



การเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการย่อยเปลือกกุ้งและกระดูกปลาด้วย เอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปนในอาหารต่อการเติบโตของปลาดุกผสม (*Clarias macrocephalus* × *Clarias garepinus*)

Supplemental Protein Hydrolysate from Shrimp Shell Meal and Fish Bone Meal Digested by Bromelain and Papain Enzymes in Diet on Growth Performance of Hybrid Catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias garepinus*)

พรทิส ทongsanitkan¹, ธนภัทร วรปัสสุ^{1,*}, ณัฐรินทร์ ศิริรัตนันท์¹ และ จิรภัทร ทหาระซอน¹
Porntisa Thongsanitkan¹, Thanaput Worapussu^{1,*}, Nuttarin Sirirustananun¹
and Jirapat Harachon¹

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

¹ Program of Agriculture, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Petchabun Rajabhat University, Petchabun 67000

รับเรื่อง: 25 มกราคม 2566 Received: 25 January 2023

ปรับแก้ไข: 7 กรกฎาคม 2566 Revised: 7 July 2023

รับตีพิมพ์: 14 กรกฎาคม 2566 Accepted: 14 July 2023

* Corresponding author: thanaput.wor@pcru.ac.th

บทคัดย่อ

ความเป็นมาและวัตถุประสงค์: เศษเหลือทิ้งจากครัวเรือนและร้านอาหารจำพวกเปลือกกุ้งและกระดูกปลา มีจำนวนมาก จึงสนใจนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ เพื่อศึกษาการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเปลือกกุ้งและกระดูกปลาด้วยเอนไซม์บรอมีเลนและปาเปนในอาหารปลาดุกผสม

วิธีดำเนินการวิจัย: วางแผนการทดลองแบบ 2 × 2 แฟกทอเรียลในแผนแบบการทดลองสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย ปัจจัย A คือ วัตถุดิบอาหารสัตว์ (เปลือกกุ้งปน และกระดูกปลาปน) และปัจจัย B คือ เอนไซม์สกัด (เอนไซม์บรอมีเลน และเอนไซม์ปาเปน) เลี้ยงปลาดุกผสมด้วยการให้อาหารทดลองในปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 2 มื้อ ชั่งน้ำหนักปลาและเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน

ผลการวิจัย: วัตถุดิบอาหารกับเอนไซม์มีอิทธิพลร่วมกันต่อคุณภาพโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ โดยเอนไซม์บรอมีเลนสามารถย่อยกระดูกปลาปนทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มีคุณภาพ เมื่อนำไปเสริมในอาหารทำให้การเจริญเติบโตดีกว่าปลาดุกผสมทุกกลุ่มและดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเอนไซม์บรอมีเลนย่อยเปลือกกุ้งปน โดยมีน้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 16.50 ± 1.41 กรัมต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 9.31 ± 1.47 กรัมต่อตัว และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันเท่ากับ 0.17 ± 0.03 กรัมต่อตัวต่อวัน ($P < 0.05$) ส่วนต้นทุนค่าอาหาร พบว่า อาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกระดูกปลาปนย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนมีต้นทุนต่ำกว่าราคาจำหน่ายอาหารเม็ดสำเร็จรูปทางการค้า

สรุป: การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยกระดูกปลาปนด้วยเอนไซม์บรอมีเลนเสริมในอาหารปลาดุกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลาและเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทิ้งให้เป็นวัตถุดิบทางเลือกในการลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์น้ำได้

คำสำคัญ: บรอมีเลน, ปาเปน, ปลาดุกลูกผสม

ABSTRACT

Background and Objectives: There are many residues from households or restaurants such as shrimp shells and fish bones that are interested in using as alternative raw materials in aquatic animal feed. This study aims to investigate the effect of supplemental protein hydrolysate from shrimp shell meal and bone meal digested by bromelain and papain enzyme in hybrid catfish diet.

Methodology: The study was designed in 2 x 2 factorial in completely randomized design with three replicates each. Factor A was animal feed ingredients (Shrimp shell meal and fish bone meal) and factor B was extracted enzymes (Bromelain and papain). The hybrid catfish were fed 5% of body weight twice a day with experimental feed. Every 2 weeks, fish was sampling to weight for adjust feed intake and growth data were recorded for a period of 2 months.

Main Results: At the conclusion of the experiment, it was observed that raw materials and enzymes mutually influenced the quality of the resulting protein hydrolysate. Bromelain enzyme effectively digested fish bone meal, resulting in a high-quality protein hydrolysate. When incorporated into the diet, it significantly improved growth compared to all groups of hybrid catfish. Furthermore, it outperformed the group receiving protein hydrolysate supplemented with shrimp shell meal digested by bromelain enzyme. The final weight averaged 16.50 ± 1.41 g/fish, weight gain was 9.31 ± 1.47 g/fish, and daily weight gain was 0.17 ± 0.03 g/fish/day ($P < 0.05$). In terms of feed cost, it was found that the protein hydrolysate supplemented diet using fish bone meal with bromelain enzyme was more cost-effective than commercial feed.

Conclusions: The use of protein hydrolysate from bone meal digested by bromelain enzyme supplemented in hybrid catfish diets improves the growth of fish and, as alternative raw materials, helps reduce the cost of aquaculture feed production.

Keywords: Bromelain, papain, hybrid catfish

บทนำ

อาหารถือเป็นแหล่งรวมโภชนะหรือสารอาหาร (Nutrients) ต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน แร่ธาตุ และน้ำต่าง ๆ ที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และการสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อต้านทานโรค ซึ่งสัตว์น้ำจะมีความต้องการโภชนะที่แตกต่างกันไปตามชนิด ช่วงอายุ และขนาดของสัตว์น้ำ (Jintasataporn, 2010) และโปรตีนเป็นโภชนะหลักที่สำคัญที่สุดสำหรับสัตว์น้ำ โดยสัตว์น้ำต้องการโปรตีนเพื่อเป็นโครงสร้างสำคัญในเนื้อเยื่อและอวัยวะของสัตว์น้ำ ในร่างกายของสัตว์ต้องการโปรตีนตลอดช่วงชีวิตในระดับที่ต่างกันไปตามขนาดช่วงอายุ และชนิดของสัตว์น้ำ โดยสัตว์น้ำวัยอ่อนจะมีความต้องการโปรตีนในระดับปริมาณที่สูงกว่าสัตว์น้ำที่เติบโตเจริญวัยแล้ว โดยสารอาหารโปรตีนนั้น สัตว์น้ำจะได้รับจากอาหาร ทั้งอาหารธรรมชาติ และอาหารสำเร็จรูป อาหารนับเป็นปัจจัยสำคัญ เนื่องจากต้นทุนการเลี้ยงปลาตกประมาณร้อยละ 60–70 ของต้นทุนทั้งหมดเป็นค่าอาหาร การลดต้นทุนค่าอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จึงเป็นแนวทางที่ดีในการช่วยลดต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำได้ ซึ่งวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนของอาหารสำเร็จรูปนั้นมาจากหลายแหล่งที่มา เช่น แหล่งโปรตีนจากพืชมาจากกากถั่วเหลือง แหล่งโปรตีนจากสัตว์มาจากปลาปน และวัตถุดิบทางเลือก เช่น แกลบกุ้ง และขนไก่ปน เป็นต้น (Vorachantra and Sitthigripong, 1996)

เปลือกกุ้งและกระดูกปลาที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากครัวเรือน ร้านอาหาร หรือร้านหมูกระทะ ทะเลเผาที่มีการเปิดบริการอยู่เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในย่านธุรกิจหรือบริเวณใกล้เคียงกับสถานศึกษา รวมถึงเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตของผู้ประกอบการและโรงงานแปรรูปอุตสาหกรรมอาหารทะเลและสัตว์น้ำ เป็นเศษเหลือทิ้งที่มีสารอาหารที่มีประโยชน์ที่สำคัญทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และเอนไซม์ (Garnjanagoonchorn and Trevanich, 2015)

เปลือกกุ้งเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง มีความผันแปรของปริมาณโปรตีนมากเนื่องจากไนโตรเจนที่อยู่ในโครงสร้างของไคตินที่เปลือกกุ้งจะถูกคำนวณเป็นส่วนของโปรตีน ทำให้เศษเหลือทิ้งกุ้งมีค่าโปรตีนสูง นอกจากนี้ เปลือกกุ้งมีความแข็งแรงจากการที่มีสารไคตินและไคโตซานเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติ ความสามารถในการละลายได้ไม่ดีนัก จึงเป็นการยากที่จะนำมาใช้ในอาหาร ต้องนำไปผ่านกระบวนการไฮโดรไลต์ไคโตซานด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ของไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง จะช่วยให้ไคโตซานสามารถละลายได้ดีขึ้น (Kim and Rajapakse, 2005)

กระดูกปลาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอาเศษกระดูกปลาที่คนไม่บริโภคแล้วนำมาผ่านกระบวนการต้มหรือหนึ่งสัปดาห์ไขมันออก แล้วทำให้แห้งและบดให้ละเอียด ก่อนนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ จากรายงานของ Jodnak (2012) ที่ได้ศึกษากิจกรรมทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกระดูกปลานิล และผลต่อเซลล์สร้างกระดูก พบว่า องค์ประกอบหลักของกระดูกปลานิล คือ แกลบและโปรตีน ในปริมาณร้อยละ 60.82 และ 24.43 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

เอนไซม์ปาเปน (Papain) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม hydrolase ซึ่งจะย่อยสลายพันธะเพปไทด์ สามารถตัดพันธะเพปไทด์ได้หลายตำแหน่ง โดยเอนไซม์จะย่อยพันธะเพปไทด์ที่เชื่อมต่อกับกรดอะมิโน ทำให้ได้ขนาดโมเลกุลของเพปไทด์และกรดอะมิโนอิสระที่มีความแตกต่างกัน (Clemente, 2000) มีความคงตัวดีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือ 6–7 และสามารถพบได้มากในผลและส่วนอื่น ๆ ของมะละกอ นอกจากนี้ พบว่ามีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหาร โดยเฉพาะในการทำเบียร์ เพื่อช่วยเพิ่มความใสในกระบวนการตกตะกอน และใช้หมักเนื้อเพื่อทำให้เนื้อนุ่ม (Rao *et al.*, 1998) ขณะที่ เอนไซม์บรอมีเลน (Bromelain) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยโปรตีน (Proteolytic

enzyme) ที่จัดอยู่ในกลุ่ม sulfhydryl protease สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยโปรตีน เพปไทด์ และเอสเทอร์ของกรดอะมิโนและเพปไทด์ เช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปนจากมะละกอ แต่มีตำแหน่งจำเพาะในการย่อยแตกต่างกัน ซึ่งเอนไซม์บรอมิเลนจะเข้าย่อยพันธะเพปไทด์ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนไลซีน อะลานีน ไทโรซีน และไกลซีน เอนไซม์บรอมิเลนสามารถพบได้ทุกส่วนของสับปะรดทั้ง ใบ ลำต้น แกนของผล หรือผล แต่จะพบมากที่สุดที่แกนลำต้น และเหง้า อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ 40–60 องศาเซลเซียส และที่ pH 4.0–8.0 (Rao *et al.*, 1998)

ปลาตุ๊กถูกผสมหรือปลาตุ๊กปักอยู่เป็นปลาที่นิยมเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคกันมากในประเทศไทย ซึ่งในระหว่างกระบวนการแปรรูปปลาทำให้เกิดเศษเหลือส่วนหัวและหนังเป็นจำนวนมาก (ร้อยละ 24) เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเหลือดังกล่าว Suwannaphan *et al.* (2018) จึงได้ศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษเหลือส่วนหัวและหนังของปลาตุ๊กด้วยเอนไซม์จากพืช 2 ชนิด คือ เอนไซม์ปาเปน (P) และบรอมิเลน (B) ในอัตราส่วน P30:B70, P50:B50 และ P70:B30 พบว่า P30:B70 มีระดับการย่อยสลายสูงสุด (ร้อยละ 63.32) และรายงานของ Kuakaew *et al.* (2012) ที่ได้ศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษทิ้งกุ้งเป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารสำเร็จรูปของกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* โดยการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากการหมักเศษทิ้งกุ้งด้วยจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ 541 ที่เลี้ยงด้วยน้ำสับปะรดสำหรับทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารกุ้งขาวที่ระดับร้อยละ 0, 10, 20 และ 30 การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษทิ้งกุ้งที่ระดับร้อยละ 30 สามารถลดการใช้ปลาป่นได้สูงสุด ทั้งยังส่งเสริมการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดชีวิต และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน แต่ถ้ามองในด้านการเพิ่มขึ้นของต้นทุนอาหารที่เกิดจากการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้น การทดแทนปลาป่นที่ระดับร้อยละ 10 ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเศษ

ทิ้งกุ้งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมทั้งในด้านการลดการใช้ปลาป่น การส่งเสริมการเจริญเติบโต และการดึงดูดการกินอาหาร

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น ทำให้ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงการนำเศษเหลือจากครัวเรือน ร้านอาหาร หรือจากอุตสาหกรรมแปรรูปต่าง ๆ มาเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ โดยนำมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์บรอมิเลน และเอนไซม์ปาเปน เพื่อลดขนาดโมเลกุล ให้สัตว์น้ำสามารถย่อยและดูดซึมได้ดียิ่งขึ้น จนได้เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต แล้วนำไปพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาตุ๊กถูกผสมต่อไป เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรอาหารสัตว์น้ำ และใช้ประโยชน์จากเศษเหลือให้กลายเป็นมูลค่า ช่วยลดต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

อนุบาลพันธุ์ปลาตุ๊กถูกผสมในถังพลาสติกขนาด 700 ลิตร ก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น เวลา 08.00 น. และ 16.00 น. จากนั้น คัดลูกพันธุ์ปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 7.0 ± 0.5 กรัมต่อตัว เลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 700 ลิตร พร้อมสายยางท่อลมต่อกับหัวทรายเป็นเครื่องเติมอากาศสำหรับทุกถัง จำนวน 12 ถัง แต่ละถังใส่ลูกพันธุ์ปลาตุ๊กถูกผสมจำนวน 30 ตัว ใช้ลูกพันธุ์ปลาทั้งสิ้น 360 ตัว

เอนไซม์ที่ใช้ในการศึกษา

เอนไซม์ที่นำมาใช้ในการศึกษา ได้แก่ เอนไซม์บรอมิเลน และเอนไซม์ปาเปน ซึ่งเป็นเอนไซม์สกัด มีลักษณะเป็นผง บรรจุอยู่ในขวดแก้วสีชา ที่เก็บรักษาสภาพในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเตรียมอาหารทดลอง

นำเปลือกกุ้งและกระดูกปลาที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากครัวเรือน ร้านอาหาร หรือร้านหมูกระทะ ทะเลเผา ที่มีการเปิดบริการอยู่เป็นจำนวนมากในย่านธุรกิจหรือ

บริเวณใกล้เคียงกับสถานศึกษา มาต้มในน้ำเดือด นาน 20 นาที นำไปบดให้ละเอียด หลังจากนั้นนำมาผสมกับ น้ำในสัดส่วน 1:1 (วัตถุดิบต่อน้ำ) เติมน้ำมันบรอมิเลน สกัดร้อยละ 1.5 แซ่ทิ้งไว้เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ ห้อง จากนั้น หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำ สารละลายที่ได้มารอง นำส่วนสารละลายโปรตีน ไฮโดรไลเซทที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน (ในรูปแบบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด) โดยวิธี In-house method ตามขั้นตอนของเครื่อง Kjeltac Auto 1035/38 Sampler Systems (Tecator, Sweden) และ Method 2001.11 ของ AOAC (2012) ไขมัน โดยวิธี In-house method (Method 2003.05) แคลเซียม โดยวิธี In-house method (Method 927.02) และฟอสฟอรัส โดยวิธี In-house method (Method 965.17) ของ AOAC (2012) เมื่อได้ค่าองค์ประกอบทางเคมีข้างต้นแล้ว นำ

ไปคำนวณสร้างสูตรอาหารปลาดุกกลุ่มผสม ทำเช่น เดียวกันนี้ โดยเปลี่ยนจากการเติมเอนไซม์บรอมิเลน เป็นเอนไซม์ปาเปน สูตรอาหารทดลองมีการเสริมโปรตีน ไฮโดรไลเซทจากเปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปนที่ ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์บรอมิเลนและเอนไซม์ปาเปน ในปริมาณร้อยละ 5 ของโปรตีนรวมในสูตรอาหาร โดย สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาดุกกลุ่มผสมนี้ มีโปรตีนรวม เท่ากับร้อยละ 30 นำวัตถุดิบทั้งหมดในสูตรอาหารที่ ผ่านการบดละเอียดมาชั่งน้ำหนักตามสัดส่วนในสูตร โดยที่ ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลเซทในสูตรอาหารคำนวณ จากค่าโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ นำไปคำนวณปริมาณ โปรตีนรวมในสูตรอาหาร จนได้โปรตีนรวมในสูตร อาหารที่เท่ากันทุกสูตร (Table 1) ผสมให้เข้ากัน และ นำเข้าเครื่อง mincer เพื่อขึ้นรูปอัดเม็ด ณ วิชาเอกการ ประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยี อุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จังหวัด เพชรบูรณ์

Table 1 Experimental diets

Ingredients (kg)	Experimental diets			
	A1B1	A2B1	A1B2	A2B2
Broken rice	22.00	22.00	22.00	22.00
Rice bran	26.00	26.00	26.00	26.00
Fish meal (60%)	15.00	15.00	15.00	15.00
Soybean meal (44%)	33.50	33.50	33.50	33.50
Soybean oil	3.50	3.50	3.50	3.50
Total (kg)	100.00	100.00	100.00	100.00
Protein hydrolysate (L)	0.48	1.50	0.56	1.50

A1B1 = supplemental protein hydrolysate diet from shrimp shell meal digested by bromelain enzyme, A2B1 = supplemental protein hydrolysate diet from fish bone meal digested by bromelain enzyme, A1B2 = supplemental protein hydrolysate diet from shrimp shell meal digested by papain enzyme, A2B2 = supplemental protein hydrolysate diet from fish bone meal digested by papain enzyme, Protein hydrolysate = supplemental liquid protein hydrolysate on top in the mixer before pellet.

การทดลอง

ศึกษาการเจริญเติบโตของปลาตุ๊กตากลูผสมที่ได้ รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเปลือกกุ้งปน และกระดูกปลาปนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์บรอมี เลนและเอนไซม์ปาเปน โดยวางแผนการทดลองแบบ 2×2 แฟกทอเรียลในแผนแบบการทดลองสุ่มสมบูรณ์ (2×2 factorial in completely randomized design) จำนวน 3 ซ้ำ มีปัจจัยในการศึกษา 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัย A คือ วัตถุดิบอาหารสัตว์ ประกอบด้วย A1: เปลือกกุ้งปน และ A2: กระดูกปลาปน ส่วนปัจจัย B คือ เอนไซม์สกัด ประกอบด้วย B1: เอนไซม์บรอมีเลน และ B2: เอนไซม์ปาเปน มีจำนวนหมู่ทรีตเมนต์ (Treatment combination) ทั้งหมด 4 หมู่ทรีตเมนต์ ได้แก่ อาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเปลือกกุ้งปน ที่ย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน (A1B1) อาหารเสริมโปรตีน ไฮโดรไลเซตจากกระดูกปลาปนที่ย่อยด้วยเอนไซม์ บรอมีเลน (A2B1) อาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซต จากเปลือกกุ้งปนที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน (A1B2) และอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกระดูกปลาปน ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน (A2B2) ให้อาหารปลาตุ๊กใน ปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหนักตัวต่อวัน แบ่งให้วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น เวลา 08.00 น. และ 16.00 น. เปลี่ยน

ถ่ายน้ำทุก 3 วัน โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตราร้อยละ 30 ของถัง ตรวจวัดคุณภาพน้ำพร้อมกับการชั่งน้ำหนักปลา เพื่อปรับปริมาณอาหาร โดยตรวจวัดค่าปริมาณ ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen, DO) และค่าอุณหภูมิของน้ำด้วยเครื่อง DO meter ของ Horiba รุ่น DO210 ส่วนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำ (pH) วัดด้วยเครื่อง pH meter ของ APERA รุ่น PH20 Value Pocket pH Tester Kit ชั่งน้ำหนักปลาทั้งหมด ในแต่ละหน่วยทดลอง ทุก 2 สัปดาห์ และปริมาณ อาหารที่กินเป็นเวลา 2 เดือน

การบันทึกข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของปลาตุ๊กตากลูผสม ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกปริมาณอาหาร ที่กิน และนับจำนวนปลาที่รอดชีวิตเมื่อสิ้นสุดการ ทดลอง จากนั้น นำมาคำนวณน้ำหนักสุดท้าย (Final weight, กรัมต่อตัว) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, กรัมต่อตัว) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Daily weight gain, กรัมต่อตัวต่อวัน) ปริมาณอาหารที่กิน (Feed intake, กรัมต่อตัวต่อวัน) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น เนื้อ (Feed conversion ratio) และอัตราการรอดชีวิต (Survival rate, ร้อยละ) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น} = \text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}$$

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาในการทดลอง}}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กิน} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{ระยะเวลาในการทดลอง}}$$

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{อัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ผลทางสถิติสำเร็จรูป

การศึกษาต้นทุนการผลิตอาหารปลาดุกลูกผสม

ต้นทุนค่าอาหารผสมสำเร็จสำหรับทดลองเลี้ยงปลาดุกลูกผสมคำนวณจากราคาของวัตถุดิบแต่ละ

ชนิด ได้แก่ ปลาปน กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลาขี้ขาว น้ำมันพืช และเอนไซม์สกัด คุณด้วยปริมาณของแต่ละวัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาหาร 1 กิโลกรัม จากนั้น นำสัดส่วนของวัตถุดิบอาหารแต่ละสูตรและราคาของวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดมาคำนวณราคาของอาหารแต่ละสูตร และต้นทุนค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม ตามสูตรการคำนวณ (Karaket *et al.*, 2022) โดยคิดคำนวณเช่นเดียวกันทั้ง 4 สูตรอาหารทดลอง แล้วเปรียบเทียบต้นทุนที่ได้

$$\text{ราคาอาหาร (บาทต่อกิโลกรัม)} = \frac{\text{ราคาวัตถุดิบอาหาร}}{\text{ปริมาณวัตถุดิบในสูตรอาหาร}}$$

$$\begin{aligned} &\text{ค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม} \\ &(\text{บาทต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม}) = \frac{(\text{ราคาอาหาร} / \text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด})}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}} \times 1,000 \end{aligned}$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบของเอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปน

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางประการของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการย่อยเปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปนด้วยเอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปน (Figure 1) ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ประสิทธิภาพการย่อยเปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปนของเอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปนมีประสิทธิภาพในการย่อยที่ไม่แตกต่างกัน สามารถย่อยได้ทั้งเปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปน โดยในเปลือกกุ้งปนมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สะท้อนถึงปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณแคลเซียม และปริมาณฟอสฟอรัสสูงกว่าในกระดูกปลาปน ในเปลือกกุ้งมีปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสสูงกว่าในกระดูกปลาปน เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์ที่มีเปลือกหุ้ม ซึ่งองค์ประกอบสำคัญในการสร้างเปลือกคือแคลเซียมและฟอสฟอรัส และยังสามารถใช้เอนไซม์ทั้ง

2 ชนิดนี้ช่วยย่อยวัตถุดิบให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง และปลดปล่อยโภชนะให้ร่างกายของสัตว์น้ำสามารถย่อยและดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Mahata *et al.* (2008) ที่พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งประกอบด้วย โปรตีน เถ้า เยื่อใย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และโคตินในสัดส่วนร้อยละ 24.03, 25.60, 26.89, 16.69, 0.85 และ 18.70 ที่ให้พลังงาน 938 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม สอดคล้องกับรายงานของ Ingweye *et al.* (2008) ที่พบว่า เปลือกกุ้งประกอบด้วยโปรตีน เถ้า และเยื่อใยในสัดส่วนร้อยละ 48.30, 17.55 และ 13.30 ตามลำดับ ที่ให้พลังงาน 2,595 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ซึ่งเห็นได้ว่า องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งมีค่าผันแปรค่อนข้างมากตามแหล่งข้อมูลที่แตกต่างกัน โดยองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้งที่แตกต่างกันนั้น ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ แหล่งที่มา สายพันธุ์กุ้ง และวิธีการแปรรูป โดยกุ้งสายพันธุ์ใหญ่จะมีระดับโปรตีนสูงกว่า (Meyers *et al.*, 1973; Ngoan *et al.*, 2000) ส่วน Jodnak (2012) ได้ศึกษากิจกรรมทางชีวภาพของโปรตีน

ไฮโดรไลเซทจากกระดูกปลานิลและผลต่อเซลล์สร้างกระดูก พบว่า องค์ประกอบหลักของกระดูกปลานิลคือ เกล็ดและโปรตีนในปริมาณร้อยละ 60.82 และ 24.43 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยกระดูกปลานิลมีเถ้าเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงที่สุด รองลงมาคือ โปรตีน ความชื้น และไขมัน (Faivishevskii *et al.*, 1992) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วกระดูกปลาที่มีโปรตีนประมาณร้อยละ 13.6–22.9 และมีแร่ธาตุประมาณร้อยละ 55–65 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบสูงสุด รองลงมาคือ ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุอื่น เช่น แมกนีเซียม เหล็ก และโซเดียม เป็นต้น จากการศึกษารายการประกอบทางเคมีในกระดูกของปลานิล

พบว่า มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 31.52 (Vignesh and Srinivasan, 2012) สำหรับองค์ประกอบทางเคมีในกระดูกของปลาชนิดอื่น เช่น กระดูกปลาเกะพง (Suwan, 2002) พบว่า มีโปรตีน เถ้า ความชื้น และไขมัน ร้อยละ 20.50, 44.80, 28.60 และ 5.78 ของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ หรือในกระดูกปลาคอดที่มีรายงานว่ามีโปรตีน เถ้า ความชื้น และไขมัน ร้อยละ 35.70, 52.60, 7.70 และ 1.40 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และกระดูกปลาแซลมอน (Toppe *et al.*, 2007) มีโปรตีน เถ้า ความชื้น และไขมัน ร้อยละ 29.20, 26.30, 5.00 และ 38.1 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Table 2 Chemical constituents of protein hydrolysates from shrimp shell meal and fish bone meal digested by bromelain enzyme

Sample	Total nitrogen content (%)	Lipid (%)	Calcium (mg/100g)	Phosphorus (mg/100g)
Protein hydrolysate derived from digest shrimp shell meal by bromelain enzyme	0.31	0.22	33.38	11.40
Protein hydrolysate derived from digest fish bone meal by bromelain enzyme	0.10	0.11	21.76	5.28
Protein hydrolysate derived from digest shrimp shell meal by papain enzyme	0.27	0.09	36.70	7.84
Protein hydrolysate derived from digest fish bone meal by papain enzyme	0.10	0.07	16.44	2.32



Figure 1 Protein hydrolysates derived from shrimp shell meal digested by bromelain enzyme (A), fish bone meal digested by bromelain enzyme (B), shrimp shell meal digested by papain enzyme (C), and fish bone meal digested by papain enzyme (D)

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสม

การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมจากการพัฒนาสูตรอาหารปลาดุกลูกผสมจากเปลือกกุ้งและกระดูกปลาย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปน โดยการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้มาเป็นวัตถุดิบเสริมในสูตรอาหารเพื่อช่วยลดต้นทุน ลดปริมาณเศษเหลือทิ้งในธรรมชาติ เมื่อนำไปทดลองเลี้ยงปลาดุกลูกผสมเป็นเวลา 2 เดือน ได้ผลการเจริญเติบโตของปลา ดังนี้ น้ำหนักสุดท้ายเท่ากับ 12.23 ± 2.06 , 16.50 ± 1.41 , 14.45 ± 0.47 และ

13.37 ± 2.03 กรัมต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 5.06 ± 2.05 , 9.31 ± 1.47 , 7.26 ± 0.40 และ 6.19 ± 2.12 กรัมต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันเท่ากับ 0.09 ± 0.04 , 0.17 ± 0.03 , 0.13 ± 0.01 และ 0.11 ± 0.04 กรัมต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 0.40 ± 0.01 , 0.45 ± 0.02 , 0.44 ± 0.05 และ 0.42 ± 0.06 กรัมต่อตัวต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 5.04 ± 2.44 , 2.74 ± 0.40 , 3.37 ± 0.24 และ 4.05 ± 1.05 และอัตราการรอดชีวิตของปลาดุกลูกผสมเท่ากับ ร้อยละ 74.44 ± 5.39 , 83.33 ± 0.00 , 84.44 ± 5.09

และ 83.33 ± 8.82 ตามลำดับชุดการทดลอง (A1B1, A2B1, A1B2 และ A2B2) เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่า วัดฤดูบ (เปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปน) กับเอนไซม์ (บรอมมีเลนและปาเปน) มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการใช้เอนไซม์บรอมมีเลนย่อยกระดูกปลาปน เมื่อนำไปเสริมในอาหารส่งผลให้ปลาตุ๊กถูกผสมมีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันดี

กว่าการใช้เอนไซม์บรอมมีเลนย่อยเปลือกกุ้งปน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนค่าอื่น ๆ ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดชีวิตของปลา พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างวัดฤดูบ (เปลือกกุ้งปนและกระดูกปลาปน) กับเอนไซม์ (บรอมมีเลนและปาเปน) ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 3 และ Figures 2–4

Table 3 Growth performance of hybrid catfish

Parameters	Experimental diets				P-value
	A1B1	A2B1	A1B2	A2B2	
Initial weight (g/fish)	7.18 ± 0.10	7.19 ± 0.07	7.20 ± 0.07	7.18 ± 0.10	0.990
Final weight (g/fish)	12.23 ± 2.06^b	16.50 ± 1.41^a	14.45 ± 0.47^{ab}	13.37 ± 2.03^{ab}	0.021
Weight gain (g/fish)	5.06 ± 2.05^b	9.31 ± 1.47^a	7.26 ± 0.40^{ab}	6.19 ± 2.12^{ab}	0.024
Daily weight gain (g/fish/day)	0.09 ± 0.04^b	0.17 ± 0.03^a	0.13 ± 0.01^{ab}	0.11 ± 0.04^{ab}	0.023
Feed intake (g/fish/day)	0.40 ± 0.01	0.45 ± 0.02	0.44 ± 0.05	0.42 ± 0.06	0.192
Feed conversion ratio	5.04 ± 2.44	2.74 ± 0.40	3.37 ± 0.24	4.05 ± 1.05	0.091
Survival rate (%)	74.44 ± 5.39	83.33 ± 0.00	84.44 ± 5.09	83.33 ± 8.82	0.376

^{a, b} Means with different superscripts within the same row differ significantly at $P < 0.05$. A1B1 = protein hydrolysate derived from shrimp shell meal digested by bromelain enzyme, A2B1 = protein hydrolysate derived from fish bone meal digested by bromelain enzyme, A1B2 = protein hydrolysate derived from shrimp shell meal digested by papain enzyme, A2B2 = protein hydrolysate derived from fish bone meal digested by papain enzyme.

เนื่องจากเอนไซม์บรอมมีเลนสามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนได้ ในปัจจุบันความต้องการเอนไซม์บรอมมีเลนจึงเพิ่มสูงขึ้นและมีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์บรอมมีเลนทำให้เนื้อนุ่ม ใช้ในการผลิตเบียร์ และยังช่วยในการเร่งกระบวนการหมักน้ำปลาไส้ตัน เป็นต้น (Kingkaew, 2020) เปลือกกุ้งเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง มีความผันแปรของปริมาณโปรตีนมาก เนื่องจากไนโตรเจนที่อยู่ในโครงสร้างของโคตินที่เปลือกกุ้งจะถูกคำนวณเป็นส่วนของโปรตีน ทำให้เศษเหลือทิ้งกุ้งมีค่า

โปรตีนสูง นอกจากนี้ เปลือกกุ้งมีความแข็งแรงจากการที่มีสารโคตินและโคโตซานเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติ ความสามารถในการละลายได้ไม่ดัดนัก หรือหากละลายได้ อาจมีสารอื่นนอกเหนือจากโปรตีนถูกย่อยออกมาด้วย จึงเป็นการยากที่จะนำมาใช้ในอาหาร ต้องนำไปผ่านกระบวนการไฮโดรไลต์โคโตซานด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อให้ได้โพลิไกลูตาไมด์ของโคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง จะช่วยให้โคโตซานสามารถละลายได้ดีขึ้น (Kim and Rajapakse, 2005) ส่งผลดีต่อการย่อยได้ของสัตว์น้ำ

ทั้งนี้ วิธีการไฮโดรไลต์ไคโตซานด้วยเอนไซม์ ถือเป็นการสกัดไคตินและไคโตซานทางชีวภาพ ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้เวลาในการสกัดค่อนข้างนานและมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการสกัดหรือไฮโดรไลต์โปรตีนด้วยกรดหรือต่าง แต่จะให้ไคตินและไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีโครงสร้างที่แน่นอน มีความบริสุทธิ์ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีความปลอดภัยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดทางเคมี จากงานวิจัยของ Younes *et al.* (2014) ที่สกัดไคตินจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึกด้วยเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus mojavensis* A21 ในการย่อยโปรตีนที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรท 0, 1, 5 และ 10 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 9.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรทที่ 10 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ให้ร้อยละการสลายโปรตีนของเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก เท่ากับ 70, 89 และ 94 ตามลำดับ จากนั้น นำไคตินที่สกัดได้ไปหาลักษณะของไคตินด้วยเทคนิค Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) พบว่า ไคตินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งและเปลือกปูมีลักษณะเป็น α -chitin ส่วนไคตินที่สกัดได้จากแกนหมึกมีลักษณะเป็น β -chitin และการศึกษาของ Younes *et al.* (2012) ที่เตรียมไคตินและไคโตซานจากเปลือกกุ้งโดยใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ เอนไซม์บรอมีเลน และเอนไซม์อะคาเลสในการกำจัดโปรตีน พบว่า ส่วนสกัดหยาบของโปรตีนจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ นำมาใช้ในการสกัดไคตินจากเปลือกกุ้งในสภาวะที่เหมาะสม คือ อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสับสเตรท 7.75 ยูนิตต่อมิลลิกรัม อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และระยะเวลาบ่ม 6 ชั่วโมง สามารถกำจัดโปรตีนที่ได้ร้อยละ 88 ± 5 จากนั้น นำมาเข้าสู่กระบวนการดองแร่ธาตุ เพื่อให้ได้ไคตินและเปลี่ยนไปเป็นไคโตซานโดยกระบวนการดองหมักและตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ พบว่า ไคโตซานที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต

ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ จะเห็นได้ว่า ต้องใช้ระยะเวลาในการแช่หรือบ่มให้เอนไซม์ทำการไฮโดรไลต์โปรตีนค่อนข้างนาน ซึ่งการทดลองในครั้งนี้ใช้เวลาในการแช่เปลือกกุ้งปนในเอนไซม์บรอมีเลนเป็นระยะเวลา 60 นาที ทำให้ประสิทธิภาพการย่อย การใช้ประโยชน์ได้จากเปลือกกุ้งปนยังละลายตัวออกมาได้น้อย ส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ไม่ดีเท่าที่ควรของปลาตกกลุ่มผสม

นอกจากนี้ กระดุกปลาปนมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง แม้จะมีกรดอะมิโนชนิดเมไทโอนีน ซีสทีน และทรีโตนีนต่ำ แต่มีปริมาณไลซีนสูง ซึ่งการทำงานของเอนไซม์บรอมีเลนจะมีตำแหน่งจำเพาะในการย่อยแตกต่างจากเอนไซม์ปาเปน โดยเอนไซม์บรอมีเลนจะเข้าย่อยพันธะเพปไทด์ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนไลซีน อะลานีน ไทโรซีน และไกลซีน (Rao *et al.*, 1998) เมื่อกระดุกปลาปนมีปริมาณของกรดอะมิโนไลซีนสูง จึงส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์บรอมีเลนได้เป็นอย่างดี ทำให้ปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมกระดุกปลาปนที่ย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมเปลือกกุ้งปนที่ย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน ที่ต้องอาศัยระยะเวลาในการย่อยที่นานกว่า และมีปริมาณไลซีนต่ำกว่า ดังนั้น การเติบโตของปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือทิ้งกุ้งและกระดุกปลาปนย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน แม้ว่าให้การเติบโตต่ำกว่าปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกระดุกปลาปนย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน แต่ให้การเติบโตดีกว่าปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือทิ้งกุ้งย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน เอนไซม์บรอมีเลนมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากเศษเหลือทิ้งกุ้งได้ดี เอนไซม์ปาเปนอาจมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนและสารอาหารอื่นจากวัตถุดิบได้หลากหลายจึงให้การเติบโตดีทั้งปลาตกกลุ่มผสมที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเศษเหลือทิ้งกุ้งและกระดุกปลา

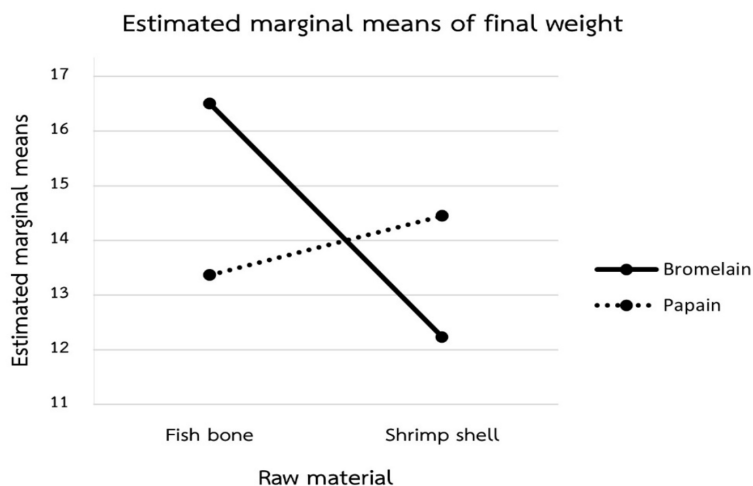


Figure 2 Interaction effect between raw material and enzyme on final weight

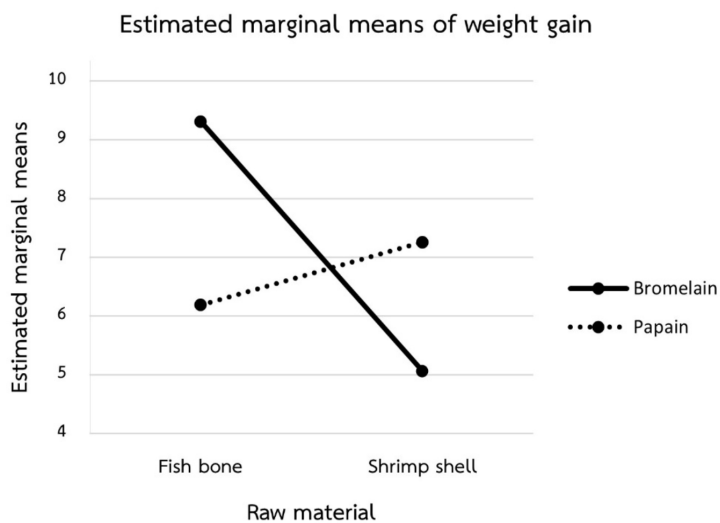


Figure 3 Interaction effect between raw material and enzyme on weight gain

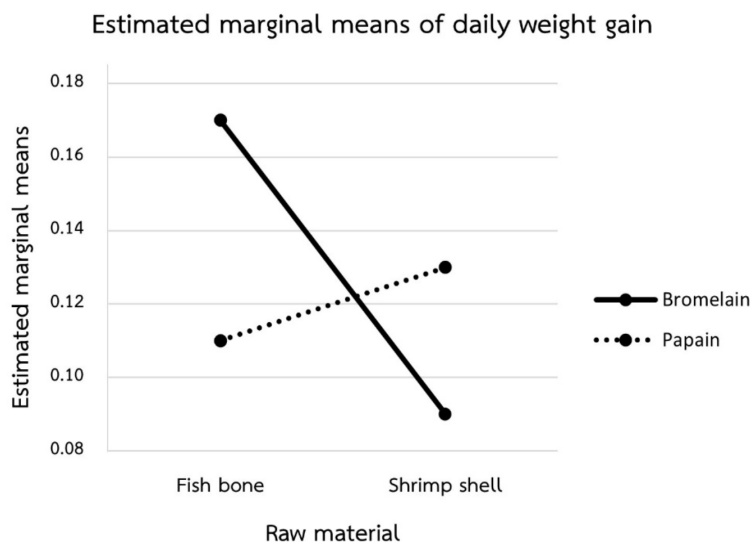


Figure 4 Interaction effect between raw material and enzyme on daily weight gain

ต้นทุนการผลิตอาหารปลาจากส่วนผสม

จากการศึกษาต้นทุนค่าอาหารปลาจากส่วนผสมเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการนำเปลือกกุ้งและกระดูกปลา ซึ่งเป็นเศษเหลือทิ้งจากครัวเรือนหรือร้านอาหารมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนและเอนไซม์ปาเปนสกัด พบว่า ราคาอาหารทั้ง 4 สูตร เท่ากับ 15.23, 15.23, 14.24 และ 14.24 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับชุดการทดลอง (A1B1, A2B1, A1B2 และ A2B2) และต้นทุนการผลิตอาหารเท่ากับ 46.19 ± 7.31 , 31.53 ± 2.60 , 34.06 ± 4.97 และ 38.68 ± 6.97 บาทต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ตามลำดับชุดการทดลอง (A1B1, A2B1, A1B2 และ A2B2) ดัง Table 4 ซึ่งต้นทุนการผลิตอาหารเองขึ้นอยู่กับสถานการณ์ราคาของวัตถุดิบหลักในสูตรอาหาร การเลือกใช้วัตถุดิบท้องถิ่น เศษเหลือจากการแปรรูปทางภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม หรือเศษเหลือทิ้งในธรรมชาติมาเสริมในสูตรอาหารสัตว์น้ำ จะช่วยลดต้นทุนการผลิตอาหารได้ อีกประการหนึ่งคือการใช้เอนไซม์สกัดเพื่อย่อยโมเลกุลของวัตถุดิบให้มีขนาด

เล็กลง มีการดูดซึมและการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้นนั้น เอนไซม์สกัดที่ดี มีคุณภาพสูง มักมีราคาแพง อาจจะเป็นส่วนเพิ่มต้นทุนค่าอาหารได้ เช่น จากงานวิจัยของ Didgrew *et al.* (2008) ที่ได้ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ปาเปนในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่เนื้อ ที่พบว่า ต้นทุนในการเสริมเอนไซม์ปาเปนมีผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารสูงขึ้นตามระดับการเสริมเอนไซม์ ทั้งนี้ หากต้องการลดต้นทุนค่าอาหารให้ต่ำกว่านี้อาจเลือกใช้เอนไซม์จากส่วนประกอบของพืช เช่น แขนสับปะรด หรือเปลือกของผลไม้ละกอดิบ เป็นต้น ซึ่งการลดต้นทุนด้านอาหารลงได้ ถือว่าเป็นการลดต้นทุนในกระบวนการผลิตสัตว์น้ำได้อย่างมาก เนื่องจากต้นทุนค่าอาหารถือเป็นต้นทุนหลักในการผลิตคิดเป็นร้อยละ 70–80 ของต้นทุนการผลิตรวมทั้งหมด ซึ่งการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกระดูกปลาป่นย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนในอาหารปลาจากส่วนผสม ทำให้ได้ต้นทุนที่ต่ำกว่าอาหารสำเร็จรูปที่จำหน่ายโดยทั่วไปตามท้องตลาดที่มีราคาจำหน่ายอยู่ระหว่าง 28–32 บาทต่อกิโลกรัม

Table 4 Cost of experimental diets

Diets	Price (baht/kg)	Cost of diets (baht per 1 kg of fish weight)
A1B1	15.23	46.19 ± 7.31 ^a
A2B1	15.23	31.53 ± 2.60 ^b
A1B2	14.24	34.06 ± 4.97 ^{ab}
A2B2	14.24	38.68 ± 6.97 ^{ab}

A1B1 = protein hydrolysate derived from shrimp shell meal digested by bromelain enzyme, A2B1 = protein hydrolysate derived from fish bone meal digested by bromelain enzyme, A1B2 = protein hydrolysate derived from shrimp shell meal digested by papain enzyme, A2B2 = protein hydrolysate derived from fish bone meal digested by papain enzyme.

สรุป

ชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์มีอิทธิพลต่อเอนไซม์ที่นำมาย่อยวัตถุดิบ ส่งผลให้ปลาดุกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกระดูกปลาป่นย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน (A2B1) มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาดุกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเปลือกกุ้งป่นย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน (A1B1) ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงผลของการใช้ประโยชน์ได้จากกระดูกปลาป่นที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกกลุ่มผสม ในส่วนของปลาดุกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกระดูกปลาป่นย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน (A2B2) มีค่าการเจริญเติบโตใกล้เคียงปลาดุกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเปลือกกุ้งป่นย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลน นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีการทำงานที่แตกต่างกัน และองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ ส่วนต้นทุนค่าอาหาร พบว่า ต้นทุนของอาหารผสมสำเร็จที่มีการเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกระดูกปลาป่นย่อยด้วยเอนไซม์บรอมีเลนมีต้นทุนที่ต่ำกว่าราคาจำหน่ายอาหารเม็ดสำเร็จรูปทางการค้า ผลการ

ศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การเลือกใช้เอนไซม์ที่เหมาะสมกับชนิดของวัตถุดิบนอกจากจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการย่อยได้ของเอนไซม์ต่อวัตถุดิบนั้นแล้ว ยังส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารโดยมีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ และเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทิ้งมาใช้เป็นอาหารสัตว์ เพื่อลดต้นทุนค่าอาหารและเพิ่มมูลค่าในการเป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตอาหารสัตว์น้ำได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมที่ร่วมสนับสนุนทุนอุดหนุนงานวิจัย พัฒนาวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม งบประมาณผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.) ประจำปีงบประมาณ 2565 รหัสโครงการ 65A145000018 รวมทั้งขอขอบคุณวิชาเอกการประมง สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่อนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์สำหรับดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2012. Official Method of Analysis of AOAC International. 19th edition. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C., USA.
- Clemente, A. 2000. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. Trends Food Sci. Technol. 11(7): 254–262. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00007-3).
- Didgrew, A., P. Siriwan, N. Thongwittaya and W. Prokati. 2008. Effect of papain supplementation on productive performance in broilers. Journal of Agricultural Research and Extension 25(2): 17–23. (in Thai)
- Faivishevskii, M.L., T.N. Lisina, S.I. Khvyiya and T.G. Kuznctsova. 1992. Utilization of bone protein fractions. Myasnaya Promyshlennost. 2: 14–15.
- Garnjanagoonchorn, W. and S. Trevanich. 2015. Development of shrimp flavor seasoning from head scraps and shrimp shells. Available Source: <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=19331>, August 22, 2022. (in Thai)
- Ingweye, J.N., B.I. Okon, J.A. Ubua and A.I. Essien. 2008. Performance of broiler chickens fed fish and shrimp wastes. Asian J. Anim. Sci. 2(2): 58–63. <https://doi.org/10.3923/ajas.2008.58.63>.
- Jintasataporn, O. 2010. Aquatic animal feed (251371). Teaching Publications. Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. (in Thai)
- Jodnak, S. 2012. Biological Activity of Tilapia Bone Protein Hydrolysate and Its Effects on Osteoblasts. MS Thesis, Prince of Songkla University, Songkla. (in Thai)
- Karaket, T., M. Seel-audom and B. Yuangsoi. 2022. Partial replacement of fish meal with blood meal in diet on growth performance for nursing red tilapia (*Oreochromis spp.*). BUSCIJ. 27(2): 801–814. (in Thai)
- Kim, S.W. and N. Rajapakse. 2005. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): a review. Carbohydr. Polym. 62(4): 357–368. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.08.012>.
- Kingkaew, K. 2020. Bromelain: protein digestion enzymes from pineapple. TISTR. 35(2): 28–31. (in Thai)
- Kuakaew, J., P. Muangyao, P. Plaipetch, M. Prayunpun and S. Thongrod. 2012. Protein hydrolysate from shrimp waste as protein sources for fishmeal replacement in formulated feed for Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790). Technical Paper No. 15/2012. Department of Fisheries, Bangkok, Thailand. (in Thai).

- Mahata, M.E., A. Dharma, H.I. Ryanto and Y. Rizal. 2008. Effect of substituting shrimp waste hydrolysate of *Penaeus merguensis* for fish meal in broiler performance. Pak. J. Nutr. 7(6): 806–810. <https://doi.org/10.3923/pjn.2008.806.810>.
- Meyers, S.P., J.M. Rutledge and S.C. Sonu. 1973. Variability in proximate analysis of different processed shrimp meals. Feedstuffs. 45: 34–35.
- Ngoan, L.D., J.E. Lindberg, B. Ogle and S. Thomke. 2000. Anatomical proportions and chemical and amino acid composition of common shrimp species in central Vietnam. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 13(10): 1422–1428. <https://doi.org/10.5713/ajas.2000.1422>.
- Rao, M.B., A.M. Tanksale, M.S. Ghatge and W. Deshpande. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62(3): 597–635. <https://doi.org/10.1128/membr.62.3.597-635.1998>.
- Suwan, W. 2002. Production of Gelatin from Red Snapper Bones. MS Thesis, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Suwannaphan, S., S. Pacharean and P. Thongrak. 2018. Production of Protein Hydrolysates from Catfish Waste using Plant Enzymes. Research Report. Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Phra Nakhon Si Ayutthaya, Thailand. (in Thai)
- Toppe, J., S. Albrektsen, B. Hope and A. Aksnes. 2007. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 146(3): 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.11.020>.
- Vignesh, R. and M. Srinivasan. 2012. Nutritional quality of processed head and bone flours of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*, Peters 1852) from Parangipettai estuary, South East Coast of India. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2(1): S368–S372. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60189-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60189-0).
- Vorachantra, S. and R. Sitthigripong. 1996. Animal Nutrition. Odeon Store Press, Bangkok, Thailand. (in Thai)
- Younes, I., O. Ghorbel-Bellaaj, R. Nasri, M. Chaabouni, M. Rinaudo and M. Nasri. 2012. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization. Process Biochem. 47(12): 2032–2039. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.07.017>.
- Younes, I., S. Hajji, V. Frachet, M. Rinaudo, K. Jellouli and M. Nasri. 2014. Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan. Int. J. Biol. Macromol. 69: 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.013>.