

Received: May 3, 2021; Revised: July 4, 2021; Accepted: July 13, 2021

ประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรตของฟางข้าวหมักในปลาอุกผสม
In vitro carbohydrate digestibility of fermented rice straw in
hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* X *C. gariepinus*)

ศุภลักษณ์ เกตุตากแดด^{1*} นิตยา ภูงาม¹ กฤติมา กษมาวุฒิ¹ สุริยา อุดตัง¹กลวัชร หาญมานพ¹ และญานิศา สัตปานนท์¹Supalug Kattakdad^{1*}, Nittaya Phungam¹, Krittima Kasamawut¹, Suriya Udduang¹,Kolawat Hanmanop¹ and Yanisa Satapanont¹¹คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์ สุรินทร์

*Corresponding Author E-mail Address : supalug.ka@rmu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรตของฟางข้าวหมักในปลาอุกผสมในห้องปฏิบัติการ โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x5 แฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยหมักฟางข้าวในสภาวะไร้อากาศร่วมกับการกำหนดปัจจัย 2 ปัจจัย ประกอบด้วยปัจจัยที่ 1 คือระยะเวลาการหมักที่ 0, 24, 48 และ 62 ชั่วโมง ปัจจัยที่ 2 คือ สารช่วยหมัก โดยการเติมกากน้ำตาลที่ระดับ 0, 2, 4, 6 และ 8 % มีกลุ่มการทดลองทั้งหมด 20 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 6 ซ้ำ โดยนำตัวอย่างปลาอุกผสมน้ำหนักเฉลี่ย 161.54 ± 10.96 กรัมต่อตัว มาสกัดเอนไซม์จากลำไส้ พบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส 0.344 ± 0.043 Unit/mg protein และกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 0.020 ± 0.003 Unit/mg protein เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยฟางข้าวหมักตามชุดการทดลอง พบว่า ระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาในการหมักมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของน้ำตาลมอลโตส ($p \leq 0.05$) และยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาการหมักฟางข้าว ($p \leq 0.05$) ซึ่งเมื่อเติมกากน้ำตาลระดับต่างกัน 5 ระดับแต่ไม่มีการหมักฟางข้าวพบว่า ไม่มีผลต่อการย่อยได้คาร์โบไฮเดรตซึ่งปลาอุกผสมสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ 58.57-59.21 มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม ระดับที่เหมาะสมในการหมักฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ปลาอุกผสม คือ การเติมกากน้ำตาลที่ระดับ 2% ร่วมกับการหมักเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ โดยมีค่าเท่ากับ 77.28 ± 1.68 มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางปฏิบัติเพื่อเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์จากฟางข้าวในอาหารปลาอุกผสมได้

คำสำคัญ: ฟางข้าว การหมัก ประสิทธิภาพการย่อยได้ ปลาอุกผสม

Abstract

The study of In vitro carbohydrate digestibility of fermented rice straw in hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* X *C. gariepinus*) was designed in 4x5 factorial in Completely randomized design. Rice straw was fermented under anaerobic conditions with two determining factors: the incubation time at 0, 24, 48 and 62 hours and addition of molasses at 0, 2, 4, 6 and 8% with 20 treatment groups and 6 repetitions per treatment groups. Hybrid catfish (161.54±0.96 g) were extracted for digestive enzymes. The amylase specific activity was 0.344±0.043 Unit/mg protein and cellulase specific activity was 0.020±0.003 Unit/mg protein. In-vitro digestibility of carbohydrate was determined. It was found that molasses level and fermentation time had a significant influence on the carbohydrate digestibility ($p \leq 0.05$). The interaction between the molasses level and the fermentation time was also studied ($p \leq 0.05$). The addition of molasses at different levels without rice straw fermentation did not affect the carbohydrate digestibility. The hybrid catfish could digest carbohydrate 58.57-59.21 mg maltose/ g rice straw. The optimal level for fermentation of rice straw in improving the digestion efficiency of carbohydrate from hybrid catfish was considered to be the addition of 2% molasses with 24-hour fermentation by natural microorganisms. The value was 77.28±1.68 mg maltose/g rice straw; this could be used as a practical guideline to increase the value and utilization of rice straw in hybrid catfish feed.

Keywords: Rice straw, Fermentation, In vitro digestibility, Hybrid catfish

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยโดยในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณร้อยละ 20 ของพื้นที่ประเทศ เนื่องจากมีลักษณะภูมิประเทศและภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต หลังกระบวนการเก็บเกี่ยวข้าวก่อให้เกิดเศษเหลือทิ้งประเภทตอซังข้าวและฟางข้าวเฉลี่ยประมาณปีละ 42.33 ล้านตัน เกษตรกรจึงมักจัดการกับฟางข้าวและตอซังหลายวิธี เช่น ปล่อยทิ้งไว้กลางนา ไถกลบ เผาหลังการเก็บเกี่ยว ใช้เป็นเชื้อเพลิง ทำปุ๋ยหมักและนำไปเลี้ยงสัตว์ (พันธุ์ทิพย์ และปฐมพร, 2561) โดยในฟางข้าวประกอบไปด้วยโปรตีน 3.44% ไขมัน 1.88% เยื่อใย 37.48% ปริมาณเถ้า 12.30% และฟอสฟอรัส 0.11% ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีในฟางข้าวยังแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ข้าว อายุการเก็บเกี่ยวและพื้นที่การเพาะปลูก ฟางข้าวเป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้แต่ค่อนข้างช้าสัตว์ที่ย่อยและใช้ประโยชน์จากวัสดุเหล่านี้จึงมักเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีจุลินทรีย์ในกระเพาะช่วยย่อยสลายเยื่อใย (วิจิต, 2554; Zhao, 2019) สำหรับสัตว์น้ำสามารถย่อยและดูดซึมสารอาหารจากฟางข้าวได้น้อยเนื่องจากฟางข้าวมีปริมาณเยื่อใยสูง อีกทั้งลักษณะลำต้นกลวงและมีปริมาณแลคติกแบคทีเรียต่ำ ดังนั้นจึงต้องใช้แบคทีเรียจากภายนอกและสารตั้งต้นในกระบวนการหมักที่สามารถปรับปรุงคุณค่าสารอาหาร และเพิ่มประสิทธิภาพของสิ่งเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ให้สามารถใช้ประโยชน์ด้านอาหารสัตว์น้ำได้ โดยสารเสริมที่นิยมใช้ร่วมกับการหมักฟางข้าว เช่น มูลสัตว์ ตะกอนน้ำเสีย น้ำทิ้งจากฟาร์มปศุสัตว์ ยูเรีย กากน้ำตาล แบคทีเรียและเอนไซม์ เป็นต้น (วิจิต, 2554; Iranzo et al., 2004; Li et al., 2008; Xing et. al., 2009; Li et al., 2010; Qian et al., 2014; Jian et. al., 2017)

ปลาตุ๊กตากลม (Clarias macrocephalus X C. gariepinus) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับสองของประเทศไทยรองจากปลานิลทั้งเชิงผลผลิตและมูลค่า ในปี พ.ศ. 2560 มีการเพาะเลี้ยงปลาตุ๊กตาคิดเป็นร้อยละ 25.4 ของปลาน้ำจืดทุกชนิด หรือผลผลิต 105,100 ตัน คิดเป็นมูลค่า 5,126.6 ล้านบาท (กรมประมง, 2562) อีกทั้งยังกลายเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากสามารถเพาะขยายพันธุ์ได้ดี ลูกพันธุ์ที่ได้มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว มีความต้านทานต่อโรคและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี อีกทั้งยังสามารถกินอาหารได้ทุกชนิดทั้งพืชและสัตว์ จึงเป็นสาเหตุให้เลือกใช้ปลาตุ๊กตากลมในการศึกษาครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะการหมักฟางข้าวที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรตจากฟางข้าวด้วยเอนไซม์ในลำไส้ปลาตุ๊กตากลมในห้องปฏิบัติการ (In vitro digestibility) ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการเป็นวิธีการเบื้องต้นในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำได้

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมวัตถุดิบ

นำฟางข้าวสายพันธุ์ปากอำปิล จากพื้นที่การเพาะปลูกของเกษตรกร อำเภอกาบเชิง จังหวัดสุรินทร์ มาสับเป็นชิ้นขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยจัดกลุ่มการทดลองแบบ 4x5 แฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ (4x5 factorial in CRD) ปัจจัยที่ 1 คือ ระยะเวลาการหมักที่ 0, 24, 48 และ 62 ชั่วโมง ปัจจัยที่ 2 คือ สารช่วยหมัก โดยการเติมน้ำตาลที่ระดับ 0, 2, 4, 6 และ 8% ผสมกับฟางข้าวน้ำหนัก 1 กิโลกรัม จากนั้นบรรจุฟางข้าวลงในบรรจุภัณฑ์ปิดสนิท ใส่ภาชนะในถุงออกให้หมดแล้วปิดถุงให้สนิททำการหมักในสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic condition) หมักไว้ ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จำนวน 6 ชั่วโมงต่อกลุ่มการทดลอง

นำตัวอย่างที่ผ่านการหมักแล้วเข้าอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 36-48 ชั่วโมงจนแห้งสนิท หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่อบแห้งแล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ใส่ขวดแก้วเก็บตัวอย่างปิดฝาให้สนิทเพื่อนำไปวิเคราะห์หาการย่อยได้ของโภชนะ

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารและประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง

1) การเตรียมตัวอย่างเอนไซม์ นำตัวอย่างปลาตุ๊กตากลมน้ำหนักเฉลี่ย 161.54 ± 10.96 กรัมต่อตัว มาปรับสภาพก่อนเก็บตัวอย่าง โดยเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำ (โปรตีน 30%) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ จากนั้นให้อาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องและเก็บตัวอย่างลำไส้ทั้งหมด บดละเอียดด้วย Homogenizer ใน Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.5 ขณะที่แช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส แบ่งเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น Crude enzyme extracts สำหรับศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบในหลอดทดลอง

2) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ตามวิธีการของ Bernfeld (1995) โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสับสเตรต Starch solution ความเข้มข้น 1% ในบัฟเฟอร์ที่พีเอช 8 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที แล้วเติม Dinitrosalicylic acid (DNS) reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit/mg protein โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry (1951) โดยใช้ Bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

3) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Miller (1959) โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสับสเตรต Carboxyl methyl cellulose (CMC) ความเข้มข้น 1% ในบัฟเฟอร์ที่พีเอช 8 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที จากนั้นเติม Dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 250 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้

ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 นาโนเมตร ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit/mg protein โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry (1951) ใช้ Bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

4) การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของวัตถุดิบในหลอดทดลอง โดยการชั่งตัวอย่างฟางข้าวตัวอย่างละ 50 มิลลิกรัม เติม 50 มิลลิโมลาร์ Phosphate buffer พีเอช 8 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และคลอแรมเฟนิคอล ความเข้มข้น 0.5% ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นเติม Crude enzyme extracts ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน บ่มต่อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาโดยการนำสารละลายไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วดูดส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลมอลโตส

5) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลมอลโตส ตามวิธีการ Miller (1959) โดยนำสารละลายส่วนใสที่ไม่เติมเอนไซม์และสารละลายส่วนใสที่ผ่านการย่อยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DNS ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโตส

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพการย่อยได้ของฟางข้าว โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในลำไส้ปลาดุกลูกผสมน้ำหนัเฉลี่ย 161.54 ± 10.96 กรัมต่อตัว พบว่า ปลาดุกลูกผสมมีกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระดับ 0.344 ± 0.043 Unit/mg protein (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าปลาดุกลูกผสมมีความสามารถในการย่อยอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตได้ดีและมีค่าใกล้เคียงกับระดับกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตจากตับของปลากะพงขาว ซึ่งมีค่า 0.39 ± 0.03 Unit/mg protein (เจษฎา และคณะ, 2557) แต่มีค่าสูงกว่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในปลาสร้อยระยะโตเต็มวัย ซึ่งจากการศึกษาของ ศุภลักษณ์ และคณะ (2563) พบว่าปลาสร้อยระยะโตเต็มวัยขนาด 210 ± 8.5 กรัม มีค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสสูงสุดในตับซึ่งมีค่า 0.156 ± 0.10 Unit/mg protein โดยปลาดุกลูกผสมจัดเป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสามารถพบได้ในปลากินพืช (Herbivorous) และปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ และสามารถพบได้ตลอดช่วงชีวิต (Guillaume et al., 2001) เอนไซม์อะไมเลสจะถูกผลิตที่ตับ, ตับอ่อน และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งซึ่งอยู่ในรูปแป้งหรือไกลโคเจนให้เป็นน้ำตาลจำพวกมอลโตส รวมถึงการย่อยสลายน้ำตาลโมเลกุลคู่และโอลิโกแซ็กคาไรด์ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (De Silva and Anderson, 1995; Hidalgo et al., 1999; Halver and Hardy, 2002) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสมีความสัมพันธ์ในรูปแบบแปรผันกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ปลาได้รับจากวัตถุดิบหรือสูตรอาหาร (De Silva and Anderson, 1995; Gaxiola et al., 2005) และจากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสพบว่าปลาดุกลูกผสมมีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่ระดับ 0.020 ± 0.003 Unit/mg protein (ตารางที่ 1) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับเอนไซม์เซลลูเลสที่พบปลาสร้อยระยะตัวเต็มวัย (ศุภลักษณ์ และคณะ, 2563) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.026 ± 0.01 Unit/mg protein แต่มีค่าต่ำกว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่พบในตับของปลากะพงและกุ้งเครย์ปัสระยะ 15 วัน ถึง 3.5 และ 7.4 เท่า ตามลำดับ (เจษฎา และคณะ, 2557; Kattakdad et al., 2018) Das and

Tripathi (1991) พบว่าปลาฉลามสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่บริเวณตับและลำไส้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Fagbenro (1990) ซึ่งรายงานไว้ว่า ปลาตุ๊ก (*Clarias isheriensis*) ที่เลี้ยงในบ่อดิน โดยได้รับอาหารธรรมชาติจำพวกแพลงก์ตอนสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่อวัยวะส่วนตับไปจนถึงลำไส้ส่วนกลาง จากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นว่าปลาหลายชนิดมีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและคาร์โบไฮเดรตประเภทเยื่อใยได้ (Krogdahl et al., 2005) จากผลการศึกษาพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่พบในปลาตุ๊กถูกผสมมีค่าสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์อะไมเลสสามารถสร้างเองได้จากตับ ตับอ่อน และจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร ในขณะที่เอนไซม์เซลลูเลสมักถูกสร้างจากจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลาจึงทำให้มีปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่า (Halver and Hardy, 2002) สอดคล้องกับการศึกษาของรุ่งกานต์ (2559) และ Hlophe and Moyo (2013) ที่ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในทางเดินอาหารของปลานิลพบว่ามีความกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูงกว่าเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งเป็นข้อสังเกตว่าปลามีความสามารถในการย่อยอาหารประเภทพืชได้ดี

ตารางที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและเซลลูเลสในลำไส้ของปลาตุ๊กผสม

Enzyme specific activity	Unit/mg protein
Amylase	0.344±0.043
Cellulase	0.020±0.003

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

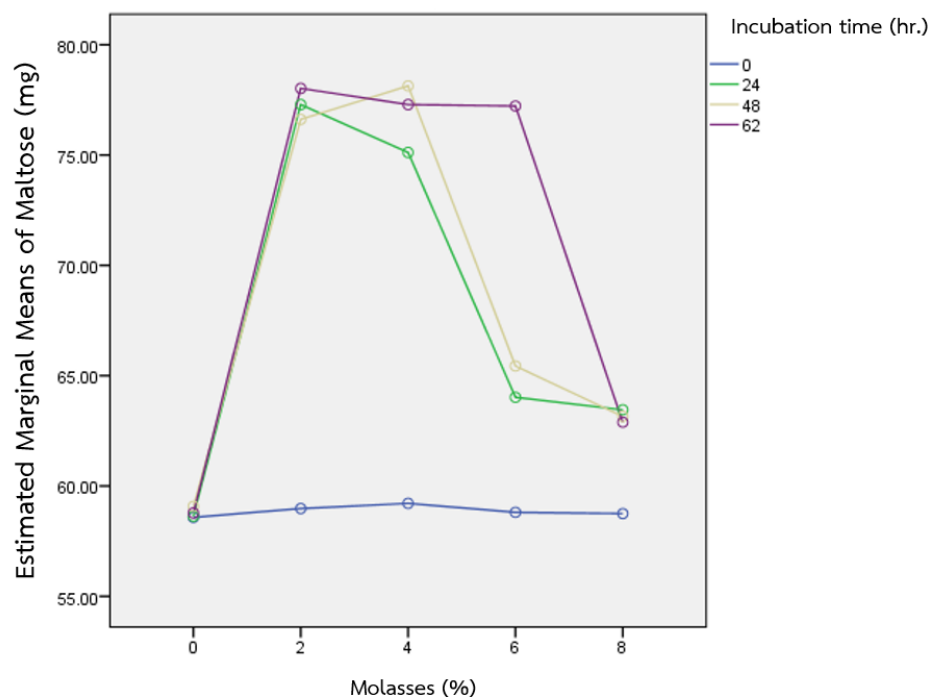
การศึกษาค้นคว้าของฟางข้าวหมักด้วยปัจจัยต่างกัน 2 ปัจจัย คือ ระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาในการหมักต่อประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรตจากเอนไซม์ในลำไส้ปลาตุ๊กผสม (ตารางที่ 2) พบว่า ระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาในการหมักมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตจากเอนไซม์ปลาตุ๊กผสม ($p \leq 0.05$) และพบอิทธิพลร่วมระหว่างระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาการหมักฟางข้าวต่อประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรต จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาในการหมักฟางข้าวมีอิทธิพลอย่างมากต่อการย่อยได้ของฟางข้าวจากน้ำย่อยปลาตุ๊กผสม จากรายงานของ ดนุวัต และคณะ (2552) พบว่ากากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งปริมาณกากน้ำตาลที่เสริมในกระบวนการหมักจะสามารถกระตุ้นการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น เพราะฉะนั้นการใช้กากน้ำตาลระดับที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญอย่างมาก นอกจากนี้ระยะเวลาในการหมักยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติด้วย

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตในฟางข้าวหมักจากเอนไซม์ปลาตุ๊กผสม

Source of variance	SS	df	MS	F	P-value
Molasses	3685.68	4	921.42	38.69	<0.001
Incubation time	2475.28	3	825.09	34.65	<0.001
Molasses*Incubation time	1649.33	12	137.44	5.77	<0.001
Error	2381.07	100	23.81		

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรต พบว่า การเติมกากน้ำตาลต่างกัน 5 ระดับ โดยไม่มีการหมักฟางข้าวไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งปลาตุ๊กผสมสามารถย่อยได้น้ำตาลมอลโตส 58.57-59.21 มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม ในขณะที่การหมักฟางข้าวที่มีการเติมกากน้ำตาลที่ระดับ 2 และ 4% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าค่าการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตดีที่สุด (77.28±1.68 และ 75.12±5.03 มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟาง

ข้าว 1 กรัม) เช่นเดียวกับการหมักฟางข้าวเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (76.62 ± 5.52 และ 78.14 ± 5.63 มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม) เมื่อวิเคราะห์ผลการหมักเป็นเวลา 62 ชั่วโมงพบว่า การเติมน้ำตาลที่ระดับ 2, 4 และ 6% มีผลให้ค่าการย่อยคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Chen et al. (2014) ซึ่งรายงานว่า การเสริมกากน้ำตาลสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกระบวนการหมักได้ นอกจากนี้กากน้ำตาลยังช่วยลดแอมโมเนียไนโตรเจนและลดการสูญเสียอินทรีย์วัตถุ อีกทั้งยังทำให้พีเอชของวัสดุหมักลดลง (Cao, 2010) จากผลการศึกษาการเติมน้ำตาลที่ระดับสูงเกินไปไม่ได้ส่งผลให้การย่อยคาร์โบไฮเดรตในฟางข้าวเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการเติมน้ำตาลปริมาณสูงที่สุด (8%) มีแนวโน้มทำให้ค่าการย่อยได้ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเติมน้ำตาลจะมีผลต่อระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกและกรดไพรูวิกของวัสดุหมัก ส่งผลให้พีเอชในกระบวนการหมักลดลงอย่างรวดเร็วซึ่งอาจไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายของแบคทีเรีย (Yunus et al., 2000; Wuisman et al., 2006; Guo et al., 2014) นอกจากนี้การเติมน้ำตาลในระดับที่เหมาะสมยังมีผลต่อการเกิดพลาสโมไลซิส (Plasmolysis) ซึ่งมีผลทำให้เซลล์พืชแตกตัวง่ายทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว (ฉัตรชัย และคณะ, 2553) จากการศึกษาการใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 และ 62 ชั่วโมง ให้ผลการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่ต่างจากการหมักที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าระดับที่เหมาะสมในการหมักฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยน้ำตาลมอลโตส คือการเติมน้ำตาลที่ระดับ 2% ร่วมกับการหมักโดยใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3, รูปที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Weinberg et al. (2008) ซึ่งแนะนำการใช้กากน้ำตาลในการหมักฟางข้าวที่ระดับไม่เกินร้อยละ 3.0 ของน้ำหนักวัตถุดิบจะสามารถปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบการหมักได้ดีที่สุด



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม) ในฟางข้าวหมักจากเอนไซม์ปลาตุก ลูกผสมที่มีการเติมน้ำตาลและระยะเวลาการหมักต่างกัน

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรต (มิลลิกรัมมอลโตสต่อฟางข้าว 1 กรัม) ในฟางข้าวหมักจากเอนไซม์ปลาตุก
ลูกผสม

Treatment	Incubation time (hr.)	Molasses (%)	Invitro digestibility (mgMaltose/gSample)
1	0	0	58.58±2.13 ^a
2	0	2	58.98±1.38 ^a
3	0	4	59.21±1.29 ^a
4	0	6	58.80±1.25 ^a
5	0	8	58.75±0.94 ^a
6	24	0	58.63±1.26 ^a
7	24	2	77.28±1.68 ^b
8	24	4	75.12±5.03 ^a
9	24	6	64.02±2.12 ^a
10	24	8	63.45±3.75 ^a
11	48	0	59.08±1.07 ^a
12	48	2	76.62±5.52 ^b
13	48	4	78.14±5.63 ^b
14	48	6	65.44±2.27 ^a
15	48	8	63.15±6.87 ^a
16	62	0	58.78±1.43 ^a
17	62	2	78.02±1.75 ^b
18	62	4	77.28±15.63 ^b
19	62	6	77.22±1.84 ^b
20	62	8	62.89±6.90 ^a
P-value			<0.001

หมายเหตุ: อักษร ^a, ^b ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

บทสรุป

ระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาในการหมักมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของคาร์โบไฮเดรตจากเอนไซม์ในลำไส้ปลาตุกลูกผสมด้วยเทคนิคการย่อยในห้องปฏิบัติการ และยังพบอิทธิพลรวมระหว่างระดับกากน้ำตาลและระยะเวลาการหมักฟางข้าว โดยระดับที่เหมาะสมในการหมักฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้คาร์โบไฮเดรต คือ การเติมกากน้ำตาลที่ระดับ 2% ร่วมกับการหมักเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางปฏิบัติเพื่อเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์จากฟางข้าวในอาหารปลาตุกลูกผสมได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้ โครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ปีงบประมาณ 2564

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. (2562). สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2560. กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์: กรุงเทพฯ
- เจษฎา ธีรศรีณยานนท์, อรพินท์ จินตสถาพร และศรีน้อย ชุ่มคำ. (2557). การศึกษากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส เซลลูเลส และไลเปสในระบบทางเดินอาหารของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*). ใน การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 4-7 กุมภาพันธ์ 2557. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 318-325.
- ฉัตรชัย กิตติพรชัย, อภิญา ภูมิพล, อรุณารณ์ สะอาดสุด, สกุนธร บารสมบัติ, สมจิตร อยู่เป็นสุข, วสุ ปฐมอารีย์, นิเวศ ศรีล้อม, สมบัติ ใจดำ และวินัย เสียงหวาน. (2553). การผลิตปุ๋ยอินทรีย์น้ำจากเศษอาหารโรงอาหารภาควิชาชีววิทยาและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แล้วจากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา. รายงานการวิจัย. ภาควิชาจุลชีววิทยาและชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.
- ดนุวัต เพ็งอัน, อนันต์ ปินตารักษ์, พัฒน์ กลสิกรรมยืนยง และสุชัยญา อรุณรุ่งโรจน์. (2552). การผลิตเชื้อจุลินทรีย์สำหรับย่อยสลายสารในขยะและน้ำเสียเชิงพาณิชย์. รายงานการวิจัย. ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.
- พันธุ์ทิพย์ กล่อมแจ็ก และปฐมพร น้อยจันทร์. (2561). การศึกษาคุณภาพของปุ๋ยหมักจากการหมักร่วมระหว่างฟางข้าวและน้ำเสียฟาร์มสุกร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 37(5): 647-658.
- รุ่งกานต์ กล้าหาญ, มนต์รี ปัญญาทอง และชนชัย ดันเมฆ. (2559). การย่อยได้แบบ in vitro ของซังข้าวโพดด้วยเอนไซม์จากทางเดินอาหารของปลานิลและเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Trichoderma viride*. วารสารแก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ (1): 630-635.
- วิชิต เกตุพงษ์พันธุ์. (2554). ผลของการใช้ฟางข้าวหมักกับอาหารที่เหลือจากการเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ในระดับต่างกันต่อสมรรถภาพของโคเนื้อ. วารสารวิจัย. 4(2): 65-74.
- ศุภลักษณ์ เกตุตากแดด, นริศรา สุรทิพย์ และบัณฑิต ยวงสร้อย. (2563). กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาซิว (*Pangasianodon hypophthalmus*) ระยะโตเต็มวัย. วารสารแก่นเกษตร. 48(3): 405-416.
- Bernfeld P. (1955). Amylases, α and β . Method in Enzymology. Academic Press, NY.
- Cao Y., Takahashi T., Horiguchi K.I. and Yoshida N. (2010). Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and in vitro ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. Grassland Science. 56(1): 19-25.
- Chen L., Guo G., Yuan X., Shimojo M., Yu C. and Shao T. (2014). Effect of applying molasses and propionic acid on fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage prepared with whole-plant corn in Tibet. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 27(3): 349-356.

- Das K.M. and Tripathi S.D. (1991). Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). Aquaculture. 92: 21-32.
- De Silva S.S. and Anderson T.A. (1995). Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall: UK.
- Fagbenro O.A. (1990). Food composition and digestive enzymes in the gut of pond-cultured *Clarias isheriensis* (Sydenham 1980), (Siluriformes: Clariidae). Journal of Applied Ichthyology. 6(2): 91-98.
- Gaxiola G., Cuzon G., García T., Taboada G., Brito R., Chima M.E.I., Paredes A., Soto L., Rosas C. and Wormhoudt A.V. (2005). Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Comparative Biochemistry and Physiology. 140(1): 29-39.
- Guillaume J., Kuashik S., Bergot P. and Metailler R. (2001). Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Praxis publishing: UK.
- Guo G., Yuan X., Li L., Wen A. and Shao T. (2014). Effects of fibrolytic enzymes, molasses and lactic acid bacteria on fermentation quality of mixed silage of corn and hulless-barely straw in the Tibetan Plateau. Grassland Science. 60(1): 240-246.
- Halver J.E. and Hardy R.W. (2002). Fish Nutrition. Academic Press: USA.
- Hidalgo M.C., Urea E. and Sanz A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture. 170(3): 267-283.
- Hlophe S.N. and Moyo N.A.G. (2013). The aquaculture potential of *Tilapia rendalli* in relation to its feeding habits and digestive capabilities. Physics and Chemistry of the Earth. 66(1): 33-37.
- Iranzo M., Cañizares J.V., Roca-Perez L., Sainz-Pardo I., Mormeneo S. and Boluda R. (2004). Characteristics of rice straw and sewage sludge as composting materials in Valencia (Spain). Bioresource Technology. 95(1): 107-112.
- Jian W., Lei C., Xian-jun Y., Gang G., Jun-feng L., Yun-feng B. and Tao S. (2017). Effects of molasses on the fermentation characteristics of mixed silage prepared with rice straw, local vegetable by-products and alfalfa in Southeast China. Journal of Integrative Agriculture. 16(3): 664-670.
- Kattakdad S., Jintasataporn O., Worawattanamateekul W. and Chumkam S. (2018). pH characterization of digestive enzyme and In vitro digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). Journal of Aquaculture Research & Development. 9(2): 1-6.
- Krogdahl A., Hemre G.I. and Mommsen T.P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquaculture Nutrition. 11(2): 103-122.
- Li J., Shen Y. and Cai Y. (2010). Improvement of fermentation quality of rice straw silage by application of a bacterial inoculant and glucose. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 23(7): 901-906.
- Li X., Zhang R. and Pang Y. (2008). Characteristics of dairy manure composting with rice straw. Bioresource Technology. 99(2): 359-367.
- Lowry H.O., Rosebrough J.N., Farr A.L. and Randall R.J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 193(1): 265-275.
- Miller G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry. 31(3): 426-428.

- Qian X., Shen G., Wang Z., Guo C., Liu Y., Lei Z. and Zhang Z. (2014). Co-composting of livestock manure with rice straw: Characterization and establishment of maturity evaluation system. *Waste Management*. 34(2): 530-535.
- Weinberg Z.G., Chen Y. and Weinberg P. (2008). Ensiling olive cake with and without molasses for ruminant feeding. *Bioresource Technology*. 99(6): 1526–1529.
- Wuisman Y., Hiraoka H., Yahaya M.S., Takeda M., Kim W., Takahashi T. and Goto M. (2006). Effects of phenylalanine fermentation byproduct and sugarcane molasses on fermentation quality and rumen degradation of whole crop barley (*Hordeum vulgare* L.) silage in situ. *Grassland Science*. 52(2): 73-79.
- Xing L., Chen L.J. and Han L.J. (2009). The effect of an inoculant and enzymes on fermentation and nutritive value of sorghum straw silages. *Bioresource Technology*. 100(1): 488-491.
- Yunus M., Ohba N., Shimojo M., Furuse M. and Masuda Y. (2000). Effects of adding urea and molasses on napiergrass silage quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 13(11): 1542-1547.
- Zhao J., Dong Z., Li J., Chen L., Bai Y., Jia Y. and Shao T. (2019). Effects of lactic acid bacteria and molasses on fermentation dynamics, structural and nonstructural carbohydrate composition and in vitro ruminal fermentation of rice straw silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 32(6): 783–791.