สัตว์น้ำของกรมประมง เพราะไม่คุ้มค่ากับค่าใช้จ่ายในการเดินทาง ดังนั้นควรกำหนดแหล่งรวบรวมปลาซัคเกอร์บริเวณชุมชนต่างๆ เพื่อหน่วยงานของกรมประมงในพื้นที่นั้นสามารถจับได้สะดวกขึ้น หรือควรมีการรวมกลุ่มกันเพื่อทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ต่อไป

2. จากผลการศึกษาพบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดจากปลาซัคเกอร์ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก ได้โปรตีน เท่ากับ 63.85 % ปริมาณเถ้า เท่ากับ 18.01 % และได้ผลผลิตแห้ง เท่ากับ 21.81% และจากการสังเกตพบว่ากลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์นั้นมีกลิ่นคล้ายกับกลิ่นของน้ำปลา จากคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้เป็นสารแต่งกลิ่นรสในอาหารสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำนั้นไม่มีเครื่องมือที่ใช้ในการทำแห้งโปรตีนไฮโดรไลเซต ประกอบกับกลุ่มเกษตรกรเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะฉะนั้นการนำไปใช้จำเป็นต้องใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ในรูปแบบของเหลวชั้น และอาจใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นทางเลือกให้กับกลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือผู้คนที่เพิ่มมูลค่าและเพิ่มการใช้ประโยชน์จากปลา—ซัคเกอร์ เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนอีกแหล่งหนึ่งในอาหารสัตว์น้ำ
2. สามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์จากปลาซัคเกอร์ ในทางกลับกันเป็นการควบคุมปลาซัคเกอร์ในแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไม่มีปริมาณมากเกินไป
3. สามารถจุดประกายความคิดให้กับกลุ่มเกษตรกรเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในเขตภาคเหนือซึ่งใน—ปัจจุบันในฤดูหนาวจะเกิดปัญหาน้ำเลี้ยงปลาตื้นตื้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ปลาที่เลี้ยงปรับตัวไม่ทัน และตายในที่สุด ซึ่งปลาตายเหล่านี้กลุ่มเกษตรกรฯ ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ต้องปล่อยให้เน่าเสียโดยไม่เกิดประโยชน์ และสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นปัญหาที่พบเป็นประจำทุกๆ ปี ทางคณะผู้วิจัยคาดหวังว่ากลุ่มเกษตรกรฯ ที่ประสบกับปัญหานี้จะนำความรู้เกี่ยวกับการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาซัคเกอร์ไปใช้ให้เกิดประโยชน์—โดยนำปลาที่ตายมาใช้เป็นวัตถุดิบแทน

Formatted: Thai Distributed
Justification, Space After: 10 pt

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2548. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2547. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมงศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. กรุงเทพฯ. 96 หน้า
- กรมประมง. 2552. กรมประมงเดินหน้านับ"ปลานิล" ระดมสมองร่างยุทธศาสตร์ผลักดัน.
<http://www.nicaonline.com/webboard/index.php?topic=14175.0>
- ณัฐกานต์ ประทุมศรี, ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ, อรพินท์ จินตสถาพร และ ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ. 2552. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากหนอนไหมอิตาลี (Philosamia ricini, Boisd) ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาตุ๊กตาส้ม (Clarias gariepinus). Proceedings of the 47th Kasetsart University Annual Conference. Kasetsart, 17-20 March 2009.
- เดลินิวส์. 2555. ลุยหนองน้ำล่าจับปลาซัคเกอร์ทำระบบนิเวศน์ปูน. เข้าถึงได้จาก
<http://www.dailynews.co.th/thailand/18235> .วันที่สืบค้นข้อมูล 30 เมษายน 2556
- นิคม แสบบ้าน. 2555. การใช้หอยเชอรี่ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาตุ๊กตาส้ม. ปัญหาพิเศษสาขาวิชาการประมง คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา. พะเยา
- นฤมล สุขมาสวิน. 2550. ซัคเกอร์ตัวอันตราย. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง.
 เข้าถึงได้จาก <http://www.stou.ac.th/study/>. วันที่สืบค้นข้อมูล 15 พฤษภาคม 2555.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. เอนไซม์ทางอาหาร ตอน1. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ
- รุ่งกานต์ กล้าหาญ. 2552. กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหารและผลของการเสริมเอนไซม์ต่อการใช้ประโยชน์ของอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 148 หน้า.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์. กรุงเทพฯ
- วันชัย เกียรติพิมล. 2545. การผลิตและการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตและสารสกัดจากปลาจากวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลเป็นสารดึงดูดการกินอาหารของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.) บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงราย. 2552. รายงานผลการแลกเปลี่ยนปลาซัคเกอร์. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. กรมประมง
- สิทธิพัฒน์ แก้วฉ่ำ. 2551. การใช้ปลาซัคเกอร์และหอยเชอรี่เป็นอาหารเลี้ยงปลานิล. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

สมฤทัย ทองอร่าม. 2555. การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์โปรติเอสในปลาตุ๊กที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วย
หอยเชอรี่. ปัญหาพิเศษ สาขาวิชาการประมง ม.พะเยา, พะเยา.

เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และพิทยา อุดลยธรรม. 2541. การย่อยสลายโปรตีนของหัวปลาพุน้ำด้วยเอนไซม์ย่อย
โปรตีน

ที่ผลิตทางการค้า. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อรพินท์ จินตสถาพร ประทักษ์ ตาบทิพยวรรณ และสุธาสรี เย็นมาก. 2547. การใช้หอยเชอรี่ทดแทนปลาป่นใน
อาหารกึ่งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). เรื่องได้การประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 : สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. ม.เกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ
อนุวัตร แฉ่งชัด. 2549. เอกสารประกอบการสอนวิชาสถิติสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร. ภาควิชา
พัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อารักษ์รา สุขเจริญศักดิ์กุล. 2535. การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากน้ำเลี้ยงปลาพุน้ำเพื่อใช้เป็น
สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Aksnes, A., B. Hope and S. Albrektsen. 2006. Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for
rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. II: Flesh quality, absorption,
retention and fillet levels of taurine and anserine. *Aquaculture* 261: 318 – 326.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist Inc.,
Virginia.

Arteaga, G.E., E., Li-Chan, M.C. Vazquez-Arteaga and S. Nakai. 1994. Systematic experimental designs
for product formula optimization. *Trends in Food Science and Technology*. 5: 243-254.

Bezerra, M.A., R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar and L.A. Escaleira. 2008. Response surface
methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 76: 965-977.

Bhaskar, N. and N.S. Mahendrakar. 2008. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla
(*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease.
Bioresource Technology 99: 4105-4111.

Box, G. E. P. and N.R. Draper. 2007. Empirical Model-Building and Response Surfaces; Wiley Series in
Probability and Mathematical Statistic. John Wiley & Son Inc.

Chalamaiah, M., G. Narsing Rao, D.G. Rao and T. Jyothirmayi. 2010. Protein hydrolysates from
meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties.
Food Chemistry 120: 652 – 657.

Formatted: Indent: First line: 1.27
cm

Formatted: Indent: First line: 1.27
cm

Cho, S.M., Y.S. Gu, and S.B. Kim. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids 19: 221–229.

Dong, S., M. Zeng, D. Wang, Z. Liu, Y. Zhao and H. Yang. 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Food Chem. 107: 1485 – 1493.

Fageer, A.S.M. and A.H. El – Tinay. 2004. Effect of genotype, malt pretreatment and cooking on in Vitro protein digestibility and protein fraction of corn. Food Chem. 84(4): 613 – 619.

Gimenez, A.V.F., I. Fernandez, R.M. Preciado, M. Oliva, D. Tova and H. Nolasco. 1999. The activity of digestive enzyme during the molting stage of the arched swimming Callinectes Arcautus orday, 1863. (Crustacea : decapoda: portunidae). Bull. Mar. Sci. 65(1): 1 – 9.

Go´mez-Requenía, P., M. Mingarroa, J.A. Caldach-Ginera, F. Me´daleb, S.A.M. Martinc, D.F. Houlihanc, S. Kaushikb, J. Pe´rez-Sa´nchez. 2004. Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture 232: 493–510.

Gornall, A.G., C.J. Bardawill and M.M. David. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. Journal of Biological Chemistry. 177: 751– 766.

Gui, D., W. Liu, X. Shao and W. Xu. 2010. Effects of different dietary levels of cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestibility, body composition and serum biochemical indices in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Animal Feed Science and Technology 156: 112–120.

Hansen, A.C., G., Rosenlund, Ø., Karlsen, W., Koppe and G.I., Hemre. 2007. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). I. Effects on growth and protein retention. Aquaculture 272: 599–611.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.

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

Formatted: Indent: First line: 1.27 cm

Formatted: Indent: First line: 1.27 cm

- Madamba, P.S. 2002. The response surface methodology: an application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 35: 584-592.
- Refstie, S., J. J. Olli and H. Standal. 2004. Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture* 239: 331 – 349.
- Rønnestad, I., C. L.E., Conceição, C., Aragão and M.T., Dinis. 2000. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *J. Nutr.* 130: 2809 –2812.
- Samaranayaka, A. and E. C.Y. Li-Chen. 2008. Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from Pacific hake (*Merluccius productus*). *Food Chem* 107: 768 – 776.
- Santisawadi, S., S. Chaiseri, N. Jinda and U. Klinkesorn. 2013. Process optimization using response surface design diacylglycerol synthesis from palm fatty acid distillate by enzymatic esterification. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 35(1): 23 – 32.
- Sikorski, Z., B. Pan and F. Shahidi. 1994. *Seafood Proteins*. Chapman & Hall London.
- Sterba, G. 1983. *The aquarium fish encyclopedia*. The MIT Press. Cambridge. Massachusetts.
- Webster, C.D. and C.E. Lim. 2002. *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*. CABI Publishing. UK.
- Yuan, Y., Y., Gao, L., Mao and J. Zhao. 2008. Optimization of conditions for the preparation of β -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food Chemistry*. 107: 1300-1306.
- Zhou, P. and J.M. Regenstein. 2004. Optimization of extraction condition for pollock skin gelatin. *Journal of Food Science*. 69: c393-c398.

ภาคผนวก

ตารางแผนงาน

วัตถุประสงค์	ผลที่ได้รับ (Out put)
1. สํารวจปริมาณปลาซึกเกอร์ที่จับได้จากแหล่งน้ำต่างๆ	1. ได้ข้อมูลปริมาณการแลกเปลี่ยนปลาซึกเกอร์กับพันธุ์ปลาของกรมประมง (10085%) 2. ได้ข้อมูลค่าใช้จ่ายของโครงการแลกเปลี่ยนปลาซึกเกอร์กับพันธุ์ปลา (10085%) 3. ได้ข้อมูลค่าความเสียหายเนื่องจากปลาซึกเกอร์ของเกษตรกรบริเวณจังหวัดดังกล่าว (10085%)
2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลาซึกเกอร์ทั้งตัว	1. ได้ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลาซึกเกอร์ทั้งตัว (100%)
3. ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับน้ำกลั่น	1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วย

ฟิเอช, อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยตัวเอง	วิธีการย่อยสลายตัวเอง (100%) 2. ทราบค่าปริมาณโปรตีนและค่า Degree of Hydrolysis (DH) (100%) 3. ทราบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ (100%) 4. ทราบค่าการเสื่อมสภาพด้วยความร้อนของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ (100%)
4. ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับน้ำกลั่น ฟิเอช อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัด โปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยด้วย กรดฟอสฟอริก	1. ทราบสถานะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วย วิธีการย่อยด้วยกรดฟอสฟอริก (100%) 2. ทราบค่าปริมาณโปรตีนและค่า Degree of Hydrolysis (DH) (100%) 3. ทราบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ (100%) 4. ทราบค่าการเสื่อมสภาพด้วยความร้อนของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้ (100%)

ตารางแผนงาน (ต่อ)

วัตถุประสงค์	ผลที่ได้รับ (Out put)
5. ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำ โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สกัดได้เพื่อทดแทน โปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ	1. ได้ข้อมูลประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบของ เอนไซม์ Protease ที่สกัดจาก <i>Bacillus sp.</i> และที่สกัดได้ จากลำไส้ปลานิล (100%) 2. ทราบประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิล (100%) 3. ได้ข้อมูลปริมาณการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารปลานิล (100%) 4. ทราบองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา (100%) 5. ทราบต้นทุนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์

	(100%)
--	--------

เปรียบเทียบกิจกรรมที่เสนอในข้อเสนอโครงการและกิจกรรมที่ทำจริง

กิจกรรมหลัก	กิจกรรมรอง	กิจกรรมที่ทำจริง
1. สำรวจปริมาณปลาซัคเกอร์ที่จับได้จากแหล่งน้ำต่างๆ	1.1. สำรวจและรวบรวมข้อมูลปริมาณ การแลกเปลี่ยนซัคเกอร์กับพันธุ์	1) สำรวจและเก็บข้อมูลจากหน่วยงานของกรมประมงเกษตรกร

	ปลาของกรมประมง บริเวณจังหวัด เชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา 1.2. ศึกษาถึงค่าใช้จ่ายของกรม ประมงที่จัดทำโครงการแลกเปลี่ยน ปลา ซักเกอร์กับพันธุ์ปลา 1.3. ศึกษาถึงผลกระทบและมูลค่า ความเสียหายของเกษตรกรบริเวณ จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย ตาก อุตรดิตถ์ และพะเยา	และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง บริเวณ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา ลำปาง อุตรดิตถ์ และตาก เพื่อทราบ ข้อมูลดังนี้ - ข้อมูลปริมาณการแลกเปลี่ยนปลา ซักเกอร์ กับพันธุ์ปลาของกรมประมง - ค่าใช้จ่ายกรมประมงที่จัดทำ โครงการแลกเปลี่ยนปลา ซักเกอร์กับพันธุ์ปลา - ผลกระทบและมูลค่าความเสียหาย ของเกษตรกร
2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ ปลาซักเกอร์ทั้งตัว	2.1. วิเคราะห์ปริมาณความชื้น 2.2. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน 2.3. วิเคราะห์ปริมาณไขมัน 2.4. วิเคราะห์ปริมาณเถ้า 2.5. วิเคราะห์ปริมาณ โซเดียมคลอไรด์	- ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทาง เคมีของปลาซักเกอร์ทั้งตัว ได้แก่ วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณ โปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณโซเดียมคลอไรด์
3. ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับ น้ำกลั่น พิเศษ อุณหภูมิ และ ระยะเวลาการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซต ด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยตัวเอง	3.1. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและ ค่าระดับการย่อยสลาย 3.2. วิเคราะห์ชนิดและปริมาณ กรดอะมิโน 3.3. วิเคราะห์ห่าน้ำหนักโมเลกุล 3.4. วิเคราะห์ค่าการเสื่อมสภาพ ด้วยความร้อนของโปรตีน	- ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการ สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการ ย่อยสลายด้วยตัวเอง - ศึกษาและวิเคราะห์ตามข้อ 3.1 – 3.4

เปรียบเทียบกิจกรรมที่เสนอในข้อเสนอโครงการและกิจกรรมที่ทำจริง (ต่อ)

กิจกรรมหลัก	กิจกรรมรอง	กิจกรรมที่ทำจริง
4. ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับ น้ำกลั่น ความเข้มข้นของกรดฟอร์มิก	4.1. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและ ค่าระดับการย่อยสลาย	- ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการ สกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการ

อุณหภูมิ และระยะเวลาสกัดโปรตีน ไฮโดรไลเซตด้วยวิธีการย่อยสลายด้วย กรดฟอร์มิก	4.2. วิเคราะห์ชนิดและปริมาณ กรดอะมิโน 4.3. วิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุล 4.4. วิเคราะห์ค่าการเสื่อมสภาพ ด้วยความร้อนของโปรตีน	ย่อยสลายด้วยกรดฟอร์มิก - ศึกษาและวิเคราะห์ตาม ข้อ 4.1 – 4.4
5. ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของ โปรตีนในวัตถุดิบของเอนไซม์ protease ที่สกัดจาก <i>Bacillus</i> sp. และที่สกัดได้จากลำไส้ปลานิลขนาด เฉลี่ย 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม - ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้ของ โปรตีนในอาหารปลานิล - ศึกษาปริมาณการใช้ โปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารปลานิล - ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ ปลานิล	5.1. ศึกษาประสิทธิภาพการ สลายตัวจากการย่อยด้วยเอนไซม์ Protease 5.2. เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของ ปลานิล	- ศึกษาประสิทธิภาพจากการย่อยด้วย เอนไซม์ Protease - ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจาก ปลาชัคเกอร์ในอาหารปลานิล - วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ เนื้อปลานิล
6. ศึกษาต้นทุนการผลิต โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์	6.1. ศึกษาต้นทุนการผลิตโปรตีน ไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ 6.2. ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไล เซตจากปลาชัคเกอร์ต่อต้นทุนการ ผลิตอาหารปลานิล	- คำนวณต้นทุนการผลิตโปรตีน ไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์และ ต้นทุนการผลิตอาหารปลานิลที่ใช้ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากปลาชัคเกอร์ ทดแทนปลาป่น

ลงนาม _____

นายตรีสินธุ์ โพธารส

(หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน)

วันที่ 27 ธันวาคม 2556