



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์

สัตว์บาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

Effect of Protease Enzyme Supplementation on Growth Performance of Weaning Pigs

นามผู้วิจัย นางสาววัชโรบล อัสวพันธุ์นิมิต

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสกสม อาตมากร, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ยุวเรศ เรืองพานิช, Ph.D)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เสกสม อาตมากร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ักัญญา ชีระกุล, D. Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบสิงห์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

Effect of Protease Enzyme Supplementation on Growth Performance of Weanling Pigs

โดย

นางสาววัชรโรบล อัสวพันธุ์นิมิต

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

พ.ศ. 2555

วัชรโบล อัสวพันธุ์นิมิต 2555: ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตสุกรระยะ
อนุบาล ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์
และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์
เสกสม อาตมางกูร, Ph.D. 60 หน้า

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการย่อยได้ของโภชนะและ
สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล ในการทดลองแบ่งอาหารทดลองเป็นอาหารสูตรควบคุม (Trt.1)
อาหารสูตรทดลองที่ลดระดับเปอร์เซ็นต์โปรตีนจากอาหารสูตรควบคุมลง 8 เปอร์เซ็นต์ (Trt.2) อาหารสูตร
ทดลองที่เสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อดัน (Trt.3) และอาหารสูตรทดลองที่เสริมเอนไซม์โปรติเอส
ที่ระดับ 200 กรัมต่อดัน (Trt.4)

การทดลองที่ 1 การทดลองใช้สุกรสายพันธุ์แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์ สุกรอนุบาลอายุ 7 สัปดาห์ จำนวน
24 ตัว น้ำหนัก 10 กิโลกรัม แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ตัวละ 1 ตัว เพื่อศึกษาผลของการเสริม
เอนไซม์โปรติเอสต่อการย่อยได้ของโภชนะในอาหารที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการทดลอง
พบว่าเปอร์เซ็นต์ของค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบในอาหารดีขึ้น แต่ไม่มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การย่อย
ได้ของโปรตีน ไกมัน พลังงานย่อยได้และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ พบว่าอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์
โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อดัน ส่งผลให้มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ และ โปรตีนดีขึ้นแตกต่าง
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.0568$ และ 0.0555 ตามลำดับ)

การทดลองที่ 2 สุกรสายพันธุ์ดอร์ค x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ สุกรอนุบาลอายุ 4 สัปดาห์จำนวน 160 ตัว
น้ำหนักเฉลี่ย 7 กิโลกรัม แบ่งเป็น 4 กลุ่ม (กลุ่มละ 5 ตัว ตัวละ 8 ตัว) เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอส
ต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล ผลการทดลองพบว่าสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลมีความ
แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดอาหารทดลองทั้งอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ย
ต่อตัว อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ระดับไนโตรเจนในกระแสเลือด (BUN) และ อัตราการตาย

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Vatcharabol Assawapannimit 2012. Effect of Protease Enzyme Supplementation on Growth Performance of Weanling Pigs. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technology), Major Field: Animal Nutrition and Feed Technology; Department of Animal Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Seksom Attamangkune, Ph.D. 60 pages.

Two experiments were conducted in order to determine the effects of an protease enzyme supplementation on nutrient digestibility and growth performance of nursery pigs. In both studies, the dietary treatments consisted of control diet (Trt.1), negative control diet which 8% CP reduction of control diet (Trt.2), negative control diet plus 100 g/T of protease enzyme (Trt.3), and negative control diet plus 200 g/T of protease enzyme (Trt.4)

Experiment 1. Twenty four, 10 kg BW LRxLW piglets at 7 weeks were allocated to 4 dietary treatments (6 replications per treatment) in order to elucidate the effect of an protease enzyme on nutrient digestibility. The reduction of 8% CP levels improved the digestibility coefficient percentage of dry matter (DM) but did not improve in cases of crude protein, crude fat, digestible energy, and metabolizable energy. The supplementation of protease enzyme at the level of 200 g/T over negative control diet improved the digestibility coefficient of dry matter (DM) and crude protein (CP) (P value = 0.0568 and 0.0555, respectively).

Experiment 2. One hundred and sixty, 7 kg BW DxLRxLW piglets at 4 weeks were divided into 4 dietary treatments (with 5 replications per treatment and 8 piglets per replication) in order to determine the effect of protease enzyme supplementation on growth performance of nursery pigs. No significant differences among dietary treatments were observed on ADG, ADFI, FCR, BUN concentration value, and mortality rate.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสม อตมามงกุฏ ประธานกรรมการ ที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุวเรศ เรืองพานิช กรรมการสาขาวิชาเอก สำหรับการให้ คำปรึกษา แนะนำ สนับสนุนและให้การตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณผู้บริหาร ผู้จัดการ ผู้ประสานงาน และพนักงานของบริษัทไบโอเจน ฟีดมิลล์ จำกัด และไบโอเจน ฟาร์ม ทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการผลิตอาหารและสถานที่ใน การทำการทดลอง ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในทุกด้าน จนการทดลองเสร็จสิ้นไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบริษัท ดี เอส เอ็ม นิวทริชั่นนอล โปรดักส์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนแหล่ง เงินทุนในการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติ การวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิเคราะห์ คุณค่าทางโภชนา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่เห็นความสำคัญ ให้โอกาสและสนับสนุนด้าน การศึกษาเป็นอย่างดี อีกทั้งขอขอบคุณบุคคลสำคัญที่เป็นที่รักยิ่ง อัน ได้แก่ครอบครัว พ่อ แม่ ญาติ พี่น้อง ที่คอยเป็นที่ปรึกษา เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนด้านการศึกษาของข้าพเจ้าด้วยดีมา ตลอด รวมไปถึงเพื่อน รุ่นพี่ และรุ่นน้อง จากการศึกษา การทดลองครั้งนี้ทำให้มีโอกาสในการ เรียนรู้ทั้งทฤษฎีและการปฏิบัติจริง ซึ่งได้นำความรู้และประสบการณ์ที่ได้มาประกอบการเขียนจน ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์

วัชรโรบล อัสวพันธุ์นิมิต

ตุลาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	41
สรุปและข้อเสนอแนะ	48
สรุป	48
ข้อเสนอแนะ	48
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	56
วิธีการวิเคราะห์โครมิกออกไซด์ในอาหารและมูล	57
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	60

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความต้องการโภชนาการของลูกสุกรแรกเกิดถึงสุกรขุน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์หรือปริมาณต่ออาหาร 1 กิโลกรัม	5
2	แหล่งของเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมและการประยุกต์ใช้	15
3	คุณสมบัติของโปรติเอสจากเชื้อรา	17
4	ชนิดและแหล่งของเอนไซม์โปรติเอส	21
5	เอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆที่ผลิตโดยจุลินทรีย์	22
6	เอนไซม์โปรติเอสที่สามารถจำแนกตามลักษณะการสลายพันธะเปปไทด์	24
7	ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสุกรระยะอนุบาลที่ใช้ในการทดลอง	31
8	ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการย่อยได้ของความชื้น โปรตีน ไขมัน และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของสุกรระยะอนุบาล	42
9	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง	45
10	ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล	46

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำย่อยในลูกสุกรอายุตั้งแต่แรกเกิดถึง 7 สัปดาห์	4
2	กลไกการทำงานของเอนไซม์	8
3	ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์	10
4	ปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในสารละลายน้ำและปฏิกิริยา การสร้างเปปไทด์สารละลายอินทรีย์โดยเอนไซม์โปรติเอส	12
5	กรงเมทาบอликที่ใช้ในการศึกษาค่าการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร	30
6	ภายนอกของโรงเรือนที่ใช้ในการทดลอง	36
7	ภาพภายในห้องที่ใช้ในการทดลอง	36
8	ลักษณะคอกสุกรที่ใช้ในการทดลอง	37

ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

Effect of Protease Enzyme Supplementation on Growth Performance of Weaning Pigs

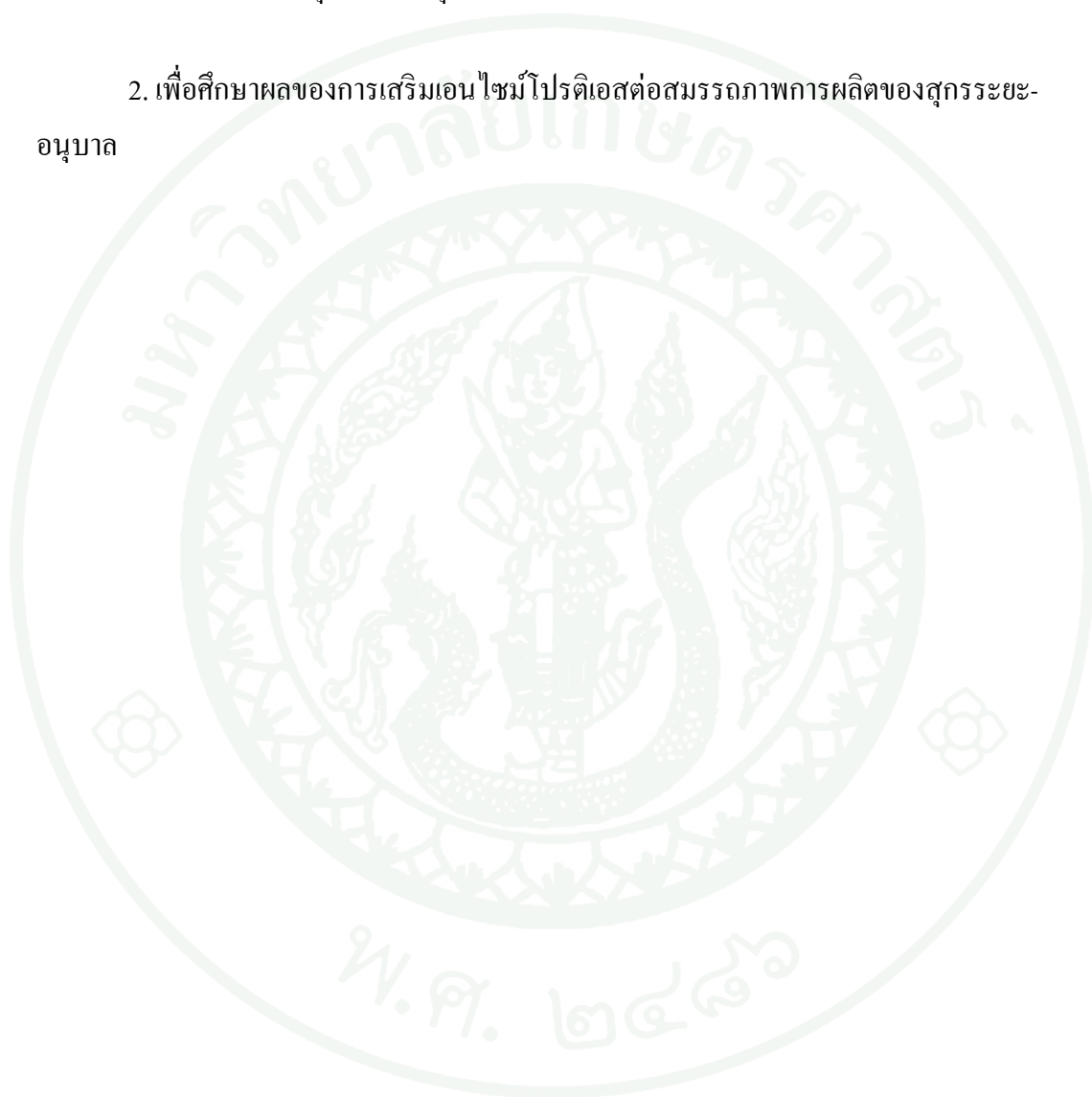
คำนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์และเกษตรกรกลุ่มผู้เลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจ ประสบกับปัญหาด้านราคาวัตถุดิบที่สูงขึ้นมีผลต่อต้นทุนการผลิต อีกทั้งยังมีข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบประเภทโปรตีนในสัตว์แต่ละช่วงอายุอีกด้วย ซึ่งอาหารประเภทโปรตีนมีความสำคัญต่อสัตว์ทุกชนิด โดยเฉพาะสัตว์วัยอ่อนที่กำลังเจริญเติบโตที่มีการเปลี่ยนอาหารประเภทโปรตีนที่ได้จากน้ำนมเป็นอาหารประเภทโปรตีนจากพืช เนื่องจากลูกสัตว์มีการพัฒนาระบบทางเดินอาหารยังไม่เต็มที่จึงมีการใช้ประโยชน์ได้จากอาหารประเภทโปรตีนจากพืชได้น้อย ดังนั้นการแก้ไขปัญหาด้านต้นทุนการผลิตอีกวิธีหนึ่งคือ การเสริมเอนไซม์ลงในอาหารสัตว์ ซึ่งการเสริมเอนไซม์ที่ให้สัมฤทธิ์ผลที่สุด คือ การเสริมในสัตว์เล็กหรือลูกสัตว์หลังหย่านม ซึ่งจะสามารถช่วยให้สัตว์หลังหย่านมได้รับสารอาหารเพิ่มมากขึ้น โดยเอนไซม์ที่เสริมจะเข้าไปช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบการย่อยและการดูดซึมให้พัฒนาดีขึ้น และเพื่อรองรับการย่อยอาหารประเภทโปรตีนจากพืชหลังหย่านมได้ดีขึ้น (สาโรช, 2547) ด้วยเหตุผลดังกล่าว จึงมีการวิจัยการใช้เอนไซม์ในลูกสัตว์หลังหย่านมหนึ่งในนั้นก็คือ กลุ่มของเอนไซม์โปรติเอส (protease enzyme)

เอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์โปรตีนและโพลีเปปไทด์ให้เป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์สายสั้น โดยเอนไซม์กลุ่มนี้มีการทำงานได้ดีในช่วงความเป็นกรดต่ำที่กว้าง คือ ในช่วงความเป็นกรดต่ำระหว่าง 4 ถึง 11 สามารถผลิตจากแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ซึ่งจะเป็แหล่งของเอนไซม์ได้ดีกว่าพืชและสัตว์ เนื่องจากจุลินทรีย์มีวงจรชีวิตที่สั้นกว่า ดังนั้นจึงใช้พื้นที่และเวลาในการเลี้ยงที่น้อยกว่าพืชและสัตว์ ทำให้ลดต้นทุนการผลิตได้มากกว่าอีกด้วย การใช้เอนไซม์โปรติเอสที่เสถียรต่อความร้อนจะช่วยเพิ่มอัตราเร็วของการเร่งปฏิกิริยา ทำให้ความสามารถในการละลายของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่แก๊สเพิ่มขึ้น ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำลง และยังเพิ่มความเสถียรต่อการเสียดสภาพทางธรรมชาติของเอนไซม์ได้ด้วย เป็นต้น (กัญญา, 2544) จึงนำมาใช้เสริมอาหารในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน และพลังงานของสุกรระยะอนุบาล
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล



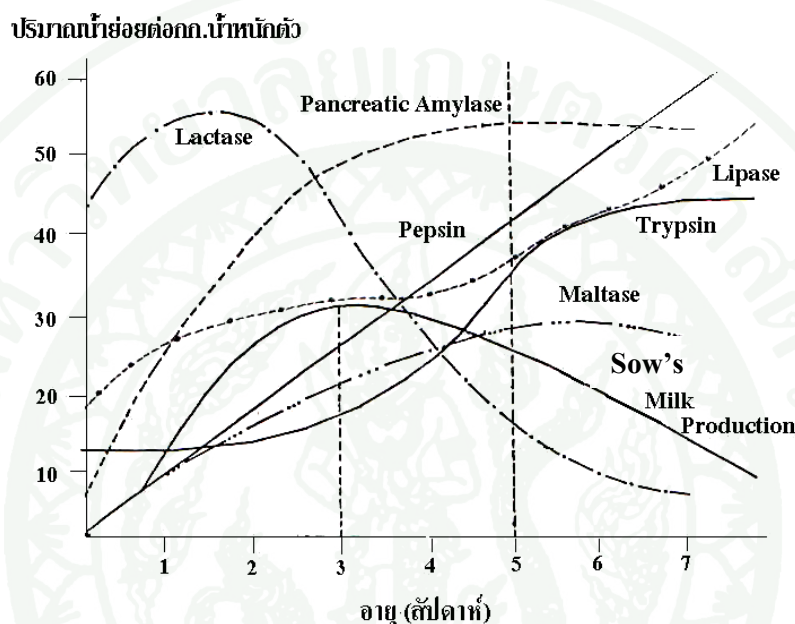
การตรวจเอกสาร

สุกในระยะหย่านม

การพัฒนาระบบการย่อยอาหารของลูกสุกร

ปัจจุบันบางฟาร์มจะหย่านมลูกสุกรก่อนกำหนด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้อาหารแก่ลูกสุกร ตั้งแต่ลูกสุกรอยู่ในระยะดูนม ปกติทั่วไปแล้วจะหย่านมที่อายุ 4 หรือ 5 สัปดาห์ ถ้าหากลูกสุกรหย่านมที่ 8 สัปดาห์ ขณะนั้นในสัปดาห์สุดท้ายลูกสุกรจะกินอาหารเป็น 70–80 เปอร์เซ็นต์ของความ ต้องการ แต่ถ้าลูกสุกรหย่านมที่ 6 สัปดาห์ ในสัปดาห์สุดท้ายก่อนหย่านมลูกสุกรจะกินอาหารได้ 50–60 เปอร์เซ็นต์ของความ ต้องการ ดังนั้นจึงต้องทำให้ลูกสุกรกินอาหารแข็งให้ได้มากที่สุดก่อนหย่านม เพื่อลดการเปลี่ยนอาหารให้น้อยที่สุด ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเครียดเมื่อหย่านม ความเครียดจะมีผลต่อการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายรวมถึงระบบการย่อยอาหารด้วย (นิรนาม, 2554) ลูกสุกรในช่วงแรกเกิดจนถึงอายุ 5 สัปดาห์ จะมีเอนไซม์ต่างจากสุกรที่โตเต็มที่แล้ว เนื่องจากในระยะดูนมแม่ 1-2 วันแรก ถ้าใส่เล็จะยอมให้มีการดูดซึม โปรตีนได้ ซึ่งเป็นกระบวนการตามธรรมชาติที่ทำให้ลูกสุกรได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ในรูปของ immunoglobulin ซึ่งมีอยู่ในนมแม่เหลือง ความสามารถในการดูดซึมโปรตีนจะลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังจากลูกสุกรเกิดได้ 24 ชั่วโมง ระบบการย่อยอาหารของลูกสุกรยังไม่สมบูรณ์ การพัฒนาการทำงานของเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำนมที่แม่สุกรผลิตได้ ในระยะแรกจึงไม่สามารถใช้โปรตีนจากพืชและสัตว์ได้เต็มที่ เนื่องจากกระเพาะมีการสร้างกรดเกลือและเอนไซม์เปปซินน้อย (ภาพที่ 1) ทำให้สภาพพีเอชในกระเพาะยังไม่เหมาะสม แต่จะสร้างน้ำย่อยเรนินออกมามาก เพื่อทำให้เคซีนซึ่งเป็นโปรตีนในนมตกตะกอนไหลผ่านทางเดินอาหารช้าลง เพื่อให้เอนไซม์เปปซินย่อยได้ดีขึ้นในระยะแรกนี้ลูกสุกรสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้เช่นกัน และไขมันไม่อิ่มตัว เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วลิสง แต่ไขมันสัตว์จะใช้ได้น้อย ลูกสุกรจะไม่สามารถใช้น้ำตาลที่มีโมเลกุลใหญ่ได้ เช่น น้ำตาลซูโครส- (sucrose) และแป้ง (นิรนาม, 2554) เมื่อลูกสุกรโตขึ้นจะหลั่งกรดเกลือและเอนไซม์เปปซินได้มากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในช่วงหย่านมจะมีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภายในลำไส้ของลูกสุกร ได้แก่ ความสูงของวิลไล (villi) ที่ลดลง ความกว้างของวิลไลที่เพิ่มขึ้น ความลึกของ crypt เพิ่มขึ้น (D. Kelly and T.P. King, 2001) เมื่อลูกสุกรอายุได้ 4-6 สัปดาห์ จะเริ่มสร้างกรดเกลือและเอนไซม์ได้ทั้งที่และเอนไซม์มอลเตส เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์ไลเปสจะมีอยู่น้อยในช่วงที่ยังเล็กแล้วจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น การเจริญเติบโตของลูกสุกรในระยะนี้ขึ้นอยู่กับ

อาหารที่ให้ส่วนใหญ่ ซึ่งอาหารประเภทโปรตีนเป็นโภชนะที่มีความสำคัญต่อสัตว์ทุกชนิด โดยเฉพาะสัตว์วัยอ่อนที่กำลังเจริญเติบโต เนื่องจากสุกรระยะนี้ยังมีระบบทางเดินอาหารที่ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์เต็มที่ จึงยังย่อยและดูดซึมอาหารหายาได้ไม่ดีเท่าที่ควร เพราะฉะนั้นอาหารที่ให้ควรจะยังเป็นอาหารที่ย่อยง่าย มีโปรตีน พลังงาน แร่ธาตุและวิตามินอย่างครบถ้วน (สุวรรณ, ม.ป.ป.)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำย่อยในลูกสุกรอายุตั้งแต่แรกเกิดถึง 7 สัปดาห์

ที่มา: สุวรรณ (ม.ป.ป.)

ลูกสุกรหย่านมใหม่อาจกินอาหารได้ลดลงใน 2-3 วันแรก อาจเป็นผลดีต่อตัวลูกสุกรเพราะทำให้อาการท้องเสียลดลง ลูกสุกรที่กินอาหารได้มากแต่ย่อยได้น้อย ทำให้เหลือโภชนะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่มากขึ้น ทำให้การหมักบูดในลำไส้ใหญ่เกิดมากขึ้น จึงเป็นสาเหตุของอาการท้องเสียในลูกสุกร และอาจรุนแรงขึ้นได้ หลังจากหย่านมภายใน 7-10 วัน ลูกสุกรหย่านมจะมีอาการขับถ่ายกรดไขมันและคาร์โบไฮเดรตออกมากับมูลเพิ่มขึ้น มูลมีน้ำมากขึ้น ซึ่งจะเกิดในช่วงของการเปลี่ยนอาหารเมื่อหย่านม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะเกิดในช่วงเวลาสั้นๆ เนื่องจากเกิดอาการอาหารไม่ย่อยชั่วคราว หรือการดูดซึมสารอาหารไม่ดี (malabsorption) แต่หลังจากระยะนี้ไปแล้วลูกสุกรจะกินอาหารได้มากขึ้น ซึ่งอาการท้องเสียของลูกสุกรอนุบาลนั้นเกิดจากการกินอาหารที่มากเกินไปในคราวเดียว ทำให้การทำงานของระบบทางเดินอาหารผิดปกติ มีของเหลวสะสมมาก และมี การบีบ

ตัวที่และรุนแรง ทำให้เชื้ออีโคไล (*E. coli*) แพร่ขยายเร็วขึ้นและสร้างสารพิษ ซึ่งสารพิษนี้จะไปกระตุ้นให้มีการขับหลังน้ำออกมาสู่ลำไส้สูงขึ้น ระบบการดูดซึมน้ำกลับของลำไส้เล็กส่วนปลายทำงานไม่ทัน ทำให้ลำไส้ใหญ่มีน้ำคั่งมาก เกิดอาการท้องเสียได้ (สาโรช, 2547)

การให้อาหารลูกสุกรควรเติมอาหารให้บ่อยครั้ง เพื่อช่วยในการกระตุ้นให้ลูกสุกรกินอาหารได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยชะลอการไหลผ่านของอาหารจากกระเพาะสู่ลำไส้ ลดอัตราการเคลื่อนตัวของอาหารที่ไหลผ่านไปยังลำไส้ ทำให้ระยะเวลาในการย่อยและดูดซึมนานขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น (สุวรรณ, มปป.) นอกจากนี้ความต้องการของโภชนะในสัตว์ตั้งแต่แรกเกิดจนถึงโตเต็มวัยก็มีความแตกต่างกันไปในแต่ละช่วงของอายุและน้ำหนัก (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความต้องการโภชนะอาหารของลูกสุกรแรกเกิดถึงสุกรขุน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์หรือปริมาณต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

น้ำหนักตัว (กก.)	5-7	7-11	11-25	25-50	50-75	75-100
พลังงานย่อยได้ (kcal)	3,542	3,542	3,490	3,402	3,402	3,402
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (kcal)	3,400	3,400	3,350	3,300	3,300	3,300
โปรตีนทั้งหมด (%)	19.37	17.50	16.00	13.19	11.50	10.06

ที่มา: NRC (2012)

เอนไซม์ (Enzyme)

ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตส่วนมากมักจะเป็นปฏิกิริยาที่ต้องมีตัวกระตุ้น (catalyst) ตัวกระตุ้นในปฏิกิริยาดังกล่าว สามารถเร่งปฏิกิริยาที่ซับซ้อนให้เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพภายใต้ภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ (20-40 องศาเซลเซียส) และในสารละลายที่เจือจางที่พีเอช 7.0 นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะเจาะจงสูงในการเร่งปฏิกิริยาแต่ละชนิดโดยไม่เกิดผลข้างเคียง คุณสมบัติดังกล่าวจะไม่พบในตัวกระตุ้นต่างๆ ที่เร่งปฏิกิริยาเคมีทั่วไป ตัวกระตุ้นของปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่เป็นโปรตีนชนิดต่างๆ ที่เรียกโดยรวมว่า เอนไซม์ (enzyme) (ธีระยุทธ, 2549)

แหล่งที่มาของเอนไซม์

เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (biocatalyst) ที่เซลล์ทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ผลิตขึ้นเพื่อใช้เร่งปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต เอนไซม์มากมายหลายชนิด กระจายอยู่แทบทุกส่วนภายในเซลล์ ขึ้นอยู่กับว่าเอนไซม์ชนิดนั้นจะเร่งปฏิกิริยาใดและปฏิกิริยานั้น เกิดขึ้นที่ส่วนใดของเซลล์ เช่น เอนไซม์ต่างๆ ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายกลูโคส (glycolysis) จะอยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์ เนื่องจากการสลายกลูโคสไปเป็นไพรูเวต (pyruvate) เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการสร้างโปรตีนอยู่ในไรโบโซม (ribosome) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บพลังงานไว้ในรูปของพลังงานเคมีอยู่ที่ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และคลอโรพลาสต์ (chloroplast) และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการไฮโดรไลซ์สาร-พลังงานสูง เพื่อนำพลังงานไปใช้ในการลำเลียงไอออนผ่านเข้าออกเซลล์ที่เยื่อพลาสมาของเซลล์ เป็นต้น เอนไซม์ที่กล่าวมาทั้งหมดเป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์เรียกว่า เอนไซม์ภายในเซลล์ (intracellular enzymes) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์หลายชนิดที่เซลล์สังเคราะห์ขึ้น และขับออกนอก-เซลล์เพื่อใช้เร่งปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมรอบเซลล์ เช่น ยีสต์จะผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) และขับออกนอกเซลล์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาการสลายน้ำตาลซูโครส (sucrose) ในสิ่งแวดล้อม ให้กลายเป็นน้ำตาลฟรุกโทส (fructose) และกลูโคส (glucose) เพื่อเซลล์จะได้นำไปใช้เป็นอาหารต่อไป (ธีระยุทธ, 2549)

โครงสร้างโดยทั่วไปของเอนไซม์

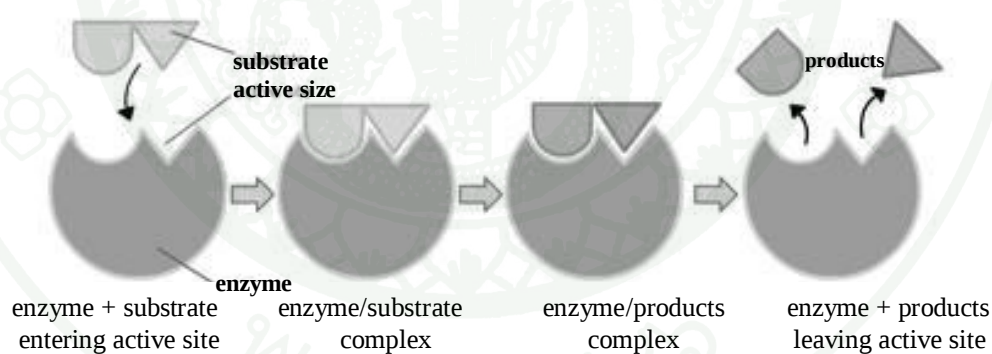
เอนไซม์เกือบทุกชนิดมีโครงสร้างเป็นโปรตีนซึ่งมีการขดตัวหรือโครงรูป (conformation) ที่จำเพาะและถูกกำหนดโดยลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนมีมวลโมเลกุลตั้งแต่หนึ่งหมื่นดาลตัน ขึ้นไปจนถึงหลายล้านดาลตัน รูปแบบที่พบสามารถจำแนกออกเป็น 2 แบบ คือ รูปแบบที่ขดเป็นก้อนกลม (globular protein) และรูปแบบที่เป็นเส้นใย (fibrous protein) แบบที่มีบทบาทในสิ่งมีชีวิตมากที่สุดคือ แบบที่ขดเป็นก้อนกลม (บุญล้อม, 2546) ซึ่งเป็นส่วนที่ละลายน้ำและตกตะกอนได้ เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ดังนั้นขนาดโมเลกุลของเอนไซม์ เมื่อเทียบกับสารซึ่งทำปฏิกิริยาโดยมีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง เรียกว่า ซับสเตรท (substrate) บางเอนไซม์ก็ประกอบด้วยโพลีเปปไทด์ (polypeptide) เพียงอย่างเดียว แต่บางเอนไซม์ต้องมีส่วนประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนเป็นปัจจัยร่วมหรือโคแฟกเตอร์ร่วมอยู่ด้วยจึงจะสามารถทำงานได้โคแฟกเตอร์ของเอนไซม์อาจจะ เป็นไอออนที่มีประจุบวก เช่น Fe^{2+} , Mn^{2+} หรือ Zn^{2+} หรืออาจจะเป็นสารอินทรีย์ที่เรียกว่า coenzyme เอนไซม์บางชนิดต้องการทั้งโคเอนไซม์และประจุโลหะหนึ่งหรือสองไอออนในการทำงานของ

เอนไซม์ ในบางเอนไซม์ประจุโลหะหรือโคเอนไซม์จะเกาะกับโปรตีนอย่างหลวมๆ แต่ในบางชนิดก็จะเกาะแน่น เรียกประจุโลหะหรือโคเอนไซม์ที่มาเกาะกับโปรตีนนี้ว่า prosthetic group เฉพาะส่วนที่เป็นโปรตีนเรียกว่า apoenzyme ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เสียสภาพได้ง่ายด้วยความร้อน และเอนไซม์ที่มีโคแฟกเตอร์อยู่ด้วยเรียกรวมกันว่า holoenzyme นอกจากนี้ โครงสร้างของเอนไซม์ที่มีการขดตัวหรือบิดพันกันไปมาจะทำให้เกิดโครงรูปที่เรียกว่าบริเวณเร่ง (active site) ซึ่งเป็นบริเวณที่เอนไซม์จับกับซับสเตรตตามขนาด รูปร่าง และ โครงสร้างตามธรรมชาติของโมเลกุลซับสเตรต ปัจจุบันเชื่อว่าตำแหน่งของบริเวณเร่งไม่มีการกำหนดแบบตายตัว (rigid geometrical) แต่จะมีความจำเพาะเจาะจง และมีการจัดเรียงตัวอย่างแน่นอนของกรดอะมิโน โดย side chain (R-group) จะเกิดการเร่งปฏิกิริยากับหมู่ซับสเตรต นอกจากนี้ยังพบว่ามีพวกโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่ตำแหน่งบริเวณเร่งจะช่วยเร่งปฏิกิริยาโดยใช้กรดอะมิโนไม่กี่ตัว โดยตำแหน่งอาจจะห่างกัน 2-3 ส่วนหรืออาจห่างกันมากถึงร้อยละส่วนของที่เหลือ แต่เนื่องจากการขดตัวก็สามารถจะมาอยู่ใกล้กัน และเกิดเป็นบริเวณเร่งขึ้นได้ ซึ่งจะเห็นว่าบริเวณเร่งจะคิดเป็นสัดส่วนเพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับโมเลกุลของเอนไซม์ทั้งหมด เอนไซม์บางชนิดยังมีอีกบริเวณหนึ่งของโมเลกุลที่สามารถใช้ควบคุมการทำงานของบริเวณเร่งได้ บริเวณนี้สามารถจับกับสารอื่นที่ไม่ใช่ซับสเตรตทำให้การเร่งของปฏิกิริยาเปลี่ยนไป สารที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์เรียกว่า ตัวควบคุม (regulator) และส่วนของเอนไซม์ที่จับกับตัวควบคุมเรียกว่า แหล่งควบคุม (regulator site) และเรียกเอนไซม์ที่มีทั้งแหล่งควบคุมและบริเวณเร่งว่า allosteric enzyme (พจน์ และคณะ, 2543)

ลักษณะการทำงานของเอนไซม์

การทำงานของเอนไซม์สามารถจำแนกออกได้เป็นลักษณะใหญ่ๆ หลายลักษณะ คือ เอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพมาก สามารถเร่งปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและยังมีความจำเพาะเจาะจง ซึ่งเป็นความจำเพาะทั้งปฏิกิริยาที่ถูกเร่งและสารที่จะมาทำปฏิกิริยาซึ่งเรียกว่า ซับสเตรต เอนไซม์อีกชนิดหนึ่งมักจะเร่งปฏิกิริยาทางเคมีเพียงปฏิกิริยาเดียวหรือปฏิกิริยาอื่นที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ที่เร่งการสลายโปรตีน (proteolytic enzymes) โดยปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำ และส่วนใหญ่จะเร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเอสเทอร์ด้วยน้ำ นอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดเมื่อถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่จะอยู่ในรูปที่ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ (inactive precursor form) และสามารถที่จะทำงานได้ถ้าอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม โดยทั่วไป inactive precursor ของโปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzyme) เรียกว่า ไซโมเจน (zymogen) ในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะไม่ทำให้สมดุลของปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนแปลง และเอนไซม์ยัง

ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีให้เกิดเร็วขึ้น โดยการลดพลังงานกระตุ้น (activation energy) ของปฏิกิริยานั้นลง การเร่งปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์จะเริ่มจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์ (E) กับซับสเตรท (S) (enzyme substrate complex, ES) โดยที่ซับสเตรทจะเกาะกับบริเวณเร่งบนโมเลกุลของเอนไซม์ เอนไซม์ส่วนมากจะมีการเลือกจับกับซับสเตรท และความจำเพาะเจาะจงในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับความจำเพาะในการจับระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรทเป็นส่วนใหญ่ โดยที่ซับสเตรทที่เกาะที่บริเวณเร่งของเอนไซม์จะเกาะกันด้วยแรงอื่นๆ มีทั้งแรงดึงดูดทางไฟฟ้า แรงดึงดูดประเภทโพลาร์ เช่นเดียวกับแรงที่ยึดโครงสร้างสามมิติของโปรตีนเอาไว้ นอกจากนี้ความจำเพาะของเอนไซม์ในการจับกับซับสเตรทขึ้นกับการจัดอะตอมในบริเวณเร่ง ซึ่งซับสเตรทจะต้องมีรูปร่างที่เหมาะสมกับบริเวณเร่งคล้ายๆ กับแม่กุญแจและลูกกุญแจ (lock and key) โครงสร้างเอนไซม์เปรียบเสมือนแม่กุญแจจึงสวมกันได้พอดีกับซับสเตรท ซึ่งเปรียบเสมือนลูกกุญแจ โดยโครงสร้างไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (ปริญญา, 2554) (ภาพที่ 2) แต่บริเวณเร่งของเอนไซม์บางชนิดไม่คงรูปแบบแม่กุญแจ ในกรณีเช่นนี้บริเวณเร่งของเอนไซม์จะเปลี่ยนไปโดยการจับกับซับสเตรท บริเวณเร่งของเอนไซม์จะมีรูปร่างเหมือนกับซับสเตรท หลังจากเกาะกับซับสเตรทแล้วเท่านั้น การเกิดเช่นนี้เรียกว่า induced fits (พจน์ และคณะ, 2543)

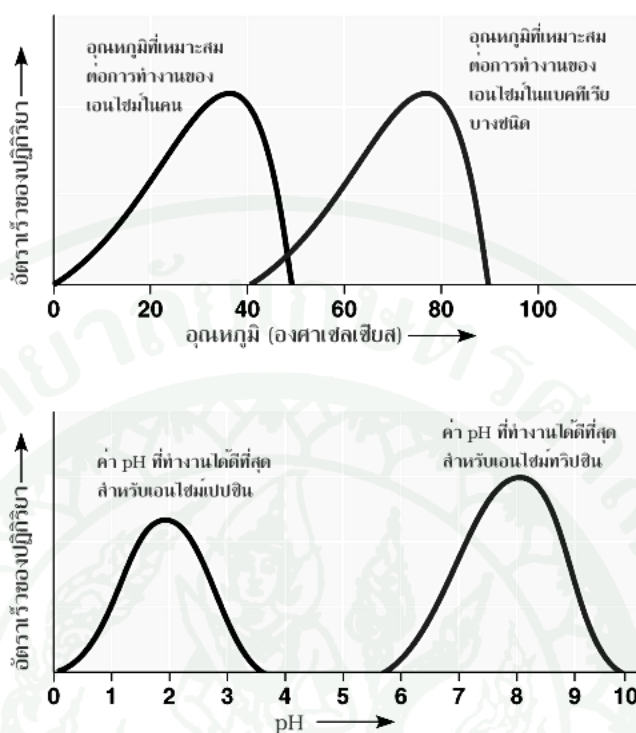


ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของเอนไซม์

ที่มา: ปริญญา (2554)

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์จะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเข้มข้นของซับสเตรท ในปฏิกิริยาเคมีทั่วไปอัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของซับสเตรท ในช่วงที่ซับสเตรทมีความเข้มข้นน้อยกว่าค่าความเข้มข้นของซับสเตรทที่เร่งโดยเอนไซม์ ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยามีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราเร็วสูงสุด (K_m) และเมื่อความเข้มข้นของซับสเตรทมีค่ามากกว่าค่า K_m มากๆ อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซับสเตรทนั้น กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ การเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรทจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่งจะหยุดคงที่ เนื่องจากปริมาณของเอนไซม์ที่มีอยู่ถูกใช้ในการเร่งปฏิกิริยาจนหมด เรียกว่า เอนไซม์อิ่มตัวด้วยซับสเตรท ดังนั้นเมื่อผ่านจุดนี้ไปแล้ว ไม่ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรทไปอีกเท่าไรก็จะไม่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นอีก แต่อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลงได้ในกรณีที่โมเลกุลของซับสเตรทไปทำให้อโอกาสของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรทแตกตัวเป็นเอนไซม์และผลิตภัณฑ์ได้น้อยลง จุดที่ความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาจะเริ่มคงที่และเป็นอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยาความเข้มข้นของเอนไซม์ เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยที่อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของเอนไซม์ แต่เอนไซม์บางชนิดถ้าเพิ่มความเข้มข้นทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาอาจลดลง เนื่องจากการรวมตัวกันของเอนไซม์หรือเกิดจากจำนวนซับสเตรทที่จำกัดที่เอนไซม์จะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เช่นกัน ซึ่งเกิดขึ้นได้เนื่องจากอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เกี่ยวกับการเพิ่มปฏิกิริยาความเป็นกรด-ด่างซึ่งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของหมู่กรดและเบสทั้งในโมเลกุลของเอนไซม์และซับสเตรท การแตกตัวของหมู่กรดและเบสเหล่านี้ขึ้นอยู่กับพีเอชของเอนไซม์และบางครั้งโครงสร้างทั้งหมดของโมเลกุลเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับเร่งปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับประจุของเอนไซม์หรือซับสเตรท ที่พีเอชต่ำหรือสูงเกินไป มักทำให้ประจุเปลี่ยนไปจนไม่เหมาะสมที่จะทำปฏิกิริยากันหรือมีส่วนที่ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติไปด้วย ดังนั้นเอนไซม์แต่ละชนิดย่อมจะทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช ที่เหมาะสม เรียกว่า optimum pH ซึ่งเป็นอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่พีเอชจะมีค่าสูงสุดด้วย นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะมีผลทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติเป็นเหตุทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลงด้วย อุณหภูมิที่เหมาะสมที่เอนไซม์จะทำงานได้ดีที่สุดเรียกว่า optimum-temperature ซึ่งอุณหภูมิโดยทั่วไปที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดนั้นจะอยู่ในช่วงประมาณ 30-50 องศาเซลเซียส แต่เอนไซม์บางตัวก็ยังสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่าได้เช่นกัน (ภาพที่ 3) (พจนานุกรมและคณะ, 2543)



ภาพที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ที่มา: ภิญ โย และคณะ (2554)

ประโยชน์ของเอนไซม์

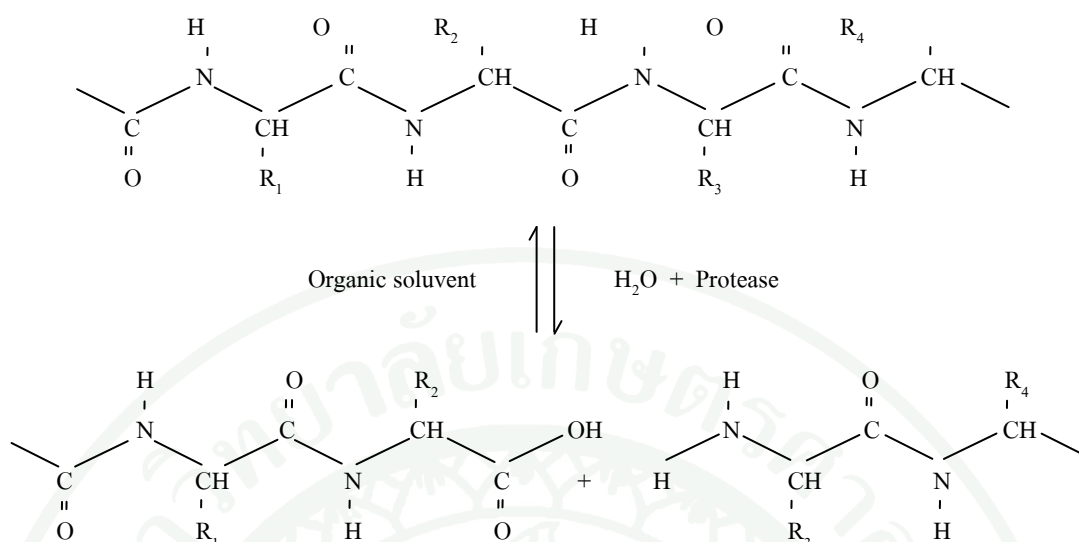
เอนไซม์ที่นำไปใช้ประโยชน์จะได้มาจากสิ่งมีชีวิตต่างๆ คือ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้เป็นปริมาณมากและรวดเร็ว ดังนั้นจึงได้มีการนำมาศึกษาและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์อย่างมากมาย เอนไซม์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติการทำงาน และการนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ในอุตสาหกรรมเคมีได้มีการนำเอาเอนไซม์ไปใช้ผลิตสารเคมีต่างๆ และปฏิกิริยาที่ใช้ผลิตสารเคมีก็มีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดก็ใช้เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยานั้นๆ ต่างกัน เช่น เอนไซม์ amino acid reductase จะเปลี่ยน tyrosine ไปเป็น L-tyrosine และสามารถที่จะนำไปใช้เตรียม 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) และเอนไซม์ penicillin amylase สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน penicillin G ไปเป็น 6-amino - penicillanic acid (6-APA) ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการเตรียม penicillin หรือกรดอะมิโนได้

นอกจากนี้ยังสามารถนำเอนไซม์ไปใช้เกี่ยวกับงานวิเคราะห์หาปริมาณสารต่างๆ ได้ ซึ่งสารพวกนั้นเกิดปฏิกิริยาโดยที่ปฏิกิริยานั้นมีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง แล้ววัดสารที่เกิดขึ้นหรือสารบางตัวที่ลดลงหรือวัดการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของสารบางตัวโดยใช้เอนไซม์ในการหาปริมาณ เช่น การใช้เอนไซม์ lactate dehydrogenase วัดหาปริมาณกรดแลคติก (lactic acid) โดยดูจากปริมาณของ NADH ที่เกิดขึ้น การใช้เอนไซม์ glucose oxidase ในการวัดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น (กัญญา, 2544)

เอนไซม์โปรติเอส (Protease enzyme)

ความหมายของเอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอส (Protease E.C. 3.4) เป็นเอนไซม์ที่สิ่งมีชีวิตผลิตขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic enzyme) ให้ได้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ หรือเป็นกรดอะมิโนอิสระโดยการสลายพันธะเปปไทด์ในสภาวะที่มีน้ำอยู่ในสารละลาย ซึ่งจะมีเฉพาะต่อพันธะเปปไทด์เป็นอย่างมาก โดยปกติเอนไซม์โปรติเอสเมื่อสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่จะอยู่ในรูปที่ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ (inactive form) ซึ่งเรียกว่า proenzyme หรือ zymogen เพื่อป้องกันการย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์ และจะอยู่ในรูปที่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ chymotrypsin จากตับอ่อนจะถูกสังเคราะห์ขึ้นในรูปของ chymotrypsin ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ หลังจากนั้นจะถูกส่งไปยังลำไส้เล็กและทำให้อยู่ในรูปที่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ โดยการตัดกรดอะมิโนบางส่วนออกไปโดยอาศัยเอนไซม์ทริปซินในลำไส้เล็กช่วยตัดกรดอะมิโนออก นอกจากนี้ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์พันธะเปปไทด์ในตัวทำละลายอินทรีย์หรือในตัวกลางที่มีปริมาณน้ำเล็กน้อยได้ (ภาพที่ 4) แต่ข้อจำกัดในการสังเคราะห์มีมากสาเหตุก็คือความสามารถในการสลายซับสเตรทในตัวทำละลายอินทรีย์ต่ำ เมื่อมีการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์จะได้ผลผลิตต่ำ นอกจากนี้ยังมีผลกระทบจากการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เพราะไม่สามารถประยุกต์ใช้งานเกี่ยวกับอาหารได้ (ธรรมรัตน์, 2544)



ภาพที่ 4 ปฏิกริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในสารละลายน้ำและปฏิกริยาการสร้างเปปไทด์
สารละลายอินทรีย์โดยเอนไซม์โปรติเอส

ที่มา: ชีระยุทธ (2549)

แหล่งที่มาของเอนไซม์โปรติเอส

แหล่งผลิตโปรติเอสที่สำคัญมาจากหลายแหล่ง เช่น จากสัตว์ พืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง
สิ่งมีชีวิตเล็กๆ พวกจุลินทรีย์ เช่น ราและแบคทีเรีย ซึ่งจะเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่ดีกว่าพืชและ
สัตว์ (ตารางที่ 2) เนื่องจากจุลินทรีย์มีวงจรชีวิตที่สั้นกว่า ดังนั้นจึงใช้พื้นที่และเวลาในการเลี้ยงที่
น้อยกว่าพืชและสัตว์ นั่นคือทำให้ลดต้นทุนการผลิตได้มากกว่า ในปัจจุบันพบว่า การนำเอนไซม์
โปรติเอสที่เสถียรต่อความร้อน (thermostable protease) มาประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมจะให้
ผลดีกว่าการใช้โปรติเอสที่ไม่เสถียรต่อความร้อน เพราะการเพิ่มอุณหภูมิในการกระบวนการใช้งาน
จะมีผลทำให้อัตราเร็วของการเร่งปฏิกริยาโดยเอนไซม์จะมีปริมาณสูงขึ้นและใช้เวลาในการเกิด
ผลิตภัณฑ์ลดลง ดังนั้นจึงสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตได้ด้วย นอกจากนี้ยังมีผลดีอีกหลาย
ประการ เช่น ทำให้ความสามารถในการละลายของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่แก๊สเพิ่มขึ้น
ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ และยังเพิ่มความเสถียรต่อการเสียดสภาพทาง
ธรรมชาติของเอนไซม์ได้ด้วย เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้โปรติเอสที่เสถียรต่อความร้อนได้รับความ
สนใจและได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์เป็นอย่างมาก (ศุภโชค, 2541)

แหล่งผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่สำคัญมาจากหลายแหล่ง สามารถจำแนก

3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โปรติเอสจากพืช

1. Papain (E.C. 3.4.22.2) ผลิตได้จากยางมะละกอ (*Carica papaya*) โดยปาเปนดิบ (raw papain) จะอยู่ในรูปที่เป็นเม็ดกรานูล ปาเปนทำงานได้ดีที่พีเอช 3-9 และทำงานได้ดีภายใต้ อุณหภูมิที่ 60-70 องศาเซลเซียส ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง
2. Bromelain (E.C. 3.4.22.4) ในอุตสาหกรรมเตรียมได้จากส่วนที่เป็นผลและก้านของ- สับปะรด (*Bromus spp.*) มีความเสถียรน้อย ทำงานได้ดีที่พีเอช 4-9 และทำงานได้ดีภายใต้ อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและทางเภสัชวิทยา
3. Ficin (E.C. 3.4.22.3) การเตรียมในอุตสาหกรรมได้จากน้ำหล่อเลี้ยงของต้นมะเดื่อ (*Ficus carica*) มีคุณสมบัติในการย่อยสลายพันธะของ aromatic acid ทำงานได้ดีที่พีเอช 5-8 และทำงานได้ดีภายใต้ อุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส ในบางประเทศใช้ ficin ในการแข็งตัวของนม

กลุ่มที่ 2 โปรติเอสจากสัตว์

1. Pancreatic protease ทางการค้าเป็นเอนไซม์ที่ผสมระหว่าง Trypsin (E.C. 3.4.21.4) และ Chymotrypsin (E.C. 3.4.21.2) ได้มาจากตับอ่อนของโค กระบือ แกะ และสุกร และยังมีเอนไซม์ peptidase, amylase และ lipase รวมอยู่ด้วย ซึ่ง pancreatic ได้มาจากการนำตับอ่อนมาทำให้แห้ง โดยวิธีคั่งน้ำออกได้เป็นสารตั้งต้นที่ยังทำงานไม่ได้ของ chymotrypsinogen, trypsinogen และ protease หลังจากนั้นเอนไซม์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยา (inactive) ดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ทำงาน ได้โดย enterokinase หรือ acidic protease จากเชื้อรา ซึ่งทำงานได้ดีในช่วง pH 7- 8 และทำงานได้ดี ภายใต้ อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เอนไซม์ดังกล่าวใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่เอนไซม์ที่ได้จาก animal pancreatic bovine ทำงานได้ดีที่พีเอช 7.5-8.5 และทำงานได้ดีภายใต้ อุณหภูมิที่ 37 องศา- เซลเซียส ใช้ในงานวิเคราะห์และการเพาะเลี้ยงเซลล์ทางการแพทย์
2. Pepsin (E.C. 3.4.4.1) ได้มาจากกระเพาะโคหรือกระเพาะสัตว์ จะใช้ร่วมกับrennin เพื่อ การผลิตชีส และในกระบวนการย่อย ทำงานได้ดีที่พีเอช 2-4 มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูงสุด

3. Rennin (E.C. 3.4.4.3) หรือ chymosin เป็นรูปของเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์จากเรนเนต (rennet) โดยเรนเนตสกัดได้มาจากกระเพาะส่วนที่สี่ของลูกโค เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะมาก โดยทำการย่อยน้ำนมวัวให้เปปไทด์ขนาดใหญ่ที่ละลายน้ำได้ คือ *K-casein* การแข็งตัวและการจับกลุ่มของ *para-k-casein* ทำให้เกิด solid casein jelly หรือ rennet curd

กลุ่มที่ 3 โปรติเอสจากจุลินทรีย์

เอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์เป็นแหล่งของเอนไซม์ที่มีราคาถูก สามารถผลิตได้ในปริมาณสูง ในอุตสาหกรรมสามารถเตรียมได้จากทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ เอนไซม์เหล่านี้จะมิต่างกันของพีเอชและอุณหภูมิต่างกัน อีกทั้งยังต่างกันในด้านความคงตัว ความไวต่อสารยับยั้ง เอนไซม์เหล่านี้มีความจำเพาะต่ำ (กัญญา, 2544)

1. Bacterial protease ที่ใช้ในทางการค้าที่สำคัญมี 2 แบบ ต่างกันที่พีเอช การทำงาน ความเสถียร และโครงสร้างของตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (active site) ได้แก่

1.1 Alkaline bacterial protease (E.C. 3.4.21.14) เช่น *B. subtilisin* ทำงานที่พีเอช 9-11 อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส มี serine residue อยู่ที่ active site ทางการค้าบางครั้งเรียกว่าเป็น detergent enzyme เช่น เอนไซม์ที่ได้จาก *B. licheniformis* และ *B. Subtilis* ผลิต bacterial alkaline protease จาก *Bacillus subtilis* โดยทำงานได้ในสภาวะที่พีเอช 9-10 และทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิที่ 50-70 องศาเซลเซียส ใช้ในงานในอุตสาหกรรมซักล้าง

1.2 Neutral bacterial protease (E.C. 3.4.24.4) เป็น metalloenzyme ทำงานที่พีเอช 6-9 เช่น เอนไซม์ที่ได้จาก *B. subtilis*, *B. thermoproteolyticus* และ *Streptomyces griseus* การเตรียมทางการค้าอยู่ในรูปที่เป็นผง ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง การผลิตเครื่องสำอาง ทำงานที่พีเอช 5.5-6.5 และทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส

2. Fungal protease (E.C. 3.4.23) เป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากเชื้อราสามารถจำแนกได้เป็น acidic, neutral หรือ alkaline protease ขึ้นอยู่กับพีเอชที่ใช้ในการทำงาน คุณสมบัติของเอนไซม์บางชนิด แสดงในตารางที่ 3 โดย acidic และ neutral protease จาก *Aspergillus* ใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง การทำขนมปัง สำหรับ alkaline protease ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เอนไซม์โปรติเอส

ที่สามารถผลิตได้จากเชื้อราได้แก่ acid fungal protease ได้จาก *Aspergillus oryzae* var. ทำงานในสภาวะที่พีเอช 2.5-3.0 และทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ใช้ในงานอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมอาหาร และ protein hydrolysis ได้จาก *Aspergillus flavus* ทำงานได้ดีที่พีเอช 5.5-8.5 และทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (กัญญา, 2544)

3. Yeast protease เป็นเอนไซม์ที่ผลิตได้จากยีสต์ มักใช้ในอุตสาหกรรมการทำเครื่องดื่มเบียร์ มีคุณสมบัติเหมือน acid protease ที่ได้จากพืช ตัวอย่างยีสต์ที่ใช้ ได้แก่ *Saacharomyces - uvarum* (carlsbergensis), *Candida olea* และ *Torulopsis magnolia* (กัญญา, 2544)

ประโยชน์ของเอนไซม์โปรติเอส ในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสามารถจำแนกได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 แหล่งของเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมและการประยุกต์ใช้

ชนิดของเอนไซม์	แหล่ง	การประยุกต์ใช้	ความสำคัญทางการค้า
Trypsin	Pancreas	Medical uses	+++
		Meat tenderizers	
		Beer haze removal	
Pepsin	Stomach	Digestive aid	+++
		Meat tenderizer	
α -Chymotrypsin	Stomach	Medical uses	+++
Rennet	Calf stomach	Cheese manufacture	
Pancreas protease	Pancreas	Digestive acid	
		Cleaning	++
		Leather bating	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิดของเอนไซม์	แหล่ง	การประยุกต์ใช้	ความสำคัญทางการค้า
Pancreas protease	Pancreas	Dehairing Feed improvement Digestive aid	
Papain	Papaya	Medical uses Beer haze removal Meat tenderizer Same as for papain	+++
Bromelain	Pineapple		++
Ficin	Ficus carida	Flavoring of sake	
Protease	<i>A. oryzae</i>	Haze removal in sake Feed	+
Protease	<i>A. niger</i>	Digestive aid Removal of gelatin	++
Protease	<i>B. subtilis</i>	from film (recovery of silver) Fish soluble	++
Protease	<i>Streptomyces griseus</i>	Meat tenderizer Removal of gelatin from film (recovery of silver) Fish soluble Meat tenderization	++

ที่มา: ศุภโชค (2541)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของโปรติเอสจากเชื้อรา

จุลินทรีย์	ช่วงพีเอช		ความเสถียรภาพที่	
	อีโมโกลบิน	เคซีน	เหมาะสมต่อ ค่าพีเอช	สารยับยั้ง*
<i>Aspergillus saitoi</i>	3.0-4.5	2.5-3.0	2.0-5.0	NBS*
<i>Aspergillus oryzae</i> (acidic protease)	3.0-4.0	2.5-3.0	5	
<i>Aspergillus oryzae</i> (neutral protease)	5.5-7.5	-	7	EDTA*
<i>Aspergillus oryzae</i> (alkaline protease)	6.0-9.5	6.5-10.0	7.0-8.0	DIFP*
<i>Paecilomyces varioti</i>	3.5-5.5	3	3.0-5.0	
<i>Rhizopus chinensis</i>	5	2.9-3.3	3.8-6.5	
<i>Mucor pusillus</i>	3.5-4.5	5.6	3.0-6.0	

หมายเหตุ: *NBS = N-bromosuccinimide
 *EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid
 *DIFP = diisopropylfluorophosphate

ที่มา: กัญญา (2544)

ชนิดของเอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอสสามารถจำแนกตามลักษณะการสลายพันธะเปปไทด์ได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้

1. Exopeptidase

เอนไซม์โปรติเอสที่ย่อยพันธะเปปไทด์ตรงปลายสายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) โดยแบ่งออกเป็นโปรติเอสที่ย่อยพันธะเปปไทด์ที่ปลายอะมิโน (N-terminal) ซึ่งเรียกว่า aminopeptidase

ได้แก่ leucine aminopeptidase และโปรติเอสที่ย่อยพันธะเปปไทด์ที่ปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) ซึ่งเรียกว่า carboxypeptidase เช่น carboxypeptidase A, serine carboxypeptidase จะมีกรดอะมิโน-เซอร์อินอยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ และ metallo-carboxypeptidase จะมีพวกไอออนของโลหะที่อยู่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ซึ่งจะมีส่วนช่วยในการทำงานของเอนไซม์ เป็นต้น exopeptidase ส่วนใหญ่จะทำหน้าที่ย่อยพันธะเปปไทด์ของสายเปปไทด์ที่เป็นสายสั้นๆ หรือชิ้นส่วนของโปรตีนขนาดเล็ก จึงมีชื่อเรียกว่า peptidase

2. Endopeptidase หรือ Proteinase

เอนไซม์โปรติเอสที่ย่อยพันธะเปปไทด์ที่อยู่ในสายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ที่ไม่ใช่บริเวณส่วนปลายสาย โดยที่ endopeptidase จะทำหน้าที่ย่อยโปรตีน หรือโพลีเปปไทด์สายยาวจึงมีชื่อเรียกว่า proteinase ซึ่ง endopeptidase สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะกลไกการเร่งปฏิกิริยา (ธรรมรัตน์, 2544)

2.1 Serine proteases (E.C. 3.4.21) เป็นกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสที่มีกรดอะมิโนเซอร์อินอยู่ในบริเวณเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ซึ่งกรดอะมิโนเซอร์อินมีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease ทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลางถึงสูง มักพบในสิ่งมีชีวิตพวกแบคทีเรีย และรา เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ elastase, trypsin และ chymotrypsin เป็นต้น นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถถูกยับยั้งได้ เมื่อเติม diisopropylphosphorofluoride (DPF) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของกรดอะมิโนเซอร์อิน ในบริเวณเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ และ phenylmethylsulphonyl fluoride (PMSF) เป็นตัวยับยั้งของโปรติเอสชนิดนี้ด้วย และเป็นที่นิยมใช้มากกว่าเพราะไม่มีอันตรายในขณะที่ใช้งานเหมือนกับ DPF เนื่องจาก DPF สามารถระเหยและไปจับกับ acetyl cholinesterase ที่อยู่ในระบบประสาทที่จะมีหน้าที่ทำลายสารสื่อประสาทที่นำกระแสประสาทจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง

2.2 Thiol protease หรือ Sulphydryl protease (E.C. 3.4.22) เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีกรดอะมิโน cysteine อยู่ในบริเวณเร่งปฏิกิริยาและมีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ มักพบในสิ่งมีชีวิตพวกพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์บางชนิดและในไรโซโซมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลางและยังถูกกระตุ้นการทำงานด้วย reducing agent เช่น HCN หรือ cysteine เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ papain และ ficin เป็นต้น นอกจากนี้ยังถูกยับยั้งอย่างรวดเร็วด้วย สารที่เรียกว่า sulphydryl reagent หรือ sulphydryl group (-SH) หรือกลุ่มไธออล ทำให้

หมู่อนุมูล sulphhydryl ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยาได้รับความกระทบกระเทือนจนอาจสูญเสียการเกิดปฏิกิริยาไปในที่สุด และ PMSF ยังสามารถยับยั้งกลุ่มไธโธลนี้ได้เช่นกัน ตัวอย่างของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ เช่น clastripain streptococcal protease เป็นต้น

2.3 Acid protease (E.C. 3.4.23) เป็นเอนไซม์กลุ่มที่มีกรดอะมิโน aspartic acid หรือ glutamic acid อยู่บริเวณเร่งปฏิกิริยาสามารถทำงานได้ดีและมีความเสถียรในช่วงพีเอช 3-4 และไม่มีพบว่ามีกรดอะมิโนตัวใดที่มีบทบาทสำคัญต่อบริเวณเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ มักจะพบได้ทั่วไปในยีสต์ เห็ดและรา เมื่อพิจารณาการทำงานของพีเอชของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ชี้ให้เห็นว่าในบริเวณเร่งของ acid protease จะมีหมู่คาร์บอกซิล (-COO) มากกว่า 1 หมู่ อยู่ในบริเวณเร่งปฏิกิริยามีค่า isoelectric point ต่ำ ประมาณ 3-5 พบว่า acid protease จากเชื้อรา มีคุณสมบัติคล้ายกับเอนไซม์เปปซิน และเรนิน ที่ได้จากสัตว์ จึงเรียกเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากเชื้อราในกลุ่มนี้ว่า pepsin-like acid protease ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้นมตกตะกอนได้ดี เชื้อราในกลุ่มที่ผลิต pepsin like acid-protease ได้แก่ *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus soitoi* เชื้อราในกลุ่มนี้ใช้ในการย่อยโปรตีนถั่วเหลือง ในอุตสาหกรรมทำชีอิ้ว เป็นชนิด emdopeptidase และพบว่า acid protease ไม่ไวต่อโลหะหนัก chelating agent, sulphhydryl agent และ DFP นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะต่อ aromatic หรือ bulky amino acid residue ที่ปลายสายคาร์บอกซิล และปลายสายกรดอะมิโน

2.4 Metalloprotease (E.C. 3.2.24) เป็นเอนไซม์โปรติเอสกลุ่มนี้มีไอออนของโลหะในโมเลกุลของเอนไซม์และมีส่วนร่วมในการเร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์ เช่น สังกะสี แมกนีเซียม และโคบอลต์ เอนไซม์ที่ศึกษากันมากเป็นเอนไซม์ที่ได้จากการผลิตของแบคทีเรีย และเชื้อรา เช่น *Bacillus subtilis*, *B. thermoproteolyticus*, *B. megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces griseus*, *Aspergillus oryzae* และ *Aeromonas proteolyticus* นอกจากนี้สารเคมีที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ สารที่เป็น metal chelating agent เช่น ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) ซึ่งจะไปจับกับอะตอมของโลหะในโมเลกุลของเอนไซม์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ metalloprotease สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (ตารางที่ 4) ดังนี้ (ธรรมรัตน์, 2544)

2.4.1 Neutral protease เป็นเอนไซม์โปรติเอสกลุ่มนี้จะถูกยับยั้งได้ด้วยสารที่เป็น metal chelating agent เช่น ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) มักพบในแบคทีเรียและราสามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกลางในช่วงพีเอช 7.0 ไอออนของโลหะที่อยู่ในโมเลกุลของ

เอนไซม์โดยทั่วไปเป็นสังกะสี สารพวกนี้จะจับกับอะตอมของสังกะสีในโมเลกุลของเอนไซม์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเอนไซม์กับตัวยับยั้ง ทำให้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาได้ช้าลง แต่จะไม่ถูกยับยั้ง

2.4.2 Alkaline protease เป็นเอนไซม์โปรติเอสกลุ่มนี้ผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ *Serratia* sp. เป็นต้น โปรติเอสชนิดนี้สามารถทำงานได้ดีที่เอช 7-9 และมีมวลโมเลกุลใหญ่กว่า neutral metal metalloprotease คือ มีมวลโมเลกุลประมาณ 48,000-60,000 ดาลตัน

2.4.3 Myxobacter protease I เป็นเอนไซม์กลุ่มนี้เป็น metalloprotease ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ Myxobacter เอนไซม์ชนิดนี้มีมวลโมเลกุลขนาดเล็ก คือ 14,000 ดาลตัน และมีพีเอชที่เหมาะสมในการทำงาน คือ พีเอช 9.0

2.4.4 Myxobacter protease II เป็นเอนไซม์กลุ่มนี้เป็น metalloprotease ที่ได้จากจุลินทรีย์ Myxobacter ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 17,000 ดาลตัน ทำงานในช่วงพีเอช 8.5-9.0 (ธรรมรัตน์, 2544)

เอนไซม์โปรติเอสได้มีการศึกษาและแบ่งกลุ่มมากมายทั้งลำดับของกรดอะมิโน serine-protease แบ่งออกเป็น 2 family ส่วนเอนไซม์ metalloprotease ประกอบด้วย 2 family คือ mammalian pancreatic carboxypeptidase และ bacterial protease ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดและแหล่งของเอนไซม์โปรติเอส

ชนิด	แหล่ง	คุณสมบัติ	ช่วงพีเอช		Mol.Wt. (approx.)	สารยับยั้ง
			ทำงาน สูงสุด	เสถียรภาพ สูงสุด		
Acid protease (Carboxypeptidase)	Fungi Bacteria	Pepsin-like Rennin-like (Milk-clotting)	2-5	2-6	35,000	DAN ^(a)
Neutral protease (Metalloprotease)	Bacteria Fungi	Zinc containing Stabilized by Ca ²⁺	7-8	7-9	45,000	EDTA ^(b)
Alkaline protease	Bacteria	Trypsin-like	9-11	5-10	27,500	PMSF ^(c)
	Fungi	Serine residue at the active center	(12)	(12)	(17,000)	DFP ^(d)

หมายเหตุ:

- (a) diazoacetyl norleucine methylester
- (b) ethylenediamine tetraacetic acid
- (c) phenylmethanesulfonyl fluoride
- (d) diisopropylphosphorofluoridate

ที่มา: ศุภโชค (2541)

ตารางที่ 5 เอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆที่ผลิตโดยจุลินทรีย์

Type	Particulate	Sample
Serine		
Trypsinlike	Basic amino acid (aa) residues at the carboxyl side of the splitting	<i>Streptomyces griseus</i> <i>S. tradiaa</i> <i>S. erythecus</i>
Alkaline	Aromatic or hydrophobic aa residue at the carboxyl side of the splitting point	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Saccharomuces cervisiae</i> <i>S. griseus</i> <i>Aspergillus cryzae</i>
Myxobacter-Y-lytic	Small aliphatic aa residue at the carboxylic side of the splitting point	<i>Sporangium</i> sp.
Staphylococcal	Aspartic or glutamic acid residue at the carboxylic side of the splitting point	<i>Staphylococcus aureus</i>
Thiol		
Clostripain	Basic aa residue at the carboxylic side of the splitting point	<i>Clostridium hystoliticum</i>
Streptococcal	Broad	Group A streptococci
Metal		
Neutral	Hydrophobic or bulky aa at the amino side of the splitting point	<i>Bacillus subtilis</i> <i>B. thermoproteolyticus</i> <i>B. cereus</i> <i>B. magisterium</i>

ตัวอย่างที่ 5 (ต่อ)

Type	Particulate	Sample
Neutral	Broad	<i>S. griseus</i> <i>A. oryzae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>C. hystolyticum</i> <i>B. amyloliquefaciens</i>
Alkaline		<i>Serratia sp.</i>
Myxobacter protease I	Low-molecular weighta residue at either Both sides of the splitting point	<i>Sporangium sp.</i>
Myxobacter protease II	Lysine residue at the amino acid of the splitting point	<i>Myxobacter AL-1</i>
Acid	Aromatic or hydropholic aa residue at sides of the splitting point	<i>A. oryzae</i> <i>A. niger</i> <i>Penicillium notatum</i> <i>Rhizopus chinensis</i> <i>Mucor pusillus</i> <i>M. miehei</i> <i>Endothia parasitice</i> <i>Candida albicans</i> <i>S. cerevisiae</i> <i>Rhodotoruls glutinis</i>

ที่มา: ศุภโชค (2541)

ตารางที่ 6 เอนไซม์โปรติเอสที่สามารถจำแนกตามลักษณะการสลายพันธะเปปไทด์

Family	Representative protease(s)	Characteristic active site residues
Serine protease I	Chymotrypsin	Asp ¹⁰² , Ser ¹⁹⁵ , His ⁵⁷
Serine protease II	Subtilisin	Asp ³² , Ser ²²¹ , His ⁶⁴
Cysteine protease	Papain	Cys ²⁵ , His ¹⁵⁹ , Asp ¹⁵⁸
Aspartic protease	Penicillopepsin	Asp ³³ , Asp ²¹³
Metalloprotease I	Bovine carboxypeptidase A	Zn, Glu ²⁷⁰ , Tyr ²⁴⁸
Metalloprotease II	Thermolysin	Zn, Glu ¹⁴³ , His ²³¹

ที่มา: ชีระยุทธ (2549)

สารยับยั้งโปรติเอส (Protease Inhibitor)

สารยับยั้งโปรติเอสเป็นสารในกลุ่มทริปซิน (trypsin) และสารยับยั้งไคโมทริปซิน (chymotrypsin inhibitors) โดยจะมีน้ำหนักโมเลกุล 6,000–10,000 ดาลตัน และมีพันธะไดซัลไฟด์ 7 คู่ ส่วนสารยับยั้งไคโมทริปซิน มีน้ำหนักโมเลกุล 20,000 ดาลตัน และมีพันธะไดซัลไฟด์ 2 คู่ ตามลำดับ สามารถพบสารยับยั้งโปรติเอสส่วนใหญ่ได้ในวัตถุดิบอาหารสัตว์กลุ่มพืชตระกูลถั่ว โดยเฉพาะถั่วเหลืองดิบจะพบในปริมาณที่สูงมาก

สารยับยั้งโปรติเอสสามารถส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตที่ลดลง โดยสารยับยั้งโปรติเอสจะไปรบกวนกระบวนการย่อยอาหาร การนำโปรตีนและกรดอะมิโนไปใช้ โดยไปลดการดูดซึมสารในโตรเจน เพื่อนำมาสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนั้นสารยับยั้งโปรติเอสยังมีส่วนต่อการการทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินในลำไส้เล็กให้มีประสิทธิภาพลดลง เพิ่มการสูญเสียโปรตีนจากร่างกายซึ่งจะสามารถตรวจพบสารประกอบไนโตรเจนในปัสสาวะมากขึ้น (วรวัฒน์, 2553)

ประโยชน์ของเอนไซม์โปรติเอสในการผลิตสัตว์

โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนให้ได้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ (short peptide) หรือกลายเป็นกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) เพื่อนำกรดอะมิโนเหล่านั้นมาใช้ในกระบวนการต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น โปรติเอสไม่เพียงแต่จะมี

ความสำคัญต่อกระบวนการในสิ่งมีชีวิต แต่ยังมีความสำคัญอย่างมากในอุตสาหกรรมหลายชนิด ได้แก่ อุตสาหกรรมเกี่ยวกับอาหาร เช่น การผลิตขนมปัง การผลิตเนยแข็ง และการทำให้เนื้อสัตว์อ่อนนุ่ม นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนังและการผลิตสารซักฟอก (detergent) โดยเอนไซม์โปรติเอสส่วนใหญ่จะถูกใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับสารซักฟอกเป็นส่วนใหญ่ คิดเป็น 89 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการซื้อขายเอนไซม์โปรติเอสทั้งหมด โปรติเอสส่วนใหญ่ที่ใช้ในอุตสาหกรรมมาจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยโปรติเอสจากแบคทีเรียมีปริมาณการใช้สูงกว่าโปรติเอสจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ในขั้นตอนการผลิตทางอุตสาหกรรมนั้นจะต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยทำให้เอนไซม์โปรติเอสเกิดการเสียสภาพธรรมชาติไปเนื่องจากความร้อน จึงได้ผลผลิตต่ำกว่าที่ควรและต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากต้องซื้อเอนไซม์โปรติเอสมาใช้ในกระบวนการผลิตใหม่ จึงได้มีการนำเอาเอนไซม์โปรติเอสทนความร้อน (thermostable protease) มาใช้ในอุตสาหกรรมแทนเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ทนความร้อน เพราะอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นในกระบวนการผลิตทำให้อัตราเร็วในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอสทนความร้อนสูงขึ้นและใช้เวลาในการเกิดผลิตภัณฑ์ลดลง ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำและเอนไซม์ไม่สูญเสียสภาพได้ง่ายเนื่องจากความร้อน เอนไซม์โปรติเอสทนความร้อนส่วนใหญ่ได้มาจากแบคทีเรียทนความร้อนที่แยกออกมาจากแหล่งต่างๆ เช่น จากน้ำทิ้งโรงงาน จากดินใกล้แหล่งน้ำพุร้อน หรือจากแหล่งน้ำพุร้อน เป็นต้น โปรติเอสทนความร้อนส่วนใหญ่ที่ได้รับความสนใจมักเป็นโปรติเอสนอกเซลล์ (extracellular protease) เพราะช่วยลดขั้นตอนในการแยกเอนไซม์ออกมาเนื่องจากแบคทีเรียในธรรมชาติผลิตเอนไซม์ออกมาได้ในปริมาณน้อยทำให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการที่จะนำไปใช้ประโยชน์ (ธรรมรัตน์, 2544)

การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์โปรติเอสในการเลี้ยงสัตว์

มงคล (2546) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอสเพื่อใช้ในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว โดยศึกษาจากการผลิตเอนไซม์โปรติเอสรวมจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นิยมใช้ในประเทศเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาเชื้อ *Bacillus* sp. ทั้งหมด 19 สายพันธุ์ พบว่า *Bacillus*-sp. FAS001 เหมาะสำหรับการผลิตเอนไซม์โปรติเอสมากที่สุด โดยเอนไซม์โดยรวมที่ผลิตได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม metallo-protease สามารถทำงานได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่ 3.0-8.0 และดีที่สุดที่ 6.0 นอกจากนี้ยังทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิ 35-65 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 80 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเหลือ 90 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาวะที่มีสารยับยั้งทริปซิน

การศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรติเอสรวมชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus sp.* FAS001 เทียบกับเอนไซม์ที่นำเข้าชนิดที่ 1 และ 2 ด้วยการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง และสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกร พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสรวมจากเชื้อ *Bacillus sp.* FAS001 มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม และเถ้า สูงกว่าการเสริมเอนไซม์นำเข้าชนิดที่ 2 ($P<0.05$) แต่แตกต่างกันไม่มีความสำคัญ เมื่อเทียบกับเอนไซม์นำเข้าชนิดที่ 1 สำหรับอาหารในทุกช่วงอายุของสุกร และมีแนวโน้มทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น (374.36, 363.83 และ 359.02 กรัมต่อวัน ตามลำดับ) มีค่าอัตราการแลกเนื้อต่ำ (1.47, 1.51 และ 1.52 ตามลำดับ) และสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกร พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus sp.* FAS001 มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบและโปรตีนโดยรวมสูงกว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการนำเข้าชนิดที่ 2 ($P<0.05$) มีรายงานการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสุกรรุ่นที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการเปรียบเทียบกันระหว่างอาหารกลุ่มที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์โปรติเอสกับอาหารกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ โปรติเอส พบว่า ค่าการย่อยได้ของลำไส้เล็กส่วนปลายของโปรตีนวัตถุดิบ และพลังงานดีขึ้น ($P<0.05$) (Ao *et al.*, 2010)

ยวพิน (2547) พบว่า ราเส้นใยสายพันธุ์ *Aspergillus oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้จำนวนมาก ในระหว่างการหมักอาหารเหลว (submerged fermentation) จึงได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากราเส้นใยในอาหารเหลว เพื่อเป็นอาหารเสริมในสัตว์ปีก ศึกษาผลของการทดลองในไก่ไข่ พบว่าลักษณะไก่ไข่ที่ได้รับเอนไซม์โปรติเอสมีความสม่ำเสมอของรูปร่าง (uniformity) ที่สูงกว่าไก่ไข่ที่ไม่ได้รับเอนไซม์โปรติเอส (61.14 และ 74.77 ตามลำดับ) โดยความสม่ำเสมอของรูปร่างเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ในไก่ไข่ และยังได้ทำการทดลองในไก่เนื้อ พบว่าการใช้เอนไซม์โปรติเอสในไก่เนื้อได้น้ำหนักตัวเฉลี่ย (2.06 และ 2.18 กิโลกรัม ตามลำดับ) น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) (53.18 และ 56.34 กรัมต่อวัน ตามลำดับ) และค่าดัชนีการผลิต (301.89 และ 326.79 ตามลำดับ) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

Vieira *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพและการใช้ประโยชน์ของกรดอะมิโนในไก่เนื้อ โดยการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในอาหารในระดับที่แตกต่างกันคือ 0, 100, 200, 400, 800 และ 1,600 กรัมต่อตัน พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในอาหารไก่เนื้อไม่มีการตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญของการเพิ่มน้ำหนักตัว แต่ทำให้ประสิทธิภาพของอาหารที่กินที่เสริมเอนไซม์ในอาหารดีขึ้นอย่างสม่ำเสมอในช่วงน้ำหนักตัวที่ 40 วัน ($P\leq 0.05$) การย่อยได้ของลำไส้เล็กส่วนปลายมีเมทาไบโอไนน์และฮีสติดีนเพิ่มขึ้น ($P\leq 0.01$)

จากการศึกษาของ Walk *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาการเสริมเอนไซม์ร่วมต่อการย่อยได้ของกรดอะมิโนในส่วนของลำไส้เล็กส่วนปลายในช่วงอายุที่ 18 วัน โดยอาหารทดลองแบ่งเป็นอาหารสูตรควบคุม (Positive Control (PC); 0.90% Ca และ 0.45% P) อาหารกลุ่มทดลอง (Negative Control (NC); 0.80% Ca และ 0.35% P) อาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์ ไลเฟส (NC+phytase) อาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์โปรติเอส (NC+protease) อาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์แซแลนเนส (NC+xylanase) อาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์ไลเฟสและโปรติเอส (NC+phytase+protease) อาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์ไลเฟสและแซแลนเนส (NC+phytase+xylanase) และอาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์ไลเฟส โปรติเอสและแซแลนเนส (NC+phytase+protease+xylanase) พบว่า การเสริมเอนไซม์แต่ละชนิดไม่ส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินและน้ำหนักตัวเฉลี่ย แต่เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่าง NC+phytase และ NC+protease ในวันที่ 7 ของการทดลอง พบว่าการเสริมเอนไซม์ไลเฟสในอาหารดีขึ้นกว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอส ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง (NC) และกลุ่มทดลองที่เสริมโปรติเอส (NC+protease) ในวันที่ 18 ของการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสุกรอนุบาล โดยใช้โปรตีนในสูตรอาหาร 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีนที่ 20.3 เปอร์เซ็นต์ และ 18.3 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่ไม่เสริมเอนไซม์โปรติเอส พบว่าสุกรอนุบาลที่เสริมเอนไซม์โปรติเอสมีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน และพลังงานดีขึ้น (2.2, 3.5 และ 2.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ($P<0.01$) (Wang *et al.*, 2010)

Péron *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาการเสริมเอนไซม์รวม XAP (Avizyme 1500) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและการย่อยได้ของไก่เนื้อ โดยเอนไซม์รวม XAP (Avizyme 1500) ชนิดนี้ได้แก่ เอนไซม์อะไมเลส (amylase enzyme) เอนไซม์โปรติเอส (protease enzyme) และเอนไซม์ แซแลนเนส (xylanase) พบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ย และปริมาณอาหารที่กินดีขึ้น ซึ่งการเติม XAP ส่งผลต่อสมรรถภาพและค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอาหารกลุ่มทดลองเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารกลุ่มควบคุม ($P>0.05$)

มีบางรายงานกล่าวว่า ระดับโปรตีนในอาหารที่สูงขึ้น มีโอกาสโน้มนำให้เกิดอาการท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านมได้ ดังนั้นการปรับระดับโปรตีนในอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญมาก เนื่องจากจะมีผลต่อสุขภาพและการเจริญเติบโตของลูกสุกรหลังหย่านมได้ แต่ถึงแม้ว่าจะลดปริมาณของโปรตีนในอาหารลง แต่ยังคงต้องปรับระดับของกรดอะมิโนที่จำเป็นเอาไว้ จึงเป็นเหตุผลที่มีการใช้กรดอะมิโนสังเคราะห์ทดแทนในอาหารสัตว์ (รินทร์ภักดิ์, ม. ป. ป.)

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้ ได้แบ่งออกเป็นการวิจัยย่อยจำนวน 2 การทดลอง กล่าวคือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของ
วัตถุแห้ง โปรตีน และพลังงานของสุกกระยะอนุบาล

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุก
ระยะอนุบาล

โดยแต่ละการทดลองมีรายละเอียดวิธีการทดลอง ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1

ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน
และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของสุกกระยะอนุบาล

สมมติฐานการทดลอง

การลดระดับโปรตีนในอาหารลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมจะส่งผลต่อค่า-
สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ให้ต่ำลง เนื่องจากการ
ลดระดับโปรตีนลงจากอาหารทดลอง 8 เปอร์เซ็นต์ อาจทำให้สัตว์ไม่สามารถนำเอาโปรตีนจาก
อาหารที่กินไปใช้ประโยชน์ในการสร้างโปรตีนที่ใช้ในร่างกายได้เท่าที่ควร และเมื่อเสริมเอนไซม์
โปรติเอสในระดับที่แตกต่างกันอาจจะช่วยให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน และ
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้นหรือเทียบเท่ากับอาหารกลุ่มควบคุม

อุปกรณ์การทดลอง

1. กรงเมแทบอลิคที่ใช้ในการศึกษาค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (metabolic cage)
2. เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัล
3. เครื่องชั่งน้ำหนัก
4. กระดาษลิทมัส
5. สำลี
6. ผ้าขาวบาง
7. กรวยกรอง
8. เกรียงแซะ
9. ลวดตาข่าย
10. ถังพลาสติก
11. ถังพลาสติก
12. ขวดพลาสติก
13. ตู้แช่แข็ง
14. โครมิกออกไซด์ (chromix oxide)
15. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 6 N

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้สุกรลูกผสมสองสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) ระยะอนุบาลอายุ 7 สัปดาห์ จำนวน 24 ตัว เพศผู้ตอนทั้งหมด น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 10 กิโลกรัม แบ่งสุกรออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ซ้ำละ 1 ตัว สุ่มสุกรแต่ละกลุ่มไว้ในแต่ละกรงเมแทบอลิคที่ใช้ในการศึกษาค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (metabolic cage) โดยมีการให้น้ำและอาหารเต็มที่ (*ad libitum*) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 กรงเมแทบอลิกที่ใช้ในการศึกษาค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (metabolic cage)

อาหารทดลอง

สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 : อาหารกลุ่มควบคุม (positive control)

สูตรที่ 2 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหารกลุ่มควบคุม

สูตรที่ 3 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหารกลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน

สูตรที่ 4 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหารกลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อตัน

สูตรแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่ใช้ในการทดลองอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ในระยะ 7 วันแรกของการทดลอง เพื่อให้สัตว์เกิดความคุ้นเคยกับกรงและอาหาร หลังจากนั้นให้อาหารทดลองที่

ผสมโครมิกออกไซด์ที่ระดับ 0.3 เปอร์เซ็นต์ โดยผสมโครมิกออกไซด์กับอาหารผงบ่อนนำไปให้
สุกรกินเป็นระยะเวลา 5 วัน สามารถดูส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองใน
ตารางที่ 7

แหล่งของเอนไซม์โปรติเอสได้มาจากผลิตภัณฑ์ RONOZYME® ProAct™ ซึ่งเป็น
ผลิตภัณฑ์ทางการค้าของบริษัท ดี เอส เอ็ม นิวทริชั่นเนล โปรดักส์ จำกัด ผลิตจาก *Bacillus*
licheniformis โดยเอนไซม์โปรติเอสที่มีลักษณะเป็นเม็ดและมีสารเคลือบผิว ซึ่งช่วยป้องกันการ
ย่อยสลายโดยน้ำย่อยภายในทางเดินอาหารมีความสามารถในการทำงาน (activity) 75,000 U/กรัม
ผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสุกรระยะอนุบาลที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ	ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ (เปอร์เซ็นต์)	
	Positive Control	Negative Control
ข้าวโพดบด	30.94	35.6
กากถั่วเหลือง (46 % CP)	12.1	7.5
ข้าวโพดเอ็กทรา	10	10
ปลายข้าวเอ็กทรา	13.34	13.34
ถั่วเหลืองไขมันเต็ม	16.67	16.67
กากถั่วเหลืองหมัก	3.34	3.34
น้ำมันรำข้าว	0.67	0.6
รำข้าวสาลี	3.33	3.34
เนื้อและกระดูกหมูปน	6.67	6.67
โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต	0.77	0.78
หินฟูน	0.72	0.75
เกลือ	0.22	0.21
แอล-ไลซีน	0.29	0.3
แอล-ทรีโอนีน	0.02	0.02

ตารางที่ 7 (ต่อ)

วัตถุดิบ	ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ (เปอร์เซ็นต์)	
	Positive Control	Negative Control
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.1	0.09
สารแต่งกลิ่น	0.07	0.07
สารผสมล่วงหน้าวิตามินแร่ธาตุ ¹	0.2	0.2
รวม	100	100
องค์ประกอบทางโภชนาการโดยการคำนวณ (เปอร์เซ็นต์)		
โปรตีน	22	20.25
ค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	3400	3400
เยื่อใย	2.72	2.65
ไขมัน	7.54	7.64
เถ้า	5.55	5.37
ไลซีน	1.4	1.3
เมทไธโอนีน	0.45	0.41
เมทไธโอนีน + ซีสทีน	0.8	0.73
ทรีโอนีน	0.85	0.78
ทริปโตเฟน	0.24	0.22
แคลเซียม	0.9	0.9
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	0.7	0.68
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.45	0.45

หมายเหตุ สารผสมล่วงหน้าวิตามินแร่ธาตุ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 4.00 MIU; วิตามินดี 0.4 MIU; วิตามินอี 15,000 IU; วิตามินเค 1 กรัม; วิตามินบี1 0.5 กรัม; วิตามินบี2 2.0 กรัม; วิตามินบี6 1.0 กรัม; วิตามินบี12 0.01 กรัม; กรดแพนโททีนิก 6 กรัม; ไนอาซิน 12 กรัม; ไบโอติน 0.08 กรัม; ซีลีเนียม 0.1 กรัม; ธาตุเหล็ก 40 กรัม; แมงกานีส 7.5 กรัม; สังกะสี 40 กรัม; ทองแดง 2.5 กรัม; และไอโอดีน 0.5 กรัม

การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างใช้วิธีการเก็บแบบ indirect method โดยหลังจากให้อาหารทดลองทั้ง 4 สูตร ผสมโครมิกออกไซด์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ให้สุกรกินเป็นระยะเวลา 5 วัน เมื่อมูลเริ่มมีสีเขียวของโครมิกออกไซด์ให้เริ่มเก็บมูล โดยดูจากความสม่ำเสมอของสีเขียวของโครมิกออกไซด์ นำตัวอย่างมูลที่เก็บได้ประมาณ 200 กรัมต่อวัน และตัวอย่างปัสสาวะตัวละ 200 มิลลิลิตร ความเป็นกรดในมูลและปัสสาวะ โดยการเติมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 6 N ตรวจสอบด้วยกระดาษลิตมัส (ค่าพีเอชอยู่ที่ประมาณ 5) เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจนไปในรูปของแอมโมเนีย จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างมูลและตัวอย่างปัสสาวะในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมูลทั้งหมดที่เก็บในระยะเวลา 5 วันมาอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนมูลแห้งและบดละเอียด ผสมมูลทั้งหมดเข้าด้วยกัน ลดปริมาณตัวอย่างลงเหลือ 200 กรัม ส่วนปัสสาวะทั้งหมดในแต่ละวันผสมเข้าด้วยกัน สุ่มตัวอย่างปัสสาวะ 200 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบของพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1.1. วิเคราะห์ตัวอย่างอาหารและมูล โดยหาปริมาณโครมิกออกไซด์ด้วยวิธี proximate-analysis (A.O.A.C., 1980) โดยวิธีของ Bolin *et al.* (1952)

1.2. วิเคราะห์หาการย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีนและไขมัน ด้วยวิธี proximate analysis (A.O.A.C., 1980) และวิเคราะห์พลังงานด้วย Bomb calorimeter ด้วยวิธีของ อังคณา และดวงสมร (2532) โดยใช้สมการดังนี้

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ (%)

$$= 100 - \left\{ \frac{100 \times (\% \text{ โครมิกออกไซด์ของอาหารที่กิน} \times \% \text{ ความชื้นในมูล})}{(\% \text{ ความชื้นของอาหารที่กิน} \times \% \text{ โครมิกออกไซด์ในมูล})} \right\}$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมดตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่บันทึกจากการทดลอง ได้แก่ ค่าปริมาณโครมิกออกไซด์ การย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน และพลังงาน มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลอง โดยวิธีการ Duncan's new-multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปโดยมีแบบหุนทางสถิติ (statistical-model) คือ

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

โดยที่ Y_{ij} คือ ค่าสังเกตจากทรีเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j

μ คือ ค่าเฉลี่ยรวม

T_i คือ อิทธิพลของทรีเมนต์ (treatment effect)

E_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

การทดลองที่ 2

ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

สมมติฐานการทดลอง

การลดระดับโปรตีนจากอาหารกลุ่มควบคุมลง 8 เปอร์เซ็นต์จะทำให้สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลต่ำลง และเมื่อเสริมเอนไซม์โปรติเอสในระดับที่แตกต่างกันจะช่วยทำให้สมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลดีขึ้น

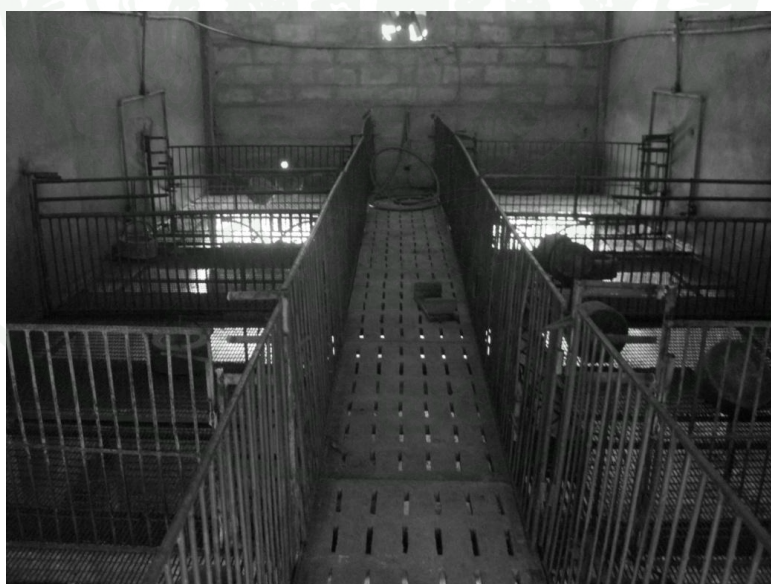
อุปกรณ์การทดลอง

1. โรงเรือนที่ใช้เลี้ยงสุกรเป็นโรงเรือนแบบเปิด ซึ่งคอกที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็นคอกย่อยๆจำนวน 20 คอก ขนาดคอกละ 1.5 x 2.0 เมตร แต่ละคอกใช้เลี้ยงสุกรจำนวน 8 ตัว (ดังภาพที่ 6-8)

2. เครื่องชั่งน้ำหนัก
3. อุปกรณ์ให้อาหาร
4. อุปกรณ์ให้น้ำ
5. เทอร์โมมิเตอร์
6. ลวด
7. ถูพลาสติก
8. หลอดเก็บตัวอย่างเลือด
9. กล่องสำหรับใส่ตัวอย่างเลือด



ภาพที่ 6 สภาพภายนอกของโรงเรือนที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 7 ภาพภายในห้องที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 8 ลักษณะคอกสุกรที่ใช้ในการทดลอง

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (ดуроค x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) ที่อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 160 ตัว (เพศผู้ 80 ตัว เพศเมีย 80 ตัว) น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 7 กิโลกรัม แบ่งสุกรออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 8 ตัว (เพศผู้ 4 ตัว เพศเมีย 4 ตัว) ทำการทดลองสุกรเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ โดยมีการให้น้ำและอาหารเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลองโดยสุกรทุกตัวได้รับวัคซีน อหิวาห์ที่อายุ 6 สัปดาห์

อาหารทดลอง

สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 : อาหารกลุ่มควบคุม (positive control)

สูตรที่ 2 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหาร กลุ่มควบคุม

สูตรที่ 3 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหาร
กลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน

สูตรที่ 4 : อาหารกลุ่มทดลอง (negative control) ที่ลดระดับโปรตีนลง (CP) 8 % จากอาหาร
กลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อตัน

การเก็บตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่างอาหาร

สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารทดลองในแต่ละสูตรประมาณ 1 กิโลกรัม นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ
4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาต่อไป

2. การเก็บตัวอย่างเลือด

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดสุกร จำนวน 2 ตัว ในแต่ละซ้ำ ปริมาณ 3-5 มิลลิลิตร นำไปเก็บไว้ที่
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อส่งตรวจ total blood urea nitrogen (BUN)

การบันทึกผลการทดลอง

ชั่งน้ำหนักสุกรทดลองจำนวน 2 ครั้ง คือ เมื่อเข้าทดลองและเมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง เพื่อ
คำนวณอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน บันทึกน้ำหนักอาหารที่กินต่อสัปดาห์ เพื่อคำนวณประสิทธิภาพ
การกินได้ ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อตัว อัตราการแลกน้ำหนัก และบันทึกการตายของสุกร
การบันทึกข้อมูลต่างๆ เพื่อใช้ในการคำนวณสมรรถภาพการผลิตของสุกร ดังนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต (กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

(average daily gain)

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้} - \text{ปริมาณอาหารที่เหลือ}}{(\text{จำนวนสุกรทั้งหมด} \times \text{จำนวนวันที่เลี้ยง})}$$

(average daily feed intake)

$$\text{อัตราการแลกน้ำหนัก} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

(feed conversion ratio)

$$\text{อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนสุกรที่ตาย} \times 100}{\text{จำนวนสุกรเมื่อเริ่มการทดลอง}}$$

(mortality rate)

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและโภชนะของอาหารทดลอง ได้แก่ ความชื้น วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน เยื่อใยและเถ้า ด้วยวิธี Proximate analysis (A.O.A.C., 1990) และวิเคราะห์พลังงาน ด้วย Bomb calorimeter (อังคณา และดวงสมร, 2532)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่บันทึกจากการทดลอง ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน อัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกน้ำหนัก ค่า total blood urea nitrogen และอัตราการตาย มาเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธีการ Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปโดยมีแบบหุ่นทางสถิติ (statistical model) คือ

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

โดยที่ Y_{ij} คือ ค่าสังเกตจากทรีเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j

μ คือ ค่าเฉลี่ยรวม

T_i คือ อิทธิพลของทรีเมนต์ (treatment effect)

E_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

1. ผลิตอาหารทดลอง ณ บริษัท ไบโอ-เจน ฟีดมิลล์ จำกัด อ. เมือง จ. ลำพูน
2. ศึกษาสมรรถภาพของสุกรระยะอนุบาล ณ ไบโอ-เจน ฟาร์ม อ. เมือง จ.ลำพูน
3. การศึกษาค่าการย่อยได้ของโภชนะ ณ สถานีวิจัยทับทวง สถาบันสุวรรณวาลกสิกิจ ฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ. แก่งคอย จ. สระบุรี
4. วิเคราะห์หองค์ประกอบของโภชนะของอาหารทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม
5. วิเคราะห์หาวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน พลังงาน และปริมาณโครมิกซ์ออกไซด์ในอาหารทดลอง ปัสสาวะ และมูลสุกร ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

ระยะเวลาทำการวิจัย

การทดลองเริ่มต้นเดือน มิถุนายน พ .ศ. 2554
สิ้นสุดการทดลองเดือน กันยายน พ .ศ. 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการย่อยได้ของโภชนะของสุกรระยะอนุบาล

ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะ

ผลการทดลองพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างอาหารกลุ่มควบคุมและอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุม มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบสูงขึ้น แต่มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีน ไกมันและพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ มลฤดี และคณะ (2555) รายงานการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสุกรรุ่น พบว่าเมื่อลดระดับโปรตีนและกรดอะมิโนในอาหารลง 7.5 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมส่งผลทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีนและพลังงานแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และจากการรายงานของ Deng *et al.* (2007) รายงานว่า เมื่อให้อาหารที่มีระดับโปรตีนที่ 18.2, 16.5, 15.5, 14.5 และ 13.6 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสุกรรุ่นที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนที่ 13.6 เปอร์เซ็นต์มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนต่ำกว่าอาหารทุกกลุ่ม

การทดลองการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 และ 200 กรัมต่อตันในอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุม พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อตัน มีแนวโน้มเพิ่มค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบและโปรตีน ($P=0.0568$ และ $P=0.0555$ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ มลฤดี และคณะ (2555) ที่พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในอาหารสุกรรุ่น ทำให้มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีนและพลังงานแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) บางรายงานของ Wang *et al.* (2010) ศึกษาการเสริมอัลคาไลน์โปรติเอสสามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ของโปรตีนในอาหาร เนื่องจากสุกรวัยอ่อนมีการพัฒนาระบบการย่อยอาหารและผลิตน้ำย่อยยังไม่สมบูรณ์ และยังมีการผลิตกรดเกลือได้ไม่ดี (Leibholz, 1984) ทำให้การเสริมอัลคาไลน์โปรติเอสส่งผลให้สามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ของ

โปรตีนในอาหารได้ และจากการศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการย่อยได้ของโปรตีน ไขมันและพลังงานของลำไส้เล็กส่วนปลายในอาหารไก่เนื้อ พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสทำให้ มีค่าการย่อยได้ของโปรตีน ไขมันและพลังงานเพิ่มขึ้น (Maiorka *et al.*, 2009) แต่มีบางรายงานของ Adrizal *et al.*, 2011 รายงานการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในอาหารสุกรอนุบาล โดยศึกษาโปรตีนที่ 2 ระดับ คือ 20.3 เปอร์เซ็นต์โปรตีน (High protein; HP) และ 18.3 เปอร์เซ็นต์โปรตีน (Low protein; LP) ร่วมกับการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ 0 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีค่าการย่อยได้ ของวัตถุแห้งดีขึ้น 3.5 เปอร์เซ็นต์ ค่าการย่อยได้ของโปรตีนดีขึ้น 2.2 เปอร์เซ็นต์และค่าการย่อยได้ ของพลังงานเพิ่มขึ้น 2.3 เปอร์เซ็นต์ (Yan *et al.*, 2011)

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการใช้ประโยชน์ได้ของวัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของสุกรระยะอนุบาล

องค์ประกอบทางเคมี	กลุ่มทดลอง*				Pooled SE	P value
	1	2	3	4		
วัตถุแห้ง (%)	78.9 ^b	81.2 ^a	79.6 ^{ab}	80.9 ^a	0.31	0.0568
โปรตีน (%)	76.8 ^{ab}	76.7 ^{ab}	74.8 ^b	78.5 ^a	0.44	0.0555
ไขมัน (%)	72.3	72.1	66.7	68.7	1.18	0.304
พลังงานรวม (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	4,605	4,612	4,699	4,669	19.44	0.3038
พลังงานที่ย่อยได้ (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	3,742	3,781	3,732	3,831	16.3	0.1563
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	3,594	3,627	3,582	3,691	16.32	0.1076

^{a,b} อักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.0568) และ (P=0.0555) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนาในงานทดลองของ มลฤดี และคณะ (2555) และสุพิชญา และคณะ (2555) พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสของสุกรระยะเล็ก-ขุน และไก่เนื้อไม่สามารถช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโภชนาได้ แต่จากการทดลองการเสริมเอนไซม์

โปรตีนของสุกรอนุบาลสามารถช่วยปรับปรุงการย่อยได้ของโภชนาดีขึ้น ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดของเอนไซม์โปรตีนที่เสริมกับวัตถุดิบในอาหาร ระดับการเสริมเอนไซม์ ความคงทนของเอนไซม์ต่อกระบวนการผลิตอาหาร ความคงทนของเอนไซม์ในทางเดินอาหารของสัตว์ การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารกับเอนไซม์ภายในร่างกายสัตว์ ชนิดของแหล่งโปรตีน และอายุของสัตว์ (Simbaya *et al.*, 1996) นอกจากนี้เอนไซม์โปรตีนที่ใช้ในการทดลองเป็นเอนไซม์ชนิดอัลคาไลน์โปรติเอส (alkaline protease) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง (สุพิชญา และคณะ, 2555) เมื่อสัตว์กินอาหารที่มีเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสผ่านกระเพาะอาหารที่มีค่าพีเอชที่ 3.02-3.95 (Rice *et al.*, 2002; Canibe *et al.*, 2005) จะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารได้ จากการศึกษาการเสริมเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสใน *In vitro* โดยมีการจำลองอุณหภูมิ เวลา และค่าพีเอชที่ใกล้เคียงกับกระเพาะอาหารของไก่เนื้อ พบว่าสภาวะที่เป็นกรดอาจส่งผลต่อความสามารถในการย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลองของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสลดลง (สุพิชญา และคณะ, 2555) ซึ่งแตกต่างจากงานทดลองค่าการย่อยได้ของการเสริมเอนไซม์โปรตีนในสุกรอนุบาล โดยเอนไซม์โปรตีนที่ใช้ในการทดลองเป็นเอนไซม์ชนิดเซอรีนโปรติเอส (serine protease) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่างเช่นเดียวกัน แต่เอนไซม์โปรตีนที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกเคลือบ (coated) ด้วยไขมัน ซึ่งจะช่วยให้เอนไซม์เซอรีนโปรติเอสผ่านเข้าไปในกระเพาะอาหาร โดยไม่ถูกย่อยด้วยกรดเกลือและน้ำย่อยต่างๆ ภายในตัวสัตว์ได้ ทำให้สัตว์สามารถนำแหล่งโปรตีนที่ได้จากอาหารไปใช้ประโยชน์ร่วมกับการเสริมเอนไซม์โปรตีนได้

การทดลองที่ 2

ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะของอาหารทดลอง

ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะต่างๆ ในอาหารสุกรระยะอนุบาลที่ใช้ในการทดลองที่ 1 แสดงไว้ในตารางที่ 7 พบว่าค่าการวิเคราะห์ทางเคมีของวัตถุดิบ โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ และพลังงานรวมของอาหารแต่ละกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 9) มีค่าใกล้เคียงกันกับผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะต่างๆ ที่ได้จากการคำนวณ แต่ค่าวิเคราะห์ทางเคมีของโปรตีนทุกกลุ่มมีค่ามากกว่าที่คำนวณไว้ แต่ค่าโปรตีนยังคงมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันในอาหารกลุ่มควบคุมและอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุม จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่าโปรตีนที่ได้จากการวิเคราะห์สูงกว่าค่าโปรตีนที่ได้จากการคำนวณ อาจเกิดจากวัตถุดิบตัวอื่นที่ใช้ในการทดลองมีระดับโปรตีนที่สูงกว่าค่าที่นำมาใช้ในการคำนวณ วัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่ใช้ อาจเกิดความแปรปรวนของระดับโภชนะ ซึ่งส่งผลต่อตัวอย่างของวัตถุดิบที่นำมาวิเคราะห์ ทำให้การวิเคราะห์ของอาหารที่ใช้ในการทดลองมีระดับโปรตีนที่สูงกว่าอาหารที่คำนวณไว้

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารสุกรระยะอนุบาล

องค์ประกอบทางเคมี	กลุ่มการทดลอง			
	กลุ่ม 1	กลุ่ม 2	กลุ่ม 3	กลุ่ม 4
วัตถุแห้ง (%)	90.23	90.67	90.67	90.14
โปรตีน (%)	22.34	20.37	20.17	20.46
ไขมัน (%)	7.67	7.64	7.59	7.70
เยื่อใย (%)	2.38	2.05	1.71	1.83
เถ้า (%)	5.63	5.35	5.37	5.36
พลังงานรวม (กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม)	4661	4620	4648	4675

หมายเหตุ: กลุ่มทดลองดังนี้

- 1 อาหารกลุ่มควบคุม
- 2 อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์
- 3 อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์และเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน
- 4 อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์และเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อตัน

สมรรถภาพการผลิต

ผลจากการทดลองสมรรถภาพการผลิตพบว่าอาหารกลุ่มควบคุม และอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล ($P>0.05$) และเมื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล พบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ประสิทธิภาพของอาหารที่กินและปริมาณอาหารที่กินต่อวันมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และอาหารทดลองที่ไม่เสริมเอนไซม์โปรติเอสและอาหารที่เสริมเอนไซม์โปรติเอสไม่ช่วยในการปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ มลฤดี และคณะ (2555) พบว่าการลดระดับโปรตีนลง 7.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ทำให้อัตรา-

การเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันและอัตราการแลกเนื้อของสุกรระยะเล็กลง (น้ำหนัก 22-100 กิโลกรัม) มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) บางรายงานของ Maiorka *et al.* (2009) พบว่าเมื่อเสริมเอนไซม์โปรติเอสในอาหารไก่เนื้อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เสริมเอนไซม์โปรติเอสทำให้อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและประสิทธิภาพของอาหารที่กินดีขึ้น ($P>0.05$)

วิโรจน์ และคณะ (2537) รายงานระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหารลูกสุกรหย่านม (น้ำหนัก 5-10 กิโลกรัม) โดยทดลองการใช้โปรตีนในระดับที่ต่างกัน คือ 22, 20 และ 18 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนพบว่ากลุ่มลูกสุกรหย่านมที่ได้รับโปรตีนในระดับ 22 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและปริมาณอาหารที่กินต่อวันดีขึ้นกว่ากลุ่มลูกสุกรหย่านมที่ใช้ระดับโปรตีนที่ 20 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$)

ตารางที่ 10 ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาล

สมรรถภาพการผลิต	อาหารทดลอง*				Pooled	P value
	1	2	3	4		
น้ำหนักตัวเริ่มต้น (กิโลกรัม)	7.9	7.8	7.8	7.8	0.12	-
น้ำหนักตัวสุดท้าย (กิโลกรัม)	20.9	20.4	20.5	19.4	0.36	-
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน)	372.2	359.9	362.2	329.6	11.5	0.9237
ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน (กรัมต่อวัน)	665.7	677.8	675.8	685.5	11.4	0.6862
ประสิทธิภาพของอาหารที่กิน	1.82	1.90	1.88	2.10	0.05	0.8390
ระดับไนโตรเจนในกระแสเลือด (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	13.3	12.5	12.2	11.8	0.6	0.8339
อัตราการตาย (%)	0	2.5	2.5	2.5	1.08	0.8014

*1 = อาหารกลุ่มควบคุม; 2 = อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนจากอาหารกลุ่มควบคุมลง 8 เปอร์เซ็นต์;
3 = อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์และเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อดัน;
4 = อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์และเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 200 กรัมต่อดัน

จากการทดลองสมรรถภาพการผลิตอาหารที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมและการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 และ 200 กรัมต่อตันไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต เนื่องจากอาหารที่ใช้ในการทดลองทุกกลุ่มการทดลองมีระดับโปรตีนมากกว่าที่คำนวณไว้ จึงทำให้สุกรที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนที่เพียงพอต่อความต้องการต่อตัวสัตว์ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่าไนโตรเจนในกระแสเลือด (Blood urea nitrogen; BUN) โดยหลักการแล้ว เมื่อสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนและกรดอะมิโนไม่สมดุลจะทำให้สัตว์ไม่สามารถใช้กรดอะมิโนจากอาหารที่กินไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ใช้ในร่างกายได้ทั้งหมด กรดอะมิโนที่เหลือจากการสังเคราะห์โปรตีนจะถูกขับออกนอกร่างกายผ่านทางปัสสาวะในรูปของยูเรีย กล่าวคือ เมื่อสัตว์มีค่า BUN ต่ำ บ่งชี้ได้ว่าสัตว์สามารถนำเอาโปรตีนและกรดอะมิโนที่ได้จากอาหารที่กินไปสังเคราะห์เป็นโปรตีนที่ใช้ในร่างกายได้มากกว่าสัตว์ที่มีค่า BUN สูง (พันทิพา, 2547) ซึ่งค่า BUN มาตรฐานอยู่ที่ 8.0-24 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Laboratory animals, 2000) และจากที่กล่าวมาข้างต้นเมื่อเปรียบเทียบค่า BUN ในการทดลองสมรรถภาพการผลิตของอาหารทดลองทุกกลุ่ม พบว่ามีค่า BUN ใกล้เคียงกับค่า BUN มาตรฐาน จึงสามารถกล่าวได้ว่าระดับโปรตีนที่ใช้ในการทดลองเพียงพอต่อความต้องการของตัวสัตว์ ซึ่งสัตว์สามารถนำเอาอาหารที่กินไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้ ซึ่งระดับโปรตีนที่ใช้ในอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมเป็นระดับโปรตีนที่สอดคล้องกับการแนะนำปริมาณโปรตีนที่ NRC (2012) แนะนำสุกรอนุบาลที่น้ำหนักตัว 5-10 กิโลกรัม ซึ่งมีค่าความต้องการโปรตีนในอาหาร 19.37 เปอร์เซ็นต์โปรตีน ซึ่งอาหารกลุ่มควบคุมมีระดับโปรตีนที่สูงกว่าที่ NRC (2012) แนะนำ ดังนั้นอาหารที่ใช้ในการทดลองจึงไม่แสดงผลเชิงลบต่อสมรรถภาพการผลิต

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. สุกรที่ได้รับอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุม มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ และโปรตีนดีกว่าสุกรที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุมและเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างอาหารกลุ่มควบคุมและอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์ ค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน ไขมัน และพลังงาน มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

2. จากการศึกษาการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนา เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 และ 200 กรัมต่อตัน พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ ระดับ 200 กรัมต่อตัน ทำให้ค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีน ไขมัน ที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุมและเสริมเอนไซม์โปรติเอสที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน

3. สุกรที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุม อาหารกลุ่มทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารกลุ่มควบคุม และอาหารกลุ่มทดลองที่เสริมเอนไซม์โปรติเอสในระดับ 100 และ 200 กรัมต่อตัน ในการทดลองสมรรถภาพการผลิตของสุกรระยะอนุบาลพบว่า อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารไปเป็นน้ำหนักร่าง และอัตราการตายมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. อาหารทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล เนื่องจากอาหารที่ได้รับยังมีโภชนาที่เพียงพอต่อความต้องการของตัวสัตว์ จึงสามารถนำเอาสูตรอาหารทดลองที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์ไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ได้

2. การเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสูตรอาหารที่ลดระดับโปรตีนลง 8 เปอร์เซ็นต์จากอาหารสูตรมาตรฐานของสุกรอนุบาลในระดับ 200 กรัมต่อตัน ทำให้การย่อยได้ของวัตถุดิบและโปรตีนดีขึ้นกว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสในสูตรอาหารที่ระดับ 100 กรัมต่อตัน แสดงให้เห็นว่าการเสริมเอนไซม์ในระดับที่สูงขึ้นทำให้การย่อยได้ของโภชนาดีขึ้น

3. ควรพิจารณาคุณสมบัติของเอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์ให้มีความเหมาะสมในแต่ละช่วงอายุของตัวสัตว์ เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ในสัตว์และปริมาณของเอนไซม์ในตัวสัตว์แต่ละช่วงอายุมีความแตกต่างกัน อีกทั้งเอนไซม์ที่ใช้เสริมยังมีความจำเพาะเจาะจง และมีความเสถียรต่อความร้อนทำให้เสียสภาพทางธรรมชาติของเอนไซม์ที่ใช้เสริมได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กัญญา ปรีชาสุทธิ. 2544. การผลิตเอนไซม์โปรติเอสในอาหารจากกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรียแยกได้. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- นรินาม. 2554. การจัดการฟาร์มสุกร. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.
- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ปรับปรุงครั้งที่ 2. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ปริญญา นิลวัชรภรณ์. 2554. กลไกการทำงานของเอนไซม์. ภาควิชาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. แหล่งที่มา: <http://ivil.mut.ac.th/06/เอนไซม์-enzyme-ตอนที่-1/>. 12 สิงหาคม 2555.
- ธรรมรัตน์ ก้าวสมบัติ. 2544. การเพิ่มจำนวนยีนของเอนไซม์โปรติเอสนอกเซลล์จากเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรียสายพันธุ์ TLS 33. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ธีระยุทธ เตียนธนา. 2549. การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ เบต้า-เอ็นอะเซทิลกลูโคซามิไนด์ที่ผลิตจากเชื้อก่อโรคขอ้คบบรด ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- พจน์ ศรีบุญลือ, โสพิศ วงศ์คำ และ พงษ์วิ บุญศิริ. 2543. ตำราชีวเคมี. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- พันทิพา (ชุดิมา) พงษ์เพ็ญจันทร์. 2547. หลักการอาหารสัตว์: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์ เล่ม 2. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

มงคล ชะไชย. 2546. การผลิตเอนไซม์โปรติเอสเพื่อใช้ในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว. ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

มฤดี สหกิจภิญโญ, ยุวเรศ เรืองพานิช, เสกสม อาตมางกูร และสุกัญญา รัตนทับทิมทอง. 2555. ผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากในสุกรขุน วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ยุวพิน ค่านคูสัตพันธ์. 2547. การผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากราเส้นใยในอาหารเหลวระดับโรงงานต้นแบบ เพื่อเป็นอาหารเสริมในสัตว์ปีก เช่น ไก่. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

ภิญโญ พานิชพันธ์, พิณทิพย์ รื่นวงษา, วชิร เกษพิชัยณรงค์, การศุภพา จิตติวัฒนา, มนต์วิ โพธิ์ทอง และ พัฒนพงศ์ คนเที่ยง. 2554. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์. สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. แหล่งที่มา: <http://www.snw.ac.th/media/35/chapter5/ch512.html>. 23 กรกฎาคม 2555.

รินทร์ภัส กุลพัชรคณาพงษ์. ม. ป. ป. การใช้สารทดแทนยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์. แหล่งที่มา: http://www.octamemorial.com/img_varasarn/TechnicalBullentin.pdf. 8 ตุลาคม 2555.

วรวัฒน์ เมธีวรกิจ. 2553. สารยับยั้งสารอาหาร (Antinutritional Factor) ในวัตถุดิบสุกร. แหล่งที่มา: <http://vetproducts.thaiddns.com/UserFiles/File/pig.pdf>. 23 กรกฎาคม 2555.

วิโรจน์ วานิชพิชัยวัฒน์, สมุน โพธิ์จันทร์ และเสาวคนธ์ โรจนสถิตย์. 2537. ระดับโภชนาที่เหมาะสมในอาหารสำหรับสุกร 3. ลูกสุกรหลังหย่านม (นน. ประมาณ 5-10 กก.). สำนักงานพัฒนาอาหารสัตว์. แหล่งที่มา: http://www.dld.go.th/nutrition/Research_Knowledge/RESEARCH/research_full/2537/R3705.pdf. 15 สิงหาคม 2555.

ศุภโชค สันไชยกุล. 2541. การทำให้บริสุทธิ์และการหาลักษณะเฉพาะของเอนไซม์โปรติเอส นอกเซลล์ที่ผลิตโดยเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย TLS 33. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สาโรช คำเจริญ. 2547. อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุพิชญา เจริญศิลป์, ชูเรศ เรืองพานิช, เสกสม อาตมากร, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง และชุมพล พงษ์มณี. 2555. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์แบบ *in-vivo* ภายใต้สภาพค่าความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน. น.51-57. ใน รายงานการทางประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 (สาขาสัตว) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวรรณา พรหมทอง. มปป. การทำฟาร์มสุกร. หนังสือประกอบการเรียน สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง. แหล่งที่มา: <http://e-book.ram.edu/e-book/a/AT328/AT328-9.pdf>. 15 สิงหาคม 2555.

อังคณา หาญบรรจง และ ดวงสมร สันเจิมศิริ. 2532. การวิเคราะห์และประเมินคุณภาพอาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Adrizal, A., Y. Yusrizal, S. Fakhri, W. Haris, E. Ali, and C. R. Angel. 2011. Feeding native laying hens diets containing palm kernel meal with or without enzyme supplementations: 1. Feed conversion ratio and egg production. **J. Appl. Poult. Res.** 20:40-49.

Ao, X., S. M. Hong, H. Y. Park, K. H. Son, B. H. Ku, D. H. Shin and J. H. Kim. 2010. Dietary supplementation with types of enzyme preparation improves nutrient digestibility in growing pigs, pp. 376. In Nonruminant Nutrition: Enzymes. **J. Anim. Sci.** 88 (Supple. 2): T216. (Abstract).

A.O.A.C. 1980. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Thirteenth Edition. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C. 20044.

Bolin, D., W., R. P. King and E. W. Klosterman. 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr_2O_3) when use as an index substance. **Sci.** 166: 634-635.

Canibe, N., O. Højberg, S. Højsgaard and B. B. Jensen. 2005. Feed physical form and formic acid addition to the feed affect the gastrointestinal ecology and growth performance of growing pigs. **J. Anim. Sci.** 83: 1287-1302.

Deng, D., R. L. Huang, T. J. Li, G. Y. Wu, M. Y. Xie, Z. R. Tang, P. Kang, Y. M. Zhang, M. Z. Fan, X. F. Kong, Z. Ruan, H. Xiong, Z. Y. Deng and Y. L. Yin. 2007. Nitrogen balance in barrow fed low-protein diets supplemented with essential amino acid. **J. Lives. Sci.** 109: 220-223.

Kelly, D., and T.P. King. 2001. Digestive Physiology and Development in Pigs. **Rowett Research Institute**. Bucksburn, Aberdeen AB21 9SB, UK. Pp. 179-206.

Knight, C. D., M. Vazquez-Anon, N. Odetallah, and S. Carter. 2011. Effects of dietary protein and protease supplementation on performance and gut health of broiler chicks. **Poult. Sci.** 90 (Suppl. 1): 57. (Abstract).

Leibholz, J. 1984. Digestion in the pig. **J. Anim. Production Australia.** 15: 145-157.

Maiorka, A., A. Favero, R. F. P. Meurer, M. T. T. Moraes, and J. O. B. Sorbara . 2009. Broiler chicken performance and ileal digestibility is improved by a protease used in corn/soybean meal/meat bone meal diet. **Poult. Sci.** 88 (Supple. 1): T105. (Abstract).

- Rice, J. P., R. S. Pleasant and J. S. Radcliffe. 2002. The effect of citric acid, Phytase and, their interaction on gastric pH, and Ca, P, and dry matter digestibilities. **Purdue 2002 swine research report**. Available Source:
<http://www.ansc.purdue.edu/swine/swineday/sday02/6.htm>, September 15, 2012.
- NRC. 2012. National Research Council. **Nutrient Requirements of Swine**. National Academy Press. Washington, D.C.
- Péron, A., A. J. Cowieson, C. E. Gillbert and V. Ravindran. 2009. Effect of processing temperature, nutrient provision and enzyme supplementation (Avizyme 1500) on performance and digestibility of broiler chickens fed corn/soy-based diets. **Poult. Sci.** 88 (Supple.1): T103. (Abstract).
- University of Minnesota. 2000. **Reference Values for Laboratory Animals**. Research Animal Resources, University of Minnesota. Available source: www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html, June 9, 2012.
- Vieira, S. L., D. M. Freitas, J. E. M. Peña, R. Barros, P. S. Xavier, A. C. Vian and J. O. B. Sorbara. 2009. Performance and amino acid utilization by broilers supplemented with a novel exogenous protease. **Poult. Sci.** 88 (Supple. 1): T114. (Abstract).
- Walk, D., X. Piao, F. C. Guo, H. Cao, J. Zhao and R. J. Harrell. 2010. Effect of protease enzyme on performance of weanling piglets fed corn-soybean diets with different protein levels, pp. 377. *In* Nonruminant Nutrition: Enzymes. **J. Anim. Sci.** 88 (Supple. 2): T218. (Abstract).
- Walk, C. L., C. Novak, A. Cowieson, J. Remus, J. Escobar and A. P. McElroy. 2009. Evaluation of the effects of dietary enzymes on ileal amino acid digestibility in 18-day old broiler during live coccidian oocyst vaccination. **Poult. Sci.** 88 (Supple. 1): T105. (Abstract).

Yan, F., L. Garibay, J. Arce, C. Lopez-Coello, D. Camacho, M. Vazquez-Anon, M. Manangi, N. Odetallah and S. Carter. 2011. Effects of protease supplementation on growth performance of broiler fed corn-soy-DDGS based diets. **Poult. Sci.** 90 (Suppl. 1): 1104. (Abstract).





วิธีการวิเคราะห์โครมิกซ์ออกไซด์ในอาหารและมูล (Bolin *et al.*, 1952)

อุปกรณ์

1. เตาหย่อย (Kjeldahl apparatus)
2. เตาหย่อยพลาสติก (Kjeldahl flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
4. กรวยกรอง (funnel)
5. กระดาษกรอง (filter paper) เบอร์ 40
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (spectrophotometer)

สารเคมี

1. สารโซเดียมโมลิบเดต (sodium molybdate : $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
2. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์
3. กรดเปอร์คลอริก (HClO_4) ความเข้มข้น 70-72 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี

สารละลายออกซิไดซิงรีเอเจนต์ (oxidizing reagent)

ซังโซเดียมโมลิบเดต (sodium molybdate) 11.75 กรัม ใส่ลงในพลาสติกปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร นำลงไปวางในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นค่อยๆ เติมกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร แบ่งใส่ 3 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร (พัก 5-10 นาที ก่อนแล้วค่อยใส่ครั้งต่อไป) ในการเทควรค่อยๆ เทลงตามขอบ พลาสติก เมื่อเทจนหมดขั้นตอน ต่อมาเติมกรดเปอร์คลอริก (HClO_4) ความเข้มข้น 70-72 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 มิลลิลิตร แบ่งใส่ ครั้งละ 50 มิลลิลิตร เช่นเดียวกันกับขั้นตอนแรก ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้

ขั้นตอนการวิเคราะห์

1. ขั้นตอนการย่อย

1.1 ชั่งตัวอย่างใส่เจด้าหลพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 1.5 กรัม และชั่งตัวอย่างมูลประมาณ 0.5 กรัม

1.2 เติมน้ำละลายออกซิไดซิงรีเอเจนต์ 12 มิลลิลิตร

1.3 นำตัวอย่างที่ทำการชั่งน้ำหนักใส่ในเจด้าหลพลาสติกแล้วนำไปย่อยบนเตาย่อยด้วยไฟฟ้าปานกลางจนตัวอย่างละลายกลายเป็นสีเหลืองหรือส้มและมีไอน้ำเกาะบริเวณผิวด้านในของหลอด ในขณะที่ทำการย่อยควรเขย่าพลาสติกเป็นครั้งคราว เพื่อให้ตัวอย่างที่ติดอยู่รอบๆ ขวดถูกออกซิไดซิงรีเอเจนต์ย่อยจนสมบูรณ์ ทิ้งไว้สักครู่จนกว่าช่องดูดควันจนกว่าจะดูดไอกรดที่เกิดจากการย่อยของออกซิไดซิงรีเอเจนต์จนหมด แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

1.4 เติมกรดเปอร์คลอริก 3 มิลลิลิตร และนำไปย่อยอีกครั้งจนปรากฏไอน้ำบริเวณผิวด้านในพลาสติก ทิ้งไว้สักครู่ให้ช่องดูดควันจนกว่าจะดูดไอกรดจนหมด แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

2. ขั้นตอนการปรับปริมาตร

เทสารละลายที่ได้จากการย่อยลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

3. ขั้นตอนการกรอง

กรองสารละลายที่ปรับปริมาตรแล้วด้วยกระดาษกรองเบอร์ 40

4. ขั้นตอนการวัดค่าการดูดกลืนแสง

นำสารละลายที่กรองแล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร

เปรียบเทียบกับ blank (ทำทุกขั้นตอนเหมือนตัวอย่างแต่ไม่ได้ใส่ตัวอย่าง) โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงของ blank ให้เป็นศูนย์ด้วยการตั้งค่า auto zero

5. ขั้นตอนการคำนวณ

จากวิธีการดังกล่าวสามารถคำนวณหาปริมาณโครมิกออกไซด์ในตัวอย่างอาหารและมูลที่ได้จากการทดลองได้ดังสมการ

$$\text{ปริมาณโครมิกออกไซด์ (\%)} = \frac{A \times EF \times \text{mlAl} \times 1,000}{1,000 \times W}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

mlAl = ปริมาตรของสารละลายที่ได้หลังจากขั้นตอนการปรับปริมาตร

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ย่อย

EF =
$$\frac{\text{ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของโครมิกออกไซด์ระดับต่างๆ จากการทำงาน standard curve}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสง}}$$

ค่า EF โดยปกติมีค่า 389-400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	น .ส. วังโรบล อัสวพันธุ์นิต
วัน เดือน ปี ที่เกิด	27 พฤษภาคม พ.ศ. 2529
สถานที่เกิด	จ. ชลบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ (พ.ศ. 2550)
สถานที่ทำงาน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-