



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนโปรตีนจากปลาป่น
ในอาหารกุ้งก้ามกราม

The Utilization of Protein Hydrolysates from Eri Silkworm (*Philosamia ricini*) substitute
of fish meal protein in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) diet

นามผู้วิจัย นางสาวณฤทัย วันชูเพลา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ประทีกย์ ตาบทิพย์วรรณ, Doctorat de 3 Cycle.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์นันทวิทย์ อารีรักษ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ทดแทนโปรตีน
จากปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกราม

The Utilization of Protein Hydrolysates from Eri Silkworm (*Philosamia ricini*) substitute of fish
meal protein in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachiu rosenbergii*) diet

โดย

นางสาวณฤทัย วันชูเพลา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2553

ณฤทัย วันชูเพลา 2553: การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ที่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกราม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค. 90 หน้า

การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ได้ศึกษากระบวนการย่อยดักแด้ไหมอิร์ด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสด ศึกษาในระดับที่เหมาะสมในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกราม ต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง โปรตีนในเลือด โปรตีนในตับ ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas และปริมาณอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนใน hepatopancreas และปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ โดยย่อยดักแด้ไหมอิร์ด้วยเอนไซม์ปาเปนในอัตราส่วน ดักแด้ไหมอิร์: 10% Acetic acid : เอนไซม์ปาเปน (3: 6.9: 0.1)พบว่าในวันที่ 6 มีประสิทธิภาพการย่อยได้ 59.3% จากนั้นนำไปทดแทนโปรตีนปลาป่นในสูตรอาหาร 0, 50, 100% และใช้ดักแด้ไหมอิร์สดทดแทน 50% เปรียบเทียบกับอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า โดยศึกษาในกุ้งก้ามกรามเพศผู้ขนาด 19.5 ± 1.43 กรัม ต่อตัว การเจริญเติบโตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเทียบกับชุดการทดแทนนั้น ชุดการทดแทนโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ 50% มีค่าการเจริญเติบโตมากที่สุด คือ 43.49 ± 0.45 กรัมต่อตัว ปริมาณโปรตีนในเลือดและปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4.78 ± 0.66 - 5.45 ± 0.22 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และ 0.51 ± 0.06 - 0.57 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัม hepatopancreas ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนในตับ ชุดการทดแทนโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ 50% มีค่ามากที่สุด คือ $41.13 \pm 1.17\%$ ปริมาณอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนใน hepatopancreas ชุดการทดแทนโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์ 100% มีปริมาณ อาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่าง อาร์เอ็นเอต่อโปรตีน มีค่ามากที่สุดคือ $1.7793 \pm 4.8 \times 10^2$ ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ $0.0032 \pm 6.9 \times 10^5$ มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ $0.5403 \pm 1.7 \times 10^2$ ตามลำดับ และไม่มีผลกระทบต่อปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งก้ามกราม

ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิร์จึงสามารถทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ที่ระดับ 50% ของโปรตีนจากปลาป่น

Narutai Wanchooploao 2010: The Utilization of Protein Hydrolysates from Eri Silkworm (*Philosamia ricini*) substitute of fish meal protein in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) diet. Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D. 90 pages.

The investigation was conducted to determine the utilization of protein hydrolysate obtained from Eri silkworm (*Philosamia ricini*) pupae in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). The objective was to study the optimum level that fishmeal can be replaced with the hydrolysate and its effects on growth performance of prawn, blood protein, body protein, glycogen in hepatopancreas, total RNA per protein in hepatopancreas and amount of gut bacteria. The hydrolysate by digested Eri silkworm pupae with papaya papain enzyme (eri silkworm pupae : 10% acetic acid: papain enzyme = 3 :6.9:0.1) replaced the fishmeal from the diet of prawn at graded levels 0, 50 and 100%. The male giant freshwater prawn with initial weight of 19.5 ± 1.43 grams were fed with three levels of hydrolysate (0, 50 and 100%), feed contained Eri silkworm pupae substituted for protein from fishmeal 50% and control of commercial diet. The result showed that the prepared hydrolysate was highest digestion 59.3% in the 6th day. At the end of this experiment, 50% hydrolysate replacement monitored the highest growth performance when compared with commercial feed. Blood protein and glycogen in hepatopancreas were not significantly difference ($p > 0.05$). There were $47.81 \pm 6.61 - 54.57 \pm 2.25$ mg protein/dl and $0.51 \pm 0.06 - 0.57 \pm 0.01$ mg glucose/g hepatopancreas, respectively. Body protein was significantly different ($p < 0.05$) from commercial feed. The 50% replacement was $41.13 \pm 1.17\%$. On the other hand, the total RNA from 100% replacement showed the best result. The amount of RNA, protein and RNA per protein were $1.7793 \pm 4.8 \times 10^2$ μ g RNA /mg tissue , $0.0032 \pm 6.9 \times 10^5$ mg Protein /mg tissue and $0.5403 \pm 1.7 \times 10^2$, respectively and have no effect with amount of gut bacteria. The present study indicated that 50% protein hydrolysate replacement could be suitable to use as protein source in diets.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อรพินท์ จินตสถาพร ประธาน
กรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้คำชี้แนะระหว่าง
การดำเนินการทดลอง ตลอดจนการให้คำปรึกษา วิเคราะห์ผล แนะนำตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง
และรูปแบบวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประทีปย์ ตาบทิพย์วรรณ
และ รองศาสตราจารย์ ดร.นนทวิทย์ อาริย์ชน กรรมการที่พิจารารอง ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ
และช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

โครงการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของ โครงการวิจัยการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไหมอีรี่ครบ
วงจรที่ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
โดยมีรองศาสตราจารย์ ดร.อรพินท์ จินตสถาพร เป็นหัวหน้าโครงการ

ขอขอบพระคุณภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเพื่อ
สถานที่ในการทำงานวิจัย และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย
ทุก ๆ ด้าน

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่าน ในภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
รวมถึง คุณประดิพันธ์ ทองแถม ณ อยุธยา คุณคาริณญา จันทวรรณ และคุณชฎาธาร โทนเดี่ยว ที่ให้
ความช่วยเหลือทั้งทางด้านร่างกาย แรงใจที่ดี รวมถึงความรัก ความผูกพัน มาโดยตลอด และ
มิตรภาพดี ๆ ที่มอบให้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่ออร่าม - คุณแม่ประคอง วันชูเพล่า ที่ให้การสนับสนุน
การศึกษา เป็นกำลังใจ และแรงบันดาลใจที่สำคัญที่สุดในการทำงานครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้
ด้วยดี

ณฤทัย วันชูเพล่า

พฤษภาคม 2553

สารบัญ

หน้า	
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
อุปกรณ์	26
วิธีการ	27
ผลและวิจารณ์	36
สรุปและข้อเสนอแนะ	62
สรุป	62
ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	73
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	90

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณกรดอะมิโนในผักแค้ไหมอีรี	25
2 ส่วนประกอบของอาหารกึ่งก้ำกักรามที่ใช้ในการทดลอง	31
3 องค์ประกอบทางเคมีของผักแค้ไหมอีรี	36
4 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยผักแค้ไหมอีรีด้วยเอนไซม์ปาเปน จากขางมะละกอสด	38
5 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักแค้ไหมอีรี	39
6 การเจริญเติบโตของกึ่งก้ำกักรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากผักแค้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ผักแค้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ำกักรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	43
7 ประสิทธิภาพของอาหารกึ่งก้ำกักรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากผักแค้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ผักแค้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ำกักรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	46
8 ปริมาณโปรตีนในเลือดของกึ่งก้ำกักรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากผักแค้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ผักแค้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ำกักรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	48
9 ปริมาณโปรตีนของกึ่งก้ำกักรามทั้งตัวที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากผักแค้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ผักแค้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ำกักรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	51

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสด ทดแทนปลาป่นและอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	54
11	ปริมาณ อาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่าง อาร์เอ็นเอต่อโปรตีน ใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)	57
12	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งก้ามกราม (log cfu/g ลำไส้) ที่ได้รับ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า	60

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตกึ่งก้ามกราม	5
2	เมตะบอลิซึมของโปรตีน	15
3	วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก	15
4	ไหมอีรี	20
5	น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	42
6	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	45
7	ปริมาณโปรตีนในเลือดของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซต จากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	47
8	ปริมาณโปรตีนในตัวของกึ่งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่ได้รับ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสด ทดแทนปลาป่นและอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	50
9	ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสด ทดแทนปลาป่นและอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	53
10	ปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้ของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น ดักแด้ไหมอีรีสด ทดแทนปลาป่นและอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า	61

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
1 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Lawry's method	82
2 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA) เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Biuret reaction	84
3 กราฟมาตรฐานไกลซีน 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Ninhydrin assay	85
4 กราฟมาตรฐาน กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีวิเคราะห์ไกลโคเจน	88

การใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ทดแทนโปรตีนจากปลาป่น ในอาหารกุ้งก้ามกราม

The Utilization of Protein Hydrolysates from Eri Silkworm

(*Philosamia ricini*) substitute of fish meal protein in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) diet

คำนำ

กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) กุ้งนาง หรือ กุ้งหลวง เป็นกุ้งแม่น้ำขนาดใหญ่ กระจายอยู่ทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งประกอบด้วย พม่า เวียดนาม เขมร อินโดนีเซีย และ ฟิลิปปินส์ กุ้งก้ามกรามสามารถพบได้ทั้งปี และส่วนมากจะอยู่ในแม่น้ำ ลำคลอง หนองบึง ทะเลสาบที่มีเขตติดต่อกับแม่น้ำ ซึ่งสามารถดำรงชีวิตได้ทั้งในน้ำกร่อย และน้ำจืด การเพาะเลี้ยง กุ้งก้ามกรามเป็นการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์เนื่องจาก กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ราคาแพง เนื้อรสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภค ประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามกันมานานกว่า 50 ปี โดยเริ่มทำการเลี้ยงครั้งแรกราว ๆ ปี พ.ศ. 2499 แต่การเลี้ยงยังไม่พัฒนามากนัก แต่ในปัจจุบัน ศักยภาพในทางเศรษฐกิจของประเทศ ผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงในปี พ.ศ. 2530 มีทั้งสิ้นประมาณ 11,800 ตัน และมีแนวโน้มการผลิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี โดยในปี พ.ศ. 2549 มีผลผลิตกุ้งก้ามกรามจากการเพาะเลี้ยงสูงถึง 25,400 ตัน (กรมประมง, 2549) คาดว่าในอนาคตการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามจะมี ปริมาณเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ

การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามในปัจจุบันเป็นการเลี้ยงในเชิงธุรกิจหรือการเลี้ยงแบบหนาแน่น (Intensive culture) ความหนาแน่นที่ปล่อยประมาณ 20 ตัวต่อตารางเมตร มีการเลี้ยงแพร่หลายทั่วไป ในประเทศ ทั้งรวมถึงภาคกลางและภาคตะวันออก เฉลี่ยผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้ง การ เลี้ยงกุ้งก้ามกรามส่วนใหญ่อาหารที่ใช้เป็นอาหารผสมในอัตราส่วนที่ทำขึ้นเอง เพื่อให้มีสารอาหารที่ เหมาะสมตามความต้องการและใช้อาหารธรรมชาติเสริมเพียงเล็กน้อย ซึ่งการผลิตอาหารสัตว์นั้นจะ คำนึงถึงเปอร์เซ็นต์โปรตีนเป็นหลัก อาหารกุ้งก้ามกรามก็เช่นเดียวกัน โดยทั่วไปอาหารกุ้งก้ามกรามมี โปรตีนประมาณ 35-38 เปอร์เซ็นต์ (สุวิทย์, 2534) การดูดซึมโปรตีนจะดูดซึมในรูปของไดเปปไทด์ (dipeptides) หรือกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ฉะนั้นการปรับปรุงสูตรอาหารกุ้งก้ามกรามให้

มีส่วนประกอบของกรดอะมิโนอิสระเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง คือ การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอیریที่ผ่านการย่อยให้เป็นไดเปปไทด์และ กรดอะมิโน ผสมลงไปในการกึ่งกัมกราม จะเป็นการเร่งการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิต โดยกึ่งกัมกรามจะสามารถนำโปรตีนไปใช้ได้ทันที ช่วยลดพลังงานในการย่อยและการดูดซึมโปรตีน ซึ่งดักแด้ไหมอیری มีโปรตีน 54.63-53.91 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 9.51-11.48 เปอร์เซ็นต์ (Jintasatapom *et al.* 2002) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการกึ่งกัมได้ดี ปัจจุบันในประเทศไทยมีแนวโน้มที่จะขยายการเลี้ยงไหมอیریได้มาก ในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากไหมอیریมีคุณสมบัติดีเด่นเหมาะที่จะส่งเสริมเลี้ยงในเชิงอุตสาหกรรม นอกจากคุณค่าทางอาหารสูงแล้วนั้น ไหมอียังสามารถเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี แม้กระทั่งในฤดูร้อน ไหมอیریกินพืชหลายชนิด อาทิ ใบสะหู่ ใบมันสำปะหลัง อ้อยช้าง ฯลฯ จึงสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสำหรับกึ่งกัมกรามได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

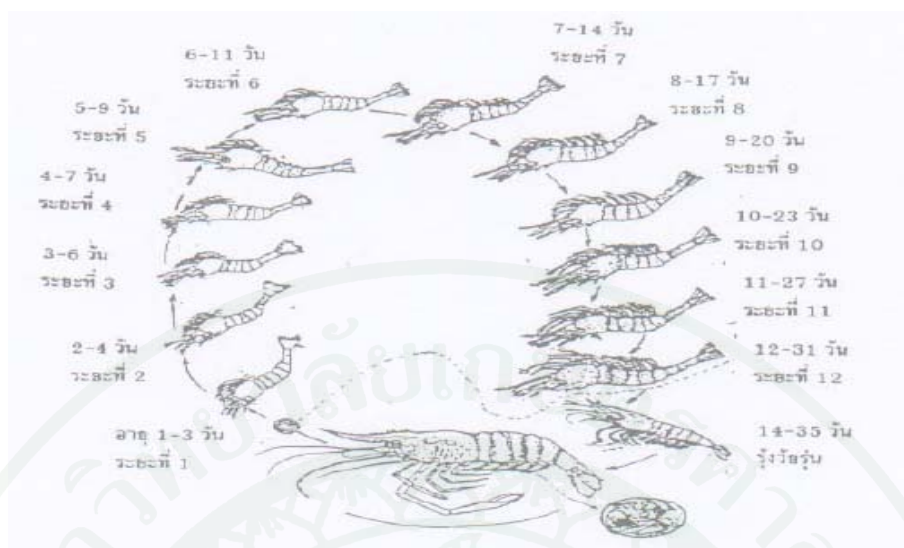
1. เพื่อศึกษาผลของการย่อยคัณฑ์ของไหมอีรีโคยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสด
2. เพื่อศึกษาระดับที่เหมาะสมของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนปลาป่นการใช้ประโยชน์ของอาหารและผลต่อสุขภาพของกิ้งก่ามกราม
3. เพื่อศึกษาผลของโปรตีนไฮโดรไลเซตต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของกิ้งก่ามกราม

การตรวจเอกสาร

ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกรามชื่อสามัญว่า Giant Freshwater Prawn มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Macrobrachium rosenbergii* อยู่ในวงศ์ Palaemonidae เป็นกุ้งน้ำจืดที่มีขนาดใหญ่ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย มีลักษณะสำคัญคือ ลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน หัว ออก ท้อง มีก้ามหรือขาเดินคู่ที่ 2 สี่ครามสดถึงสี่คราม โดยเฉพาะในตัวผู้ ก้ามจะมีลักษณะที่ใหญ่กว่าตัวเมีย ลักษณะทั่วไปเปลือกคลุมส่วนหัวทั้งหมด หัวมีหนามแหลม 2 อัน มีร่องอยู่ด้านข้าง กริแบน ยาวเรียว โคนกริบนานูน ตรงกลางแอ่นลง ส่วนปลายงอนขึ้น มีหนามลักษณะเป็นฟันเลื่อยด้านบน 8-13 ซี่ และบนสันกริด้านล่าง 12-15 ซี่ ปลายหางแหลมมีหนาม 4 คู่ ปลายหางยาวจรดด้านข้างของแพนหาง มีหนวด 2 คู่ ขาเดินคู่ที่ 1 และ 2 มีลักษณะเป็นก้าม โดยคู่ที่ 2 มีขนาดใหญ่กว่าคู่ที่ 1 ในตัวเต็มวัยเพศผู้จะมีขาเดินคู่ที่ 2 ใหญ่กว่าเพศเมีย มีขาว่ายน้ำ 5 คู่ ช่องปล่อยน้ำเชื้อของเพศผู้อยู่บริเวณ โคนขาเดินคู่ที่ 5 เพศเมียมีช่องปล่อยไข่บริเวณ โคนขาเดินคู่ที่ 3 ส่วนปลายขาว่ายน้ำคู่ที่ 2 ในเพศผู้จะแยกเป็น 4 แขนง ในเพศเมียแยกเป็น 3 แขนง (บรรจง, 2535)

กุ้งก้ามกรามตัวเต็มวัยดำรงชีวิตอยู่ได้ในน้ำจืด เมื่อถึงฤดูผสมพันธุ์วางไข่จะวางไข่ที่บริเวณปากแม่น้ำหรือน้ำกร่อย ที่มีน้ำทะเลขึ้นถึง ลูกกุ้งก้ามกรามในระยะแรกฟักจะอยู่ที่บริเวณปากแม่น้ำสักระยะหนึ่ง แล้วจึงเดินทางเข้าไปอาศัยในน้ำจืดต่อไป เมื่อลูกกุ้งฟักเป็นตัวแล้วแม่กุ้งจะปล่อยให้เลี้ยงตัวเองอาหารของกุ้งระยะนี้คือสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ที่ลอยอยู่ในน้ำ (พวกกุ้ง ลูกปลาวัยอ่อน แพลงก์ตอนพืชและสัตว์) ในระยะนี้ลูกกุ้งจะล่องลอยไปตามกระแสน้ำ จึงเป็นอาหารของสัตว์น้ำอื่นได้ง่าย และเหลือรอดเจริญเติบโตในปริมาณน้อย



ภาพที่ 1 วงชีวิตกึ่งก้ามกราม

ที่มา: ชุศักดิ์ (2532)

โภชนาการในอาหารกึ่งก้ามกราม

โภชนาการที่กึ่งก้ามกรามต้องการก็มี 5 หมวด คือ โปรตีน ไขมัน แป้ง วิตามินและแร่ธาตุ เหมือนกุ้งอื่นๆ แต่อาจต่างกันที่ปริมาณและคุณภาพของโภชนาการในแต่ละหมวด

โปรตีน

โปรตีนเป็นสารอาหารที่ใช้เพื่อการเจริญเติบโต สร้างเนื้อ เลือด และฮอร์โมน ซ่อมแซมส่วนสึกหรบของร่างกายโปรตีนสามารถได้จากทั้งพืชและสัตว์ แต่แตกต่างกันในด้านคุณค่าทางอาหาร ความต้องการโปรตีนของกึ่งก้ามกรามในแต่ละช่วงแตกต่างกันออกไป กุ้งอายุ 1 – 3 เดือน ต้องการโปรตีน 35 –38 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ส่วนกุ้งอายุ 3 เดือนขึ้นไป ต้องการโปรตีนตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป กึ่งก้ามกรามไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น 10 ชนิด (Watanabe, 1975) เช่นเดียวกับ กุ้งชนิดอื่นๆ มีรายงานว่า การเสริม 1 เปอร์เซ็นต์ ของอาร์จินีน ฟีนิลอลานีน ลิวซีนหรือไอโซลิวซีน มีผลทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น และจากการสังเคราะห์กรดอะมิโนในส่วนหางของกุ้งหลายชนิด พบว่าเนื้อกึ่งก้ามกรามมีอาร์จินีนสูงกว่าเนื้อกุ้งอื่นๆ และพบว่า กึ่งก้ามกรามสามารถใช้โปรตีนจากพืชได้ในอัตราที่สูงกว่ากุ้งทะเล ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก

กึ่งก้ามกรามสามารถนำคาร์โบไฮเดรตที่มากับแหล่งโปรตีนพืชไปใช้เป็นพลังงานได้มากกว่า เอนไซม์ที่ช่วยย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) มีรายงานเกี่ยวกับเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนในกึ่งคือ โปรตีนเนส (proteinases) ซึ่งเป็นเอนไซม์รวม และทริปซิน (trypsin) โดยเอนไซม์ย่อยพันธะ เปปไทด์ (peptides) เอนไซม์โปรติเอส ทำงานได้ดีในกึ่งวัยอ่อน และเมื่อโตขึ้นการทำงานจะลดลง (ประจวบ, 2544) การทำงานทั้งเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และโปรติเอส ในภาวะความเป็นกรดต่าง ๆ กัน ค่าพีเอชในช่วงประมาณ 6 เหมาะสมที่สุดภายใต้สภาวะที่ทดลอง (อัมพร, 2540) และ พวงชมพู (2545) รายงานถึงเอนไซม์โปรติเอส จากแสพพาโทเพนเคเรียสของกึ่งกุลาดำ พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมเอนไซม์คือ 8.0 และมีความคงตัวอยู่ในช่วงพีเอชกว้างคือ 5.0–11.0

ไขมัน

เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานให้แก่ร่างกายที่สำคัญ แหล่งไขมันได้จากทั้งพืชและสัตว์ เช่น รำละเอียด น้ำมันรำ ถั่วเหลือง และน้ำมันถั่วเหลือง ไขมันเป็นแหล่งสะสมของวิตามินที่ละลายได้ในไขมันอีก 4 ชนิด คือ เอ ดี อี เค ไขมันยังจัดว่าเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานสูงสุดต่อหน่วยน้ำหนัก เป็นตัวนำวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ช่วยลดการใช้โปรตีน เป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นแก่ร่างกาย เป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมน นอกจากนั้นยังเป็นสารช่วยหล่อลื่น ทำให้อึดเมื่อยง่าย ไม่มีฝุ่น และเพิ่มรสชาติให้อาหารกึ่ง โดยทั่วไปแล้วกึ่งก้ามกรามและกึ่งทะเลสามารถย่อยไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ระดับไขมันในอาหารมีตั้งแต่ 2–10 เปอร์เซ็นต์

ความต้องการไขมัน

กึ่งก้ามกรามมีความต้องการกรดไขมัน 20: 5n3 และ 22: n3 ในปริมาณต่ำมากเมื่อเทียบกับ กึ่งกุลาดำ n6 PUFA มีความสำคัญทางโภชนาการในกึ่งก้ามกรามสูงกว่า n3 HUFA ประมาณ 2.8 เท่า (D'Abramo and Sheed, 1992) การเติมเลซิธินหรือฟอสโฟไทดิวคลอรีนในอาหารกึ่งบริสุทธิ์ให้กึ่งก้ามกรามทำให้กึ่งก้ามกรามมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (Hilton *et al.*, 1984 และ Briggs *et al.*, 1988) ไม่พบหลักฐานที่แสดงว่า กึ่งก้ามกรามสามารถสร้าง 18: 2n6 หรือ 18: 3n3 แต่สามารถสร้างกรดไขมันที่มีคาร์บอนสูงกว่า 18 และมีดัดเบิลบอนมากขึ้นได้จาก 18: 2n6 และ 18: 3n3 เป็น 20: 2n6, 20: 3n6, 20: 4n6 และ 20: 5n3, 22: 6n3 และพบว่ากึ่งที่ให้อาหารที่มีกรด 18: 3n3 อย่างเดียว จะโตช้า ซึ่งอาการนี้ไม่เกิดกับกึ่งที่ให้อาหารที่ได้รับ 18: 2n6 อย่างเดียว แสดงว่า 18: 2n6 มีความสำคัญต่อกึ่งก้ามกรามมากกว่า (Reight and Stickney, 1989)

ความต้องการสเตอรอล(Sterol)

สเตอรอลเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนลอกกราบ สารตั้งต้นของวิตามินและฮอร์โมนต่าง ๆ

D'Abramo and Daniels (1994) รายงานถึงความต้องการคลอเลสเตอรอลจากอาหารของกิ้งก่า การเพิ่มระดับคลอเลสเตอรอลในอาหารจาก 0.3 เป็น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกิ้งก่าที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีคลอเลสเตอรอลจะตายภายใน 48 วัน หลังจากเริ่มทดลอง และพบว่า เบต้าซิโตสเตอรอลมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับคลอเลสเตอรอล แต่สเตอรอลอื่น ๆ ที่ได้จากพืช เช่น สตีกลาสเตอรอล เออโกสเตอรอล มีประสิทธิภาพไม่เท่าคลอเลสเตอรอล

การย่อยไขมัน (Lipid digestion)

เอนไซม์ที่ย่อยไขมันคือ ไลเปส (lipase) และเอสเตอเรส (esterase) การทำงานของไลเปสในสารเหลวในพอร์กัทของกิ้งก่าคือ คล้ายกับ pancreatic lipase ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง อาหารที่มีไขมันผสมนั้น กิ้งก่าจะดูดซึมในรูปของโมโนหรือได-อะซิลกลีเซอรอล ซึ่งมีเอนไซม์ไลเปส และเอสเตอเรส เข้ามาเกี่ยวข้อง (ประจวบ, 2544) กิ้งก่ามีความสามารถในการดูดซึม n6 PUFA และ n3 HUFA ได้ดีที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส (D'Abramo, 1998)

คาร์โบไฮเดรต

เป็นสารให้พลังงานราคาถูก คาร์โบไฮเดรตให้พลังงานความร้อน 4.51 กิโลแคลอรี ต่อ 1 กรัม คาร์โบไฮเดรตอาจอยู่ในรูปของ แป้ง หรือน้ำตาล เป็นต้น

การย่อยคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate digestion)

การแตกตัวของคาร์โบไฮเดรตด้วย การดัดน้ำเข้า เป็นวิธีค่อนข้างจะยุ่งยาก ซับซ้อนอย่างน้อยมีสองวิธีการเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยมีเอนไซม์ไกลโคซิเดส (glycosidases) รวมกับเอนไซม์ช่วยย่อย ในทางเดินอาหารของกิ้งก่า ทำให้เกิดปัญหาในการทำงานของเอนไซม์ไกลโคซิเดส ปัญหาอื่นที่เข้ามาเกี่ยวข้องคือ เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตคือ แบคทีเรีย ซึ่งทำปฏิกิริยากับคาร์โบไฮเดรต ทำให้เกิดความสับสนได้ว่าเป็นเอนไซม์ช่วยย่อย หรือการทำงานของแบคทีเรีย ดังนั้น การย่อยคาร์โบไฮเดรตของกิ้งก่าโดยรวมแล้ว เอนไซม์ช่วยย่อยมีปริมาณน้อยที่สัตว์หึ่งออกมา และบางส่วนรวมมากับอาหารเอง หรือจากแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้หลังเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสาหร่าย รา และอาหารอื่นๆที่กิ้งก่ากินเข้าไป อัมพร (2540) รายงานการศึกษาชนิดของเอนไซม์ในกระเพาะอาหารของ

กึ่งกลูตา ทำการศึกษาเกี่ยวกับกึ่งกลูตาระยะ P 5 พบว่าการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส และอะไมเลส
ต่ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วการทำงานเพิ่มตามอายุ และสูงสุดเมื่อมีอายุประมาณ 2 เดือน

ความต้องการพลังงาน

D'Abramo (1998) อ้างถึง Clifford and Brick (1978) ซึ่งเห็นว่าขบวนการใช้โปรตีน
ไปเป็นพลังงานจะลดน้อยลง เมื่อสัดส่วนของไขมันและคาร์โบไฮเดรตเท่ากับ 1: 4 ดังนั้น จึงมี
การประมาณการถึงสัดส่วนโปรตีนต่อพลังงานที่ทำให้กึ่งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด เท่ากับ
120–160 มิลลิกรัม โปรตีนต่อกิโลแคลอรี ค่านี้จะถูกต้องได้ก็ต่อเมื่อทราบประสิทธิภาพการย่อย
ของโภชนาการหลักทั้งหมด

วิตามินและแร่ธาตุ

วิตามิน

วิตามินสามารถเป็นตัวกระตุ้นให้กึ่งอยากกินอาหาร ในอาหารกึ่งควรมีวิตามินบีทั้งหมด
วิตามินซี วิตามินอี ซึ่งวิตามินอีบางตัวอาจได้จากสารอาหาร อีกส่วนหนึ่งกึ่งสามารถที่จะ
สังเคราะห์ขึ้นเองได้ วิตามินส่วนใหญ่ที่มีในอาหารจะเสื่อมสลายไปกับน้ำ ความร้อนระหว่างการ
ผลิต และการเก็บรักษาได้เสมอ หน้าที่สำคัญของวิตามิน ก็เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ร่วมทำ
หน้าที่นำโปรตีน ไขมัน แป้งไปใช้ในการสร้างเลือด เนื้อ กระดูก ผนังเซลล์ ทำหน้าที่ในปฏิกิริยา
ต่างๆ รักษาระดับไขมันในร่างกายโดยการควบคุมการใช้ไขมัน ร่วมทำหน้าที่ส่งสัญญาณคำสั่งจาก
สมอง เป็นแหล่งพลังงานฉุกเฉิน ช่วยเกี่ยวกับการรับแสง การเห็นของตา ช่วยการดูดซึมการใช้
แคลเซียม และฟอสฟอรัสในร่างกายป้องกันสารในร่างกายถูกออกซิไดส์ ช่วยเกี่ยวกับการสืบพันธุ์
ทำให้อาหารซึมผ่านผนังเซลล์ได้ดี และทำให้เลือดแข็งตัวดี

แร่ธาตุ

หน้าที่ของแร่ธาตุ เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างกระดูก เปลือก ช่วยปรับปริมาณน้ำ
ในตัวกึ่ง ทำให้เกิดความสมดุลของกรด-ด่างในร่างกาย ช่วยการยึดเหนี่ยวการทำงานของกล้ามเนื้อ
สัตว์น้ำ สามารถได้แร่ธาตุจากน้ำที่กึ่งอาศัย แร่ธาตุเป็นสารที่กึ่งต้องการในจำนวนน้อยมาก ๆ แต่ก็มี
ความจำเป็น กึ่งสามารถได้รับแร่ธาตุหลายทางทั้งน้ำและอาหาร

ความต้องการวิตามินและแร่ธาตุ

แร่ธาตุที่ใช้ในอาหาร D'Abramo (1998) อ้างตามการศึกษาของ Heinen (1984) โดยใช้ อาหารกึ่งบริสุทธิ์ พบว่า อัตราโรคของกุ้งก้ามกรามจะต่ำลง เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีไพรีดอกซิน หรือ วิตามินซี ต่อมาได้ศึกษา พบว่า ระดับวิตามินซีที่กุ้งก้ามกรามต้องการคือ 100 ม.ก. ต่อ อาหาร 1 ก.ก. ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับความต้องการของปลาชนิดต่าง ๆ คือ 60 – 150 ม.ก. ต่อ อาหาร 1 ก.ก. ไม่มีรายงานในเรื่องปริมาณ และชนิดแร่ธาตุที่กุ้งก้ามกรามต้องการแคลเซียมของสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับความสามารถในการดูดซึมแคลเซียมจากแหล่งน้ำ และปริมาณแคลเซียมในน้ำแหล่งต่าง ๆ แต่ ระดับฟอสฟอรัสที่ต้องการประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์

เอนไซม์ที่ช่วยย่อยไคติน

ไคตินเป็นสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรต เป็นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ลักษณะเป็นเส้นตรงยาวคล้ายเชลลูโลสคือ เป็นโพลิเมอร์ของกลูโคส ไคตินจึงเป็นโพลิเมอร์ ประกอบด้วย ไฮโดรเจน 6.5 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอน 47.3 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน 6.9 เปอร์เซ็นต์ และออกซิเจน 39.4 เปอร์เซ็นต์ โดยประมาณ มีชื่อทางเคมีว่า *Poly N-acetyl-D-glucosamine* สูตรโมเลกุล คือ $(C_8H_{13}NO_3)_n$ คุณสมบัติคือไม่ละลายในน้ำ และตัวละลายอินทรีย์ทั่วไป แต่ถูกย่อยสลายได้ด้วยกรดบางชนิด เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก เป็นต้น ไคตินที่เกิดในธรรมชาติมีโครงสร้างของผลึกที่แข็งแรง มีการจัดตัวของรูปแบบของผลึกเป็น 3 ลักษณะได้แก่ แอลฟาไคติน เบต้าไคติน และแกรมมาไคติน (อุดมชัย, 2535)

ไคตินที่เกิดในเปลือกกุ้ง และปูส่วนใหญ่อยู่ในรูปแอลฟาไคติน ส่วนไคตินที่อยู่ในปลาหมึกพบว่า ส่วนใหญ่เป็นเบต้าไคติน ในการจัดเรียงตัวของโครงสร้างตามธรรมชาติ พบว่า แอลฟาไคติน มีคุณลักษณะของเสถียรภาพทางเคมีสูงกว่าเบต้าไคติน ดังนั้นจึงมีโอกาที่เบต้าไคตินสามารถจะเปลี่ยนแปลงรูปแบบไปเป็นแอลฟาไคตินได้ในสารละลายของกรดแก่ เช่น กรดเกลือ เป็นต้น ส่วนแกรมมาไคตินเป็นโครงสร้างผสมระหว่างแอลฟาไคตินและเบต้าไคติน (ลิลา, 2544) กุ้งจะกินเปลือกบางส่วนของตัวเองเมื่อลอกคราบ จึงทำให้มีการหลั่ง ไคตินเนส (chitinase), ไคโตบินเนส (chitobinase) ในการย่อยไคตินของไคตินสจากเปลือก ไคตินเป็นส่วนหนึ่งร่วมอยู่กับกลูแคน (glucans) และ โปรตีน ซึ่งในเปลือกยังประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ซึ่งทำให้เปลือกแข็ง ทำให้มีกระบวนการย่อยแตกต่างกันไป ในสภาพที่พีเอชในเลือดต่ำลง น้ำย่อยสามารถช่วยในการย่อยหรือสลายแคลเซียมคาร์บอเนตได้บ้าง

คุณค่าทางโภชนาการของอาหารกึ่งก้ามกราม

อาหารของลูกกึ่งก้ามกรามวัยอ่อนนั้น โดยทั่วไปจะเป็นสัตว์น้ำที่มีขนาดเล็ก เช่น อาร์ทีเมีย ที่ฟักเป็นตัวใหม่ๆ หนอนแดง เป็นต้น ต่อมาได้มีการศึกษาถึงความต้องการอาหารของกึ่งก้ามกรามขึ้น เช่น Hanson and Goodwin (1977) อ้างตาม Wantanabe (1975) ซึ่งได้ทดลองเกี่ยวกับความต้องการไลซีน (Lysine) ของกึ่งก้ามกรามวัยรุ่น (juvenile) ในช่วงอายุ 30 วัน โดยใส่ธาตุอาหารที่ครบทุกอย่างในอาหารทั้ง 4 สูตร ยกเว้นไลซีน ที่มีปริมาณต่างกันคือ 0, 0.7, 1.4 และ 2.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อลูกกึ่งอายุ 30 วัน การเจริญเติบโตของลูกกึ่งที่ให้อาหารผสมไลซีน 2.8 เปอร์เซ็นต์ เจริญเติบโตไม่แตกต่างจากสูตรอื่นๆ แต่พบว่าลูกกึ่งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมไลซีน 1.4 เปอร์เซ็นต์ เจริญเติบโตได้ดีที่สุด ส่วนอาหารผสมไลซีน 0.7 เปอร์เซ็นต์ และ 0 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตลดหลั่นลงตามลำดับ ซึ่งตรงกับการทดลองของ New (1980) รายงานไว้ว่าระดับของโปรตีนในอาหารกึ่งควรมีค่าประมาณ 27 – 35 เปอร์เซ็นต์ และควรมีกรดอะมิโนที่จำเป็นดังนี้ คือ ไลซีน 1.4 เปอร์เซ็นต์, อาร์จินีน (Arginine) 13 เปอร์เซ็นต์, เมไทโอนีน (Methionine) 3.0 เปอร์เซ็นต์ และทริปโตเฟน (Tryptophan) 0.6 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ New (1980) ที่อ้างถึง Watanabe (1975) คือ ความต้องการกรดอะมิโนของกึ่งก้ามกรามมีดังนี้ คือ กรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ ฮิสติดีน (Histidine) ไลซีน (Lysine) อาร์จินีน (Arginine) เมไทโอนีน (Methionine) ลิวซีน (Leucine) ไอโซลิวซีน (Isoleucine) วาลีน (Valine) ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) ส่วนที่เป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นได้แก่ โพรลีน (Proline) ไกลซีน (Glycine) ซีสทีน (Cystine) ซีรีน (Serine) อะลานีน (Alanine) กรดแอสพาทิก (Aspartic acid) และกรดกลูตามิก (Glutamic acid) ซึ่งเป็นผลการทดลองที่ต่างจากของ Stahl and Ahearn (1978) ซึ่งได้ศึกษาถึงปริมาณความต้องการกรดอะมิโนในกึ่งก้ามกรามวัยรุ่น จากการทดลองครั้งนี้ใช้กรดอะมิโน 4 ชนิด คือ ไลซีน อาร์จินีน เมไทโอนีนและทริปโตเฟน แต่ละชนิดยังแบ่งออกเป็น 4 ระดับ พบว่ากรดอะมิโนทั้ง 4 ชนิด ไม่ได้มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของกึ่ง ทั้งนี้เพราะในทางเดินอาหารของกึ่งจะมีแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดอะมิโนที่จำเป็นจากสารอาหารอื่นอีก ทั้งในบ่อตามธรรมชาติที่กึ่งอาศัยอยู่ก็มีสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของกึ่งเพียงพอ Sandifer and Joseph (1976) ได้ศึกษาถึงความต้องการกรดไขมันในอาหารกึ่งก้ามกรามวัยรุ่น โดยเติมมันกึ่ง 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารซึ่งจะทำให้ระดับโอเมก้า 3 ในอาหารเพิ่มขึ้น แต่ระดับโอเมก้า 6 ลดลง โดยทดลองเลี้ยงกึ่งก้ามกราม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ากึ่งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมมันกึ่งมีการเจริญเติบโตแตกต่างจากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุมซึ่งไม่ได้เติมมันกึ่งอย่างชัดเจนในช่วงระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์แรกและมีอัตราการรอด 71 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกึ่งที่กิน

อาหารควบคุมมีอัตราอด 68 เปอร์เซ็นต์ แหล่งสำคัญของกรดไขมันที่จะนำมาใช้ คือมันกุ้งอยู่บริเวณส่วนหัวซึ่งเป็นส่วนที่ถูกหักทิ้งไป

การเจริญเติบโตของกุ้ง

Ruello (1976) รายงานว่า กุ้งเป็นสัตว์ที่มีโครงร่างภายนอก (external skeletal system) ซึ่ง หมายถึง มีเปลือกหุ้มตัว ดังนั้นการเจริญเติบโตจึงต้องมีการลอกคราบ และการลอกคราบนั่นเป็นขบวนการที่ซับซ้อนอันหนึ่งโดยที่ Green (1961) รายงานว่า การลอกคราบซึ่งเป็นขบวนการเจริญเติบโตของพวกครัสเตเชียน (crustacean) นั้นมีอยู่ 4 ระดับ คือ ขั้นที่ 1 เรียกโปรเอกดาซิส (proecdysis) เป็นระยะที่โครงร่างแข็งภายนอกของสัตว์เริ่มเคลื่อนออก ในขณะที่ผิวกันเคลือบในเลือดจะเพิ่มมากขึ้นและถูกนำ มาสร้างเป็นโครงร่างภายนอก (exoskeleton) อันใหม่ โครงร่างภายนอกอันใหม่นี้จะอยู่ใต้โครงร่างภายนอกอันเก่า ขั้นที่ 2 เรียกเอกดาซิส (ecdysis) เป็นระยะที่โครงร่างภายนอกอันเก่าถูกสลัดอย่างแท้จริง และสัตว์จะพองตัวขึ้น ขั้นที่ 3 เรียกเมทเอกดาซิส (metecdysis) เป็นระยะที่โครงร่างภายนอกอันใหม่เริ่มแข็งตัวระยะสุดท้ายเป็นระยะ Inter moult สัตว์จะมีสภาพเหมือนธรรมดา มีเปลือกแข็ง ขบวนการลอกคราบเพื่อเพิ่มขนาดของสัตว์พวกครัสเตเชียนนี้ ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนที่มาจากต่อมต่าง ๆ ภายในร่างกาย Stephen (1975) รายงานว่า กุ้งที่อยู่ในที่มืดตลอดเวลาจะไม่ลอกคราบ ในขณะที่กุ้งลอกคราบนั่น ถ้ากุ้งมีโปรตีนในร่างกายมาก เมื่อลอกคราบแล้ว เคลือบจะแข็งตัวได้น้อย และจะทำให้คราบใหม่ไม่แข็งตัว ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กุ้งตายได้อัตราการเจริญเติบโตโดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อกุ้ง 1 ตัวหาได้จากสูตร (วิเชียร, 2521)

แบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้ง

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เพิ่มจำนวนได้เร็วในเวลาอันสั้น โดยการแบ่งตัวจุลินทรีย์มีหลายกลุ่ม และมีหน้าที่แตกต่างกันไป โดยปกติแล้วจุลินทรีย์มากมายจะอยู่ในธรรมชาติ ในดิน น้ำ อากาศ ร่างกายทั้งภายในภายนอกของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย จุลินทรีย์เหล่านี้จะมีทั้งที่มีประโยชน์และโทษต่อสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ หากสภาวะแวดล้อมมีความเหมาะสม ระบบนิเวศน์อยู่ในระบบสมดุล สัตว์ไม่มีความเครียด จุลินทรีย์ให้โทษ จะไม่แสดงอาการหรือไม่ก่อให้เกิดโรคต่อสิ่งมีชีวิต จึงมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับชนิด และปริมาณของแบคทีเรียในสัตว์น้ำต่าง ๆ ออกมาเพื่อเป็นประโยชน์ ในด้านการป้องกันโรคโดยวิธีควบคุมสมดุลของปริมาณจุลินทรีย์ประจำถิ่น Dempsey

and Kitting (1987) ศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจากตัวอย่างกุ้งสีน้ำตาล (*Penaeus azteus*) บริเวณทางเดินอาหารพบว่าจัดอยู่ในสกุล *Vibrio* sp., *Chromobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Aromonas* sp., *Photobacterium* sp., *Cytophaga* sp., และ *Flavobacterium* sp. ซึ่งมี 5 สกุลที่พบบ่อย คือ *Vibrio* sp., *Alcaligenes* sp., *Aromonas* sp., *Chromobacterium* sp., *Pseudomonas* sp. แบคทีเรียทั้งหมดมีจำนวน $7.5 \times 10^6 - 2.6 \times 10^7$ cfu/g (Dempsey, Kitting & Rosson, 1989) และในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) นั้น Yuthaehit et al. (1990) ได้แยกแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบจำนวนแบคทีเรีย $7.5 \times 10^6 - 1.3 \times 10^7$ cfu/g แบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จำแนกเป็น 9 สกุล คือ *Aromonas* sp., *Photobacterium* sp., *Arizona* sp., *Enterobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Vibrio* sp., *Yersinia* sp. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ รัตนชัย และวิวัฒน์ (2531) ที่พบ *Vibrio* sp., *Aromonas* sp. และ *Pseudomonas* sp. ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ ในประเทศไทยมีการศึกษาแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำพ่อแม่พันธุ์จากทะเลอันดามัน พบแบคทีเรียชนิดแกรมลบ จัดอยู่ในสกุล *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholera* และ *V. vulnificus* จากการศึกษาแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้ง พบว่าเป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* sp., ประมาณ 90.1 เปอร์เซ็นต์ (เศรษฐเกียรติ และคณะ, 2533) มีจำนวน $10^4 - 10^7$ cfu/g (Yuthaehit et al., 1990) (Dempsey et al., 1989 ; chendrasekaram, Lakshmanaperumalsamy and chendram ham, 1984) *Vibrio* sp., พบในกุ้งปริมาณสูง เมื่อกุ้งเกิดความเครียดจากการเลี้ยงแบบหนาแน่น จัดการเลี้ยงไม่ดี การลอกคราบและการจับ แบคทีเรียกลุ่มนี้จะเข้าสู่ตัวกุ้งได้ *Vibrio* sp., ในสปีชีส์เดียวกัน โดยทั่วไปแบคทีเรียในสกุลนี้จะป็น Secondary cause ในการทำให้เกิดโรกับกุ้ง (Sinderman and Lightner, 1988)

กุ้งเป็นโรคที่เกิดจาก *Vibrio* sp., เรียกว่าโรค Vibriosis หรือ Vibrio Disease of Penaeid Shrimp (Johnson, 1978) *Vibrio* sp., ที่ทำให้เกิดโรคได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum* (ชะลอ และคณะ, 2530 ; Johnson, 1982), *V. metchnikovii* และ *V. fluvialis* (Kaper et al., 1983) *V. vulnificus*, *V. harveyi*, (ลิลา และคณะ, 2528) *Vibrio* sp., ที่ก่อโรคที่แยกได้จากอวัยวะต่างๆ และในทางเดินอาหารของกุ้งที่เป็นโรค (ชะลอและคณะ, 2530) วลัยพร (2544) ทำการศึกษาการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม พบว่า เชื้อที่เจริญ บนอาหาร MRS จำนวน 54 ไอโซเลทและเชื้อจากคลังเก็บเชื้อ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกุ้งก้ามกราม และได้ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อที่มีความเหมาะสม เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกโดยการทดสอบการย่อยเม็ดเลือดแดง ความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) พบว่า LP64, LM64, E26 และ F4 มี

คุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกซึ่งสามารถจำแนกเชื้อในระดับสายพันธุ์ พบว่า เชื้อ LP64 เป็นเชื้อ *Lactobacillus plantarum* เชื้อ LM64 เป็นเชื้อ *Lactobacillus casei* เชื้อ E26 เป็นเชื้อ *Enterococcus faecium* และ เชื้อ F4 เป็นเชื้อ *Lactobacillus lactis*

คุณสมบัติของโปรไบโอติก

คุณสมบัติที่ดีของ โปรไบโอติก(Havenaar and Huis in't Veld, 1992) มีดังนี้

1. เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลประโยชน์ต่อสัตว์ เช่น เพิ่มการเจริญเติบโต หรือต้านทานต่อโรค
2. ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค จุลินทรีย์โปรไบโอติกและองค์ประกอบของเซลล์ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ของเซลล์ต้องไม่สร้างปฏิกิริยาที่เป็นพิษต่อสัตว์
3. สามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อโรคได้
4. มีการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในลำไส้ และสร้างตัวเองให้โดดเด่นเพื่อยึดผนังลำไส้ เป็นการป้องกันแบคทีเรียที่ก่อโรค
5. ทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เช่น สภาพกรด และปริมาณสารอาหารน้อย หรือมีความทนทานต่อสารพิษ
6. สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิกว้างระหว่าง 20-60 องศาเซลเซียส
7. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคได้
8. ผลิตง่าย สามารถทนต่อสภาพการเก็บรักษาก่อนมีการใช้งาน และมีจำนวนเซลล์ที่ออกฤทธิ์สูงที่ เช่น ทนต่อสภาพแห้งแล้งในรูปผง ดังนั้นจุลินทรีย์ที่จะทำได้ดีในสภาพดังกล่าว จึงเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถปรับตัวได้ดี
9. เป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ ไม่มีการถ่ายทอดพลาสมิด

เมตะบอลิซึมของกรดอะมิโน

โปรตีนที่สัตว์นำกินเข้าไปจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนจนกระทั่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุด พร้อมทั้งจะถูกดูดซึมผ่านผนังทางเดินอาหาร ไปยังอวัยวะต่างๆ กรดอะมิโนเหล่านี้จะถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆดัง ภาพที่ 2 ซึ่งอธิบายได้ดังนี้

1. นำไปซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ หรือนำไปสังเคราะห์โปรตีนในร่างกาย (protein synthesis) โดยการแปลรหัสพันธุกรรม (translation) ในไซโตพลาสซึม จึงทำให้สัตว์นำมีโปรตีนในกล้ามเนื้อ

หรือเนื้อเยื่อ (tissue protein) จะนั้น สัตว์น้ำที่ได้รับโปรตีนไม่เพียงพอหรือไม่เหมาะสมจะมี การเจริญเติบโตช้าลง หรือน้ำหนักลดลง เมื่อสัตว์น้ำได้รับกรดอะมิโนไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึง ต้องนำกรดอะมิโนที่สะสมในร่างกายมาใช้ประโยชน์

2. นำไปสร้างสารที่ควบคุมการทำงานของร่างกายหรือสารประกอบชีวเคมีที่สำคัญ เช่น ฮอร์โมน เอนไซม์ สารต้านทานโรค สารพันธุกรรม และสารสื่อประสาท เป็นต้น

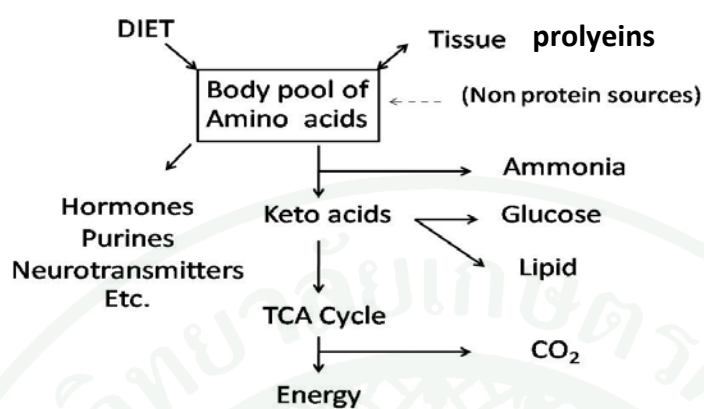
3. ถ้ากรดอะมิโนอิสระมีมากพอก็จะถูกสะสม ไว้ในแหล่งเก็บกรดอะมิโน (body pool of amino acid) ซึ่งอยู่บริเวณเนื้อเยื่อและพร้อมที่จะนำมาใช้ประโยชน์ดังนี้

3.1 นำไปซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ หรือนำไปสังเคราะห์โปรตีนเมื่อกรดอะมิโนที่ได้จาก อาหารไม่เพียงพอ

3.2 เปลี่ยนเป็นไขมันหรือไกลโคเจนสะสมในร่างกายเมื่อได้รับกรดอะมิโนเกินความ ต้องการและพร้อมที่จะนำกลับไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน เมื่อร่างกายขาดอาหารเป็นเวลานาน หลายวัน

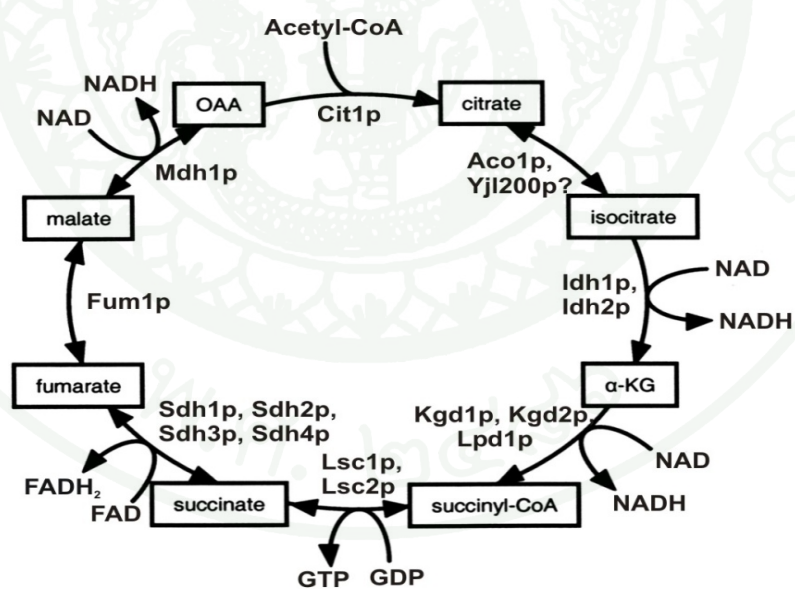
3.3 เผาผลาญให้พลังงานโดยหมู่อะมิโนจะถูกกำจัดออกไปเป็นแอมโมเนีย และ กรดอะมิโนที่ถูกกำจัดออกไปก็จะกลายเป็นกรดคีโตน (keto acid) ซึ่งพร้อมที่จะเข้าไปในวัฏจักร กรดไตรคาร์บอกซิก (tricarboxylic acid cycle) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า วัฏจักรเครบส์ (krebs cycle) เพื่อเผาผลาญพลังงานออกมา

วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิก (ภาพที่ 3) จัดเป็นวัฏจักรที่สำคัญของขบวนการเมตะบอลิซึม ของโปรตีน, ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตที่จะให้พลังงานออกมา ธาตุอาหารเหล่านี้ จะถูกสลายด้วย ปฏิกิริยาเคมีจำนวนมาก จนได้เป็นอะซิติลโคเอ ไซม์ เอ (acetyl coenzyme A) และผ่านเข้ามาในวัฏ จักรกรดไตรคาร์บอกซิก พร้อมกับถูกสลายตัวด้วยปฏิกิริยา จำนวนมากให้เกิดพลังงานออกมาในรูป เอทีพี (ATP) และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้สารตัวกลาง (intermediate metabolite) วัฏจักร กรดไตรคาร์บอกซิกสามารถใช้เป็นสารต้นตอ (precursor) ในการสังเคราะห์สารต่างๆ หลายชนิด เช่นกรดอะมิโน, กรดไขมัน, คลอเลสเตอรอล เป็นต้น (วีรพงศ์, 2535)



ภาพที่ 2 เมตะบอลิซึมของโปรตีน

ที่มา: วีรพงศ์ (2535) อ้างตาม Walton (1985)



ภาพที่ 3 วัฏจักรกรดไทรคาร์บอกซิลิก (TCA cycle)

ที่มา: วีรพงศ์ (2535) อ้างตาม Hoar (1975)

เอนไซม์ปาเปน (Papain)

เอนไซม์ปาเปน เป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง ที่พบในมะละกอ ซึ่งจะย่อยพันธะเปปไทด์เป็นหลัก ถ้าจัดกลุ่มของเอนไซม์ที่ได้จากมะละกอ พบว่า มีมากในผล และส่วนอื่น ๆ เอนไซม์ปาเปนใช้กันมากในการทำเบียร์ ทำให้เนื้อนุ่ม ปาเปนมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 21000 มีจุด Isoelectric point (pI) เท่ากับ 8.75 มีความคงตัวดีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพของเอนไซม์จะลดลงร้อยละ 20 เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือน พีเอช ที่เหมาะสมต่อการย่อยคือ 6-7 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ในช่วง 60-80 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เท่ากับ 100 องศาเซลเซียส 15 นาที สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มาโครโกลบูลิน (macroglobulin) อีออนของโลหะ (metal ion) leupeptin และอนุพันธ์ของสารประกอบคาร์บอนิลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างปาเปนกับสารตั้งต้นจะเกิดบริเวณผิวโมเลกุลของปาเปน ในส่วนที่มีลักษณะเป็นร่อง (groove) ซึ่งมีหมู่ซัลไฮดริล (SH-group) ของซิสเทอีน (cysteine) ดังนั้นถ้า หมู่ซัลไฮดริล (SH-group) ถูกออกไซด์โดยโลหะหนักหรือสารพวก oxidizing agent เกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ขึ้น กิจกรรมของปาเปนจะหยุดชะงักลง จึงควรป้องกันไม่ให้มีโลหะหนักอยู่ในวัตถุดิบ ส่วนสารที่เป็นตัวเร่งได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซิสเทอีน ซัลไฟด์ และรีดิวซ์กลูตาไทโอน โดยสารเหล่านี้ทำหน้าที่รีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโมเลกุลของปาเปนให้อยู่ในรูปหมู่ไทโธลอิสระ (free-thiol group) ทำให้การทำงานดีขึ้น ในการทำงานของปาเพนนั่นจะไฮโดรไลซ์พันธะเปปไทด์ เอไมด์และเอสเทอร์ของกรดอะมิโน โดยแสดงคุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์แบบ broad specificity คือสามารถไฮโดรไลซ์สารตั้งต้นได้หลายชนิด ทั้งนี้ นอกจากไฮโดรไลซ์พันธะเปปไทด์แล้ว ยังสามารถไฮโดรไลซ์พันธะเอไมด์ เอสเทอร์ และไทโอเอสเทอร์ได้อีกด้วย

ชีววิทยาของไหมป่า

ไหมป่า (wild silkworm or non – mulberry silkworm) เป็นไหมที่กินพืชอื่นที่ไม่ใช่ใบหม่อนเป็นอาหาร ส่วนตัวไหมที่กินใบหม่อนเป็นอาหารเรียกว่า ไหมบ้าน (domestic silkworm) หรือ “ไหมหม่อน” (mulberry silkworm) แต่โดยทั่วไปเรียกไหมบ้านที่เลี้ยงกันอย่างแพร่หลายว่าไหม (silkworm) เพียงสั้นๆ เท่านั้นก็เข้าใจกันว่าหมายถึงไหมชนิดไหน

ไหมป่าในอดีตจะถูกเก็บรังมาจากต้นไม้ที่เป็นพืชอาหารของมัน โดยไม่ต้องลงทุนเลี้ยง เพียงลงทุนเก็บรังนำมาดึ่ง มาสาว เอาเส้นมาทำเป็นเส้นด้าย ไหมป่ามีอยู่ด้วยกันหลายตระกูล เช่น

ไหมอีรี่ (eri silkworm : *Samia ricini*) กินใบมันสำปะหลังและใบละหุ่งเป็นอาหาร

ไหมทาชาร์ (tasar silkworm : *Antherea* spp.) กินใบมะกอก พะยอม เก้ง หรือ โอ๊ก เป็นอาหาร

ไหมมูก้า (muga silkworm : *A. assamensis*) กินใบอบเชย การบูร และเสียด ฯลฯ เป็นอาหาร

ไหมป่าทั้งสามชนิดถูกนำมาเลี้ยงในเชิงพาณิชย์แล้วหลายประเทศ อาทิ อินเดีย ปากีสถาน เนปาล ญี่ปุ่น และจีน แต่ยังคงเรียกว่าไหมป่าเช่นเดิม และสามารถอยู่รอดในธรรมชาติได้เอง “ไหมป่า” เป็นสิ่งที่ค่อนข้างใหม่สำหรับเกษตรกรไทยยังไม่มีใครเลี้ยงเป็นอาชีพ แม้จะมีการศึกษาการเลี้ยงไหมป่าในประเทศไทยมาตั้งแต่ ปี 2519 โดย คุณสมนึก วงศ์ทอง และคณะ ได้เลี้ยงไหมป่าอีรี่ ที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง ด้วยมันสำปะหลัง และใบละหุ่ง แต่ไม่ประสบความสำเร็จเนื่องจากเกิดโรคระบาดจากเชื้อแบคทีเรีย มีการเลี้ยงรอดเพียง 46 เปอร์เซ็นต์ (วิโรจน์, 2548)

ไหมอีรี่

ไหมอีรี่เป็นไหมป่าเพียงชนิดเดียวที่มนุษย์สามารถนำมาเลี้ยงได้ครบวงจรชีวิตอย่างสมบูรณ์ ฉะนั้นแนวทางการเพาะเลี้ยงไหมอีรี่ให้มีการขยายตัวในเชิงอุตสาหกรรม ในประเทศไทย นั้น มีความเป็นไปได้อย่างมาก เนื่องจากไหมอีรี่สามารถเพาะเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี แม้กระทั่งในฤดูร้อน เพราะไหมอีรี่มีพืชอาหารหลายชนิด อาทิ ละหุ่ง ใบมันสำปะหลัง อ้อยช้าง ฯลฯ ขณะที่ไหมบ้านต้องเลี้ยงด้วยใบหม่อนเพียงอย่างเดียว และมักขาดแคลนในฤดูร้อน ไหมอีรี่เลี้ยงง่าย มีความทนต่อโรคสูง ทนแมลงศัตรู ไหมอีรี่ให้อาหารเพียง 1 มื้อต่อวัน ขณะที่ไหมบ้านต้องให้อาหารถึง 3 มื้อต่อวัน ดังนั้นการเลี้ยงไหมอีรี่จึงเป็นการประหยัดแรงงาน และต้นทุนในการเลี้ยง โดยรูปแบบการเลี้ยงไหมอีรี่ สามารถใช้องค์ความรู้ ภูมิปัญญาท้องถิ่น ที่ปรับใช้ตามลักษณะเดียวกับเลี้ยงไหมบ้าน นอกจากนี้ ไหมอีรี่ยังมีความพิเศษ ที่มีรังไหมแบบเปิด ตัวไหมสามารถเจาะรังไหมออกมาได้ โดยไม่จำเป็นต้องฆ่าดักแด้ การผลิตเส้นใยไหมจากการที่ไหมอีรี่มีจุดเด่นของผ้าไหมที่มีความสวยงาม เฉพาะตัวและเป็นเอกลักษณ์ จึงเป็นจุดขายที่สื่อให้เข้าถึงกลุ่มผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ผ้าไหมที่ต้องการผ้าไหมที่มีความบริสุทธิ์ ไม่ทำลายชีวิตสัตว์อื่น นอกจากคุณสมบัติเด่นของเส้นใยไหมและตัวอ่อนของไหมอีรี่ แม้แต่รังไหม มีการศึกษาวิจัยในเบื้องต้น พบรายงานว่ามีการสะสมโมโนบางชนิดที่ดี

สามารถนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางรวมถึงผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพต่างๆ (ศิริชัย และคณะ, 2544)

วงจรชีวิตและรูปร่างลักษณะของไหมอีรี

ไหมอีรีเป็นผีเสื้อกลางคืนในอันดับ Lepidoptera แมลงชนิดหนึ่งอยู่ใน Phylum Arthropoda อยู่ในวงศ์ Saturniidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Philosamia ricini* มีวงจรชีวิตประมาณ 45-60 วัน ไหมอีรีสามารถเลี้ยงได้ตลอดปี 4-5 รุ่นต่อปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศในแต่ละฤดู เป็นที่ทราบกันดีว่า ไหมอีรีสามารถเลี้ยงได้ทั้งในที่สูงและที่ราบ และอุณหภูมิในช่วง 25-45 องศาเซลเซียส ในระหว่างการเจริญเติบโตไหมอีรีจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะผีเสื้อตัวเต็มวัย ดังนี้

1. ระยะไข่ (eggs) ไข่มีลักษณะกลมเล็ก ๆ สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน เรียงติดกันเป็นแพ เปลือกไข่ค่อนข้างแข็ง ผีเสื้อจะวางไข่อยู่หลายวัน โดยวางไข่ได้จำนวนมากในวันแรก และลดปริมาณลงในวันต่อไป ไข่มีอายุประมาณ 8-10 วัน เมื่อใกล้ฟักไข่จะเปลี่ยนเป็นสีเทา และดำ ผีเสื้อที่สมบูรณ์จะสามารถวางไข่ได้ถึง 300 ฟอง
2. ระยะตัวหนอน (larvae) ไหมอีรีจะเจริญเติบโตในระยะหนอนแบ่งเป็น 5 วัย หนอน โดยจะมีการลอกคราบ 4 ครั้งคือ
 - 2.1 หนอนวัยที่ 1 เป็นแรกฟักออกจากไข่ โดยจะเจาะเปลือกออกมา หนอนที่ฟักออกมาใหม่ ๆ จะอยู่รวมกันเป็นกระจุก ลำตัวแต่ละปล้องจะมีขนสีดำปกคลุมทั้งตัว ตัวหนอนมีสีเหลือง หัวมีสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ มีลำตัวยาวประมาณ 0.8 เซนติเมตร หนอนไหมจะกินพืชอาหารทันทีที่ฟักออกจากไข่ หนอนวัยที่ 1 จะมีอายุประมาณ 1-3 วัน
 - 2.2 หนอนวัยที่ 2 ลำตัวจะเหมือนหนอนวัยที่ 1 คือ ตัวหนอนมีสีเหลือง แต่จะมีสีเหลืองต่ำลงแต่ยังมีขนสีดำปกคลุมทั้งตัว จะมีขนาดใหญ่กว่าหนอนวัยที่ 1 คือ ขนาดลำตัวยาวโดยเฉลี่ยประมาณ 1.3 เซนติเมตร ตัวหนอนจะกินอาหารมากขึ้นและเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว หนอนวัยที่ 2 มีอายุประมาณ 4-5 วัน

2.3 หนอนวัยที่ 3 ลำตัวหนอนจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีขาวนวล ขนสีดำบนลำตัวจะเริ่มหนาขึ้นและเปลี่ยนเป็นหนามสีขาว ซึ่งเป็นเพียงก้อนเนื้อที่ไม่แหลมคม หัวหนอนเปลี่ยนเป็นสีดำ ตัวหนอนจะเริ่มมีการเคลื่อนที่มากขึ้น และกินอาหารเกือบตลอดเวลา มีการเจริญเติบโตเร็วมากขึ้น หนอนวัยที่ 3 มีอายุประมาณ 4-5 วัน โดยในวันสุดท้ายก่อนจะลอกคราบขึ้นวัยที่ 4 หนอนใหม่จะมีขนาดยาวโดยเฉลี่ยประมาณ 1.6 เซนติเมตร

2.4 หนอนวัยที่ 4 ลำตัวหนอนมีสีขาวนวลอมเหลืองมีหนามสีขาวอยู่ด้านหลัง (dorsal) ปล้องละ 4 เส้น และอยู่ด้านข้าง (lateral) ได้รู้หายใจอีกปล้องละ 2 เส้น ข้างซ้ายและขวา หัวหนอนเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน และบริเวณสีดำที่แก่ เห็นรูหายใจ (spiracle) สีดำอยู่สองข้างลำตัวอย่างชัดเจน หนอนใหม่จะกินอาหารปริมาณมาก และตัวโตขึ้นจากวัยที่ 3 มาก โดยในวันสุดท้ายก่อนจะลอกคราบขึ้นวัยที่ 5 หนอนใหม่จะมีขนาดยาวประมาณ 4 เซนติเมตร หนอนใหม่วัยที่ 4 มีอายุประมาณ 5-6 วัน

2.5 หนอนวัยที่ 5 หนอนใหม่วัยนี้จะมีความใหญ่ลำตัวหนอนมีสีขาวนวล และมีหนามสีขาว หัวหนอนมีสีเหลืองและมีสีดำที่แก่ หนอนวัยนี้จะกินอาหารปริมาณมากอย่างเห็นได้ชัด และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ตัวหนอนที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีขนาดยาว ขนาดยาวประมาณ 6.5-7 เซนติเมตร เมื่อหนอนใหม่เจริญเติบโตเต็มที่ จะหยุดกินอาหารและถ่ายของเสียออกจนหมด กระเพาะ ลำตัวหนอนจะหดสั้นลง และเปลี่ยนเป็นสีเหลืองใส เรียกว่าไหมสุก แสดงว่าไหมพร้อมที่จะเข้าดักแด้ หนอนใหม่วัยที่ 5 มีอายุประมาณ 7-8 วัน

3. ระยะดักแด้ (pupae) เมื่อไหมสุกหนอนจะเริ่มเดินไปมา เพื่อหาที่เหมาะสมต่อการทำรัง (cocoon) เข้าดักแด้ โดยปกติมักอยู่ตามมุมที่หลบซ่อนได้และมีจุดให้เส้นใยไหมยึดเกาะ จากนั้นจะเริ่มทำรังหุ้มตัวเองโดยการคายสารเป็นเส้นใยสีขาวออกมาทางปากเพื่อห่อหุ้มตัวเองไว้ สารนี้ออกมาจากต่อมกลั่นเส้นใย (silk glands) เมื่อออกจากปากและถูกอากาศจะแข็งตัวเป็นเส้นใย หนอนใหม่จะใช้ระยะเวลาทำรัง 3-4 วัน ตัวหนอนจะพักอยู่ภายในรัง และเริ่มลอกคราบครั้งสุดท้ายเพื่อเข้าเป็นดักแด้อยู่ภายในรัง เมื่อเป็นดักแด้ที่สมบูรณ์ เวลาเขย่งรังจะมีเสียงดักแด้กลิ้งอยู่ภายในรัง ระยะดักแด้ในเวลา 16-20 วัน ลำตัวดักแด้มีลักษณะอ้วนตัน มีเปลือกแข็งสีน้ำตาลเข้ม มีขนาดโดยเฉลี่ย 1.2x2.8 เซนติเมตร เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้

รังไหมมีสีขาวรูปร่างยาวเรียวค่อนข้างแบน เส้นใยจะสานกันอย่างหลวมๆ ไม่อัดแน่นเหมือนไหมหม่อน ปลายรังด้านหนึ่งค่อนข้างแหลม ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งจะเปิดเป็นรูเล็ก ๆ

สำหรับให้ผีเสื้อไหมออกจากรัง ซึ่งต่างจากไหมหม่อนซึ่งมีรังปิดหมดทุกด้าน รังไหมอิตาลีเหมือนกับรังไหมหม่อนคือ เป็นเส้นใยที่ประกอบด้วยสาร fibroin ล้อมรอบด้วย sericin ซึ่งเป็นสารเหนียวเพื่อประสานเส้นใยให้เป็นรังหุ้มหนอนไหมไว้ แต่อัตราส่วนขององค์ประกอบทั้งสองส่วนนี้แตกต่างกัน ทำให้เส้นใยไหมอิตาลีมีคุณสมบัติแตกต่างจากไหมหม่อน

4. ระยะผีเสื้อ (moth) ตัวเต็มวัย ผีเสื้อจะมีอายุโดยเฉลี่ย 7-10 วัน ผีเสื้อเพศผู้มักจะออกจากดักแด้ก่อนเพศเมีย ลักษณะของผีเสื้อคือ มีขนาดใหญ่เมื่อกางปีกเต็มที่จะยาวถึง 4-5 นิ้ว ลำตัวกว้างประมาณ 2.8-3.2 เซนติเมตร เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้โดยเฉพาะที่ส่วนท้อง ปีกมีสีน้ำตาลดำปนเทา ตรงกลางของแต่ละปีกจะมีรูปพระจันทร์ครึ่งเสี้ยวสีเหลืองขาวตัดขอบด้วยสีดำ ทั้งปีกคู่หน้าและหลังจะมีแถบสีขาวตัดสีดำพาดกลางปีกตามขวาง ปีกคู่หลังมีสีเดียวกับปีกคู่หน้า บริเวณใกล้ ๆ ปลายปีกทั้งสองจะมีสีน้ำตาลเข้มกว่าโคนปีก มีแถบสีขาวยื่นออกมาจากขอบปีกด้านในติดตัวผีเสื้อมาถึงกลางปีก ตัวผู้ที่ออกมาจากดักแด้ใหม่ จะเกาะนิ่งห้อยตัวลงมาประมาณ 1-2 ชั่วโมง จนปีกแห้ง หลังจากนั้นจะกระพือปีกและเริ่มเข้าหาตัวเมียเพื่อผสมพันธุ์ ตัวเมียจะวางไข่ตลอดทั้งคืนและอาจวางไข่ได้ 2-3 คืน ผีเสื้อไม่บินและไม่กินอาหาร (ทิพย์ดีและคณะ, 2549)



ภาพที่ 4 ไหมอิตาลี

ที่มา: ศิวลิขและคณะ (2544)

คุณค่าทางโภชนาการของหนอนไหมอิตาลี

ข้อมูลทางโภชนาการแสดงให้เห็นว่า หนอนไหมอิตาลีวัย 3 และ วัย 5 มีองค์ประกอบเป็นโปรตีน 54.63-53.91 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 9.51-11.48 เปอร์เซ็นต์ มีเถ้า 1.28-1.34 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใย 7.97-8.04 เปอร์เซ็นต์ มี neutral lipid ถึง 71.85 เปอร์เซ็นต์ และเป็น phospholipid เพียง 28.15 เปอร์เซ็นต์ มีค่า hydroperoxide ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นไหมอิตาลีสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้เพราะมีโปรตีนและไขมันสูงมากไขมันในไหมอิตาลีเป็นชนิดที่จำเป็นต่อการ

เจริญเติบโตของสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์ปีกและสัตว์น้ำ (Jintasatapom *et al.* 2002) ตัวหนอนไหมอีรีใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ดีทั้งในลักษณะแช่แข็งหรือทำแห้ง เป็นที่คาดว่าจะมีการขยายตัวและพัฒนาการเลี้ยงสัตว์ภายในประเทศมากขึ้น เพราะจำนวนประชากรของประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี แต่ประเทศไทยมีวัตถุดิบไม่เพียงพอต่อความต้องการของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาป่นซึ่งเป็นวัตถุดิบที่สำคัญของอาหารสัตว์ ในอาหารของกิ้งกูดาค้า สัตว์น้ำอื่น ๆ สัตว์ปีก และสุกร จะมีปลาป่นเป็นวัตถุดิบผสมอยู่ถึง 32.00, 14.25, 5-8 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดักแด้ และหนอนไหมจึงอาจนำมาใช้ทดแทนปลาป่นได้ (ปลาป่นชั้นดีอาจมีโปรตีนสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งหากใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนในการทำอาหารสัตว์หลาย ๆ ประเภท ก็จะมีตลาดที่ใหญ่มากสำหรับการใช้ดักแด้ไหมทำอาหารสัตว์หรือผสมในอาหารสัตว์ และใช้ในการเลี้ยงปลา ไม่ว่าจะใช้เป็นการเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารของคนหรือเลี้ยงเพื่อความสวยงาม เป็นที่นิยมและเป็นอุตสาหกรรมทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็กในปัจจุบัน ไหมอีรีทั้งที่เป็นหนอนสดที่มีชีวิต หนอนแห้งหรือแช่แข็ง สามารถใช้เลี้ยงปลาสวยงามได้หลายชนิด เช่น ปลากัด ปลาทอง ปลาเสือสุมาตรา ปลาหมอเขียว และปลาสวยงาม

โดยพบว่าปลาดังกล่าวมีการเจริญเติบโตดี มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่า ๆ กับเมื่อกินอาหารเม็ดลอยน้ำสำหรับปลาที่มีขายอยู่ทั่วไป ซึ่งปริมาณกรดไฮโดรไลซายินในหนอนไหมอีรี (*Philosamia ricini* B.) วัย 5 และดักแด้ ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลัง ตั้งแต่วัย 1-5 จนกระทั่งเข้าดักแด้ พบว่าหนอนและดักแด้ของไหมอีรีมีปริมาณกรดนี้อยู่ระหว่าง 50.47 – 6.21 มก.ต่อ กก.น.น.แห้ง ซึ่งต่ำกว่าใบมันสำปะหลังสด (961.22 มก. ต่อ กก. น.น.แห้ง) อยู่มาก ปริมาณกรดไฮโดรไลซายินในหนอนวัย 5 และดักแด้ที่เพาะเลี้ยงด้วยใบมันสำปะหลังมีปริมาณที่ต่ำมาก ซึ่งปลอดภัยต่อการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ และการประยุกต์ใช้มีการคาดการณ์การขยายตัวและการพัฒนาการเลี้ยงสัตว์ภายในประเทศมากขึ้นเพื่อให้สอดคล้องกับประชากรที่เพิ่มขึ้นทุกปี ซึ่งภายในประเทศไทยมีวัตถุดิบไม่เพียงพอต่อความต้องการของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาป่น เป็นวัตถุดิบที่มีความสำคัญมากของอาหารเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอุตสาหกรรม การผลิตอาหารของกิ้งกูดาค้า สัตว์น้ำอื่น ๆ

มีการศึกษาการใช้ดักแด้ไหมทดแทนปลาป่นในอาหารกิ้งก่ามกราคมซึ่งสามารถใช้ทดแทนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (สิทธิชัย, 2545) ดังนั้นการใช้ดักแด้และหนอนไหมเป็นอนาคตในการทดแทนปลาป่นได้และเป็นแหล่งโปรตีนได้เป็นอย่างดีจากการที่ดักแด้ไหมมีโปรตีนและไขมันสูงทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมที่จะใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ดักแด้ที่นำมาเป็นอาหารมนุษย์

อาจใช้ผักแต่สดที่ต้องตัดรังไหมเอาผักแต่ออกมา ซึ่งทำให้รังเสีย สาวลำบากหรือสาวไม่ได้ หรือเป็นผักแต่มีเกาะออกมาจากรังไหมที่ผ่านการต้มแล้วและสาวเส้นไหมออกแล้ว เหลือเพียงเปลือกบาง ๆ หุ้มผักแต่ที่ต้มสุกแล้ว สำหรับผักแต่ที่เป็นอาหารสัตว์ อาจนำรังไหมที่ต้มแล้วและสาวเส้นไหมออกไปแล้ว มาบดทั้งหมดซึ่งจะประกอบด้วยผักแต่ที่ต้มสุกแล้ว กราบของหนอนวัย 5 ที่ลอกทิ้งไว้ก่อนเข้าผักแต่และเปลือกรังบางๆซึ่งเป็นผนังชั้นในสุดของรังไหมที่ติดกับผักแต่ แต่ไม่ว่าจะใช้ผักแต่ในรูปแบบใด การจัดทำเป็นอาหารสำเร็จรูป เช่น บดเป็นผง เป็นเม็ด จะสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้สะดวกขึ้น หรืออาจใช้เป็นอาหารเสริม โดยจัดทำสูตรผสมร่วมกับสารอาหารอื่น ๆ การใช้ผักแต่เป็นอาหารสัตว์จะช่วยเพิ่มคุณค่าผลผลิตของไหม และอาจช่วยดึงดูดให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงไหมมากขึ้น เพื่อสืบทอดวิถีชีวิตอันเป็นวัฒนธรรมสังคมชนบทของประเทศต่อไป

โปรตีนไฮโดรไลเซต

โปรตีนไฮโดรไลเซต หมายถึง ของผสมของเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระที่ได้จากการย่อยโปรตีนบริเวณพันธะเปปไทด์ด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์โปรติเอส ทั้งนี้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติบางประการของโปรตีน เช่น คุณสมบัติการละลาย คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน และคุณสมบัติการเกิดโฟม เป็นต้น (Peterson and Johson, 1978) ทั่วไปการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตมี 2 วิธี ได้แก่

การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารเคมี

การย่อยสลายด้วยสารละลายกรดและเบส ซึ่งการย่อยสลายด้วยสารเป็นวิธีที่มีการผลิตต่ำ แต่มีข้อจำกัดมากในด้านการใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหาร และยังเป็นวิธีที่ยากต่อการควบคุม ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่คงที่

การย่อยสลายด้วยสารละลายกรด เช่น การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดซัลฟูริก นั้นพันธะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติก (aspartic) อยู่ด้านปลายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเปปไทด์อื่น ๆ ประมาณ 100 เท่า วิธีการนี้จะทำให้กรดอะมิโนทริปโตฟาน (tryptophan) ซีรีน (serine) ทรีโอนีน (threonine) กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสเตอีน (cystein) และกรดอะมิโนประเภทที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl amino acid) ถูกทำลาย และยังให้กรดอะมิโนแอสปาราจีน (asparagine) และกลูตามีน (glutamine) ถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนแอสปาร์ติก และกลูตามิก (glutamic) นิยมทำการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

โดยการย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลายกรดเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารหรือเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ (Peterson and Johnson, 1978; Kristinsson and Raaco, 2000) การย่อยสลายด้วยสารละลายเบส เช่น การย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารละลายเบส จะเร็วกว่าการย่อยสลายด้วยสารละลายกรด (shin,1992)

ถ้าหากทำการย่อยสลายด้วยสารละลายเบสที่ภาวะรุนแรงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเรซิไมเซชัน (racemization) ของกรดอะมิโนขึ้น โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของกรดอะมิโนจากรูปแบบแอล (L-form) เป็นรูปแบบดี (D-form) ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้แล้วถ้าหากทำการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นกรดต่ำและอุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาบีต้าเอลิมีเนชัน (Beta-elimination) ของกรดอะมิโนซีรีน และซิสทีน (cystine) เป็นผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะลานีน (dehydroalanine) ขึ้น ซึ่งสารนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ได้ เช่น ซิสเตอินและไลซีน (lysine) เป็นต้น ทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทิโอนิน (lanthionine) ออร์นิทีโออะลานีน (ornithionine) ไลซีนอะลานีน (lysinoalanine) ทำให้เกิดการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญและเกิดสารพิษขึ้น (Howell,1996) หรืออาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือตำแหน่งต่อกรวยไตของหนูทดลอง และยังทำให้โปรตีนทนต่อปฏิกิริยาการย่อยสลาย

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส

เป็นการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเปปไทด์ โดยเอนไซม์โปรติเอสทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์คือ เปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ โดยปกติแล้วโปรตีนสามารถย่อยสลายด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในกล้ามเนื้อ และอวัยวะภายใน เช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน และคาเทปซิน เป็นต้น ซึ่งวิธีการย่อยสลายนี้นี้ เป็นวิธีที่ซับซ้อน เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่มีอยู่ในปลามีอยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีกิจกรรมการทำงานที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่สามารถที่จะควบคุมการเกิดการย่อยสลายของโปรตีน และใช้เวลาในการย่อยสลายนาน ผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้ จึงประกอบไปด้วยเปปไทด์ที่มีขนาดเล็ก และกรดอะมิโนอิสระซึ่งมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่ไม่ดีนัก นิยมใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เช่น น้ำปลา เป็นต้น ในปัจจุบันนี้การย่อยสลายโปรตีน โดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตนั้นกำลังได้รับความสนใจมาก เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง โดยที่เอนไซม์โปรติเอสจะมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ความเป็นกรดต่ำ (pH) ความคงตัวต่อความร้อน ตัวกระตุ้นและตัวยับยั้ง จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์และสภาวะในการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม อีกทั้งสภาวะ

ในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นไม่รุนแรงทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้มีคุณภาพดี และมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามที่ต้องการ และเมื่อเปรียบเทียบโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซตจะพบว่าการย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นสามารถคัดสรรขอบเขตการย่อยสลายและขนาดของเปปไทด์ที่เกิดขึ้นได้ (Adler-Nissen, 1986) โปรตีนไฮโดรไลเซตที่สลายด้วยเอนไซม์นั้น มีข้อจำกัด คือถ้าหากทำการย่อยสลายที่ระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) สูง โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้อาจมีรสขม ซึ่งรสขมนี้เกิดขึ้น โดยชนิดของเปปไทด์โมเลกุลเล็กที่ได้จากการย่อยสลาย ทำให้เกิดปัญหาในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

มีการศึกษาการสกัดไขมันจากเนื้อปลาซาร์ดีน (sardine) ด้วยตัวทำละลายหลายชนิด พบว่าไอโซโพรพานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันจากเนื้อปลาซาร์ดีน ดีกว่าอะซีโตน และเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 96 แต่ไอโซโพรพานอลและอะซีโตนจะทำให้โปรตีนปลาเข้มข้นที่ได้มีกลิ่นไม่ดี (Moorjani *et al.*, 1968) และ Hoyle and Merritt (1994) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อปลาแฮร์ริง (herring) ที่ผ่านการกำจัดไขมันออกด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 จะมีปริมาณไขมันและกลิ่นคาวปลาน้อยกว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อปลาแฮร์ริงที่ผ่านการกำจัดไขมันออกโดยการบีบอัดและที่ไม่ผ่านการกำจัดไขมันตามลำดับ โดยมีการศึกษาการย่อยสลายเนื้อปลา 2 ชนิด คือ เนื้อปลาน้ำจืด *Barbus carnaticus* และปลาทะเล *Rastrelliger kanagurta* ด้วยเอนไซม์ปาเปน (papain) พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายเนื้อปลาทะเล *Rastrelliger kanagurta* มีค่าน้อยกว่าเนื้อปลาน้ำจืด *Barbus carnaticus* แต่ไม่มีความแตกต่างในด้าน การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรตีนเอส (Sen *et al.*, 1962) นั้นจำเป็นต้องมีน้ำในการเข้าร่วมปฏิกิริยา จึงมีการนำวัตถุดิบที่ผ่านการสับ และบดลดขนาดแล้วมาผสมน้ำหรือสารละลายบัฟเฟอร์ เช่น สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เป็นต้น

ซึ่งนิยมใช้อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำหรือสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ 1 ต่อ 1 ถึง 1 ต่อ 4 (Quaglia and Orban, 1987 ; Hoyle and Merritt, 1994; Shahidi *et al.*, 1995) โดยที่อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำหรือความเข้มข้นของสารตั้งต้นจะมีผลต่อปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์โปรตีนปลาไฮโดรไลเซต ความแตกต่างระหว่างเอนไซม์ โปรตีนเอสทางการค้าจะทำให้ค่อนข้างยาก ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แต่ละชนิดมีความบริสุทธิ์แตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์อัลคาเลส (alcalase) ที่ผลิตจากเชื้อ จุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงกว่าเอนไซม์โปรตีนเอสที่ผลิตจากสัตว์ เช่น เอนไซม์ทริปซิน เป็นต้น และในขณะเดียวกันต้นทุนการผลิตเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำ ทำให้เอนไซม์โปรตีนเอสที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทมากขึ้น ซึ่งแต่เดิมนั้นนิยมเลือกใช้

เอนไซม์แอซิดโปรติเอสจากเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยสลายโปรตีน (Mohr, 1980) และ พิลานี (2548) ได้ทำการศึกษาในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี คือ นำดักแด้สดมาบดให้ละเอียด เติมน้ำเพื่อปรับให้มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 4.6 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เท่ากับ 7.5 ย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า “อัลคาเลส” ปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อน้ำหนัก ที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ในขณะที่ทำการกวนตลอดเวลา โดยที่สภาวะดังกล่าวมี ระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ 73.27 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้ 62.82 เปอร์เซ็นต์ และ รายงานถึงปริมาณกรดอะมิโนในดักแด้ไหมอิตาลี ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอะมิโนในดักแด้ไหมอิตาลี

กรดอะมิโน	จำนวนกรัมกรดอะมิโนต่อ 100 กรัมตัวอย่าง
กรดแอสพาทิก	1.001
ซีรีน	0.633
กรดกลูตามิก	1.408
กลัยซีน	0.615
ฮิสติดีน	0.433
อาร์จินีน	0.806
ทรีโอนีน	0.445
อะลานีน	0.871
โพรลีน	0.457
ซีสทีน	0.055
ไทโรซีน	0.715
วาลีน	0.674
เมทไทโอนีน	0.304
ไลซีน	0.82
ไอโซลูซีน	0.555
ลูซีน	0.892

ที่มา: พิลานีและชิดชัย (2548)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตู้กระจก ขนาด 12*24*12 ลูกบาศก์นิ้ว	จำนวน 40 ตู้
2. ถังหมัก ความจุ 50 ลิตร	จำนวน 4 ถัง
3. ถังกักเก็บมวลตัวผู้ขนาด 19±2 กรัม	จำนวน 300 ตัว
4. เครื่องอัดอาหารเม็ด	จำนวน 1 เครื่อง
5. เครื่อง Sonicator	จำนวน 1 เครื่อง
6. เครื่อง Centrifuge	จำนวน 1 เครื่อง
7. เครื่องมือวิเคราะห์โภชนะในวัสดุอาหารและอาหาร	จำนวน 1 ชุด
8. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง	จำนวน 1 เครื่อง
และ 4 ตำแหน่ง	จำนวน 1 เครื่อง
9. เครื่องชั่งสปริง 1 กิโลกรัม	จำนวน 1 เครื่อง
10. เครื่องเติมอากาศ	จำนวน 1 เครื่อง
11. สายยางและหัวทราย	จำนวน 40 ชุด
12. ที่วัดความยาวกึ่ง	จำนวน 1 ชุด
13. ถุงผ้าตาละเอียด	จำนวน 1 ถุง
14. วัสดุที่ใช้ในการประกอบสูตรอาหาร	
15. สารเคมีวิเคราะห์โภชนะในวัตถุดิบอาหารและอาหารผสมสำเร็จ	

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสด

การศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ทำการศึกษาโดยย่อยดักแด้ไหมอีรีสดด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสดในอัตราส่วน ดักแด้ไหมอีรี : Acetic acid (10 เปอร์เซ็นต์): เอนไซม์ปาเปน (3 : 6.9 : 0.1) นำของเหลวที่ได้หลังการย่อย มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและประสิทธิภาพการย่อยได้ของเอนไซม์ปาเปนต่อดักแด้ไหมอีรี ทำการเก็บตัวอย่าง ทุก 1 วัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมอีรี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมอีรีโดย Proximate analysis ทำการวิเคราะห์โปรตีน ความชื้น ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000) ดังนี้

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีน	โดยวิธี	Micro – kjeldahl
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณความชื้น	โดยวิธี	Oven - drying
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณไขมัน	โดยวิธี	Ether - extraction
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเยื่อใย	โดยวิธี	Classical – method
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเถ้า	โดยวิธี	Muffle furnace combustion

การวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีน

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5 กรัม ใส่ใน digestion tube เติม catalyst mixed แล้วเติมกรดซัลฟูริก เข้มข้นลงในหลอดย่อย นำไปย่อย นาน 30-45 นาที จนสังเกตเห็นเป็นสารละลายใส ทิ้งให้เย็น เติรมกรดบอริก ในขวดลูกผสมพู่ หยด mixed indicator (methyl red + bromocresol green) 2-3 หยด นำไปตั้งที่เครื่องกลั่นให้ปลายหลอดกลั่นจุ่มในสารละลายสารละลายกรดบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรดด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้คำนวณหาค่าไนโตรเจน

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณความชื้น

เตรียม crucible โดยอบในตู้อบ (hot air oven) อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำไปใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น นำ crucible ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างใส่ใน crucible บันทึกน้ำหนักรวมของ crucible และตัวอย่าง นำ crucible และตัวอย่างไปอบใน hot air oven ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ความชื้น

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณไขมัน

อบ extraction beaker ในตู้อบ (hot air oven) อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นใน โถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์และชั่งซ้ำ 1-2 ครั้ง จนได้น้ำหนักที่คงที่ และชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองอย่างหลวม ๆ ใส่ตัวอย่างใน thimbles เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงใน extraction beaker ตั้งบีกเกอร์ในเครื่องวิเคราะห์ไขมัน สกัดจนปิโตรเลียมอีเทอร์ในบีกเกอร์และใน หลอดสกัดไขมันใส นำบีกเกอร์ที่มีไขมันไปอบในตู้อบทำให้เย็น โถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ ที่มีไขมันคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ ไขมัน

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเยื่อใย

ชั่งตัวอย่างใส่ใน crucible นำไปวางบน crucible stand นำ crucible ใส่ในเครื่องย่อย (hot extraction unit) เติมกรดซัลฟูริก แล้วต้มตัวอย่างจนเดือด กรองสารจนแห้งล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง กรองจนแห้ง เติม KOH 0.223 M ที่ร้อน ต้มจนเดือด กรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน จากนั้น นำ crucible ออกจากเครื่องย่อย ไปอบ แล้วทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก เPEAT ตัวอย่างใน crucible ทิ้งให้เย็นในเตา นำ crucible ใส่ใน desiccator ชั่งน้ำหนัก

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเถ้า

เตรียม crucible โดยอบในตู้อบ (hot air oven) ที่ 100 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปใส่ใน desiccator ทิ้งไว้จนเย็น นำ crucible ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก ชั่งตัวอย่าง ใส่ใน crucible บันทึก น้ำหนัก crucible และตัวอย่าง จากนั้นนำ crucible พร้อมตัวอย่างไปเผา ที่ 600 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 6 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จากนั้นนำออกใส่ใน desiccator แล้วนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของของเหลวที่ได้จากการย่อย

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีน	โดยวิธี	Lowry's method (Lowry, 1959)
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีน	โดยวิธี	Biuret reaction (Scopes, 1987)
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณกรดอะมิโน	โดยวิธี	Ninhydrin assay (Doi et al., 1981)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Lowry's method

นำสารตัวอย่างผสมกับสาร I (สารประกอบคอปเปอร์ซัลเฟต) แล้วบ่มในที่มืด 10 นาที จากนั้นนำออกมาเติม สาร II (Fulin) บ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น ที่ A 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำไปคำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของ bovine serum albumin: BSA

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Biuret reaction

ชั่งสารตัวอย่าง 10 กรัม ปรับให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรต 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงนำไปคำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของ bovine serum albumin: BSA

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณกรดอะมิโน Ninhydrin assay

นำสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Cd-ninhydrin 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 84 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีด้วยน้ำแข็ง นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 507 นาโนเมตร โดยใช้ 0.5 มิลลิลิตร Acetic acid pH 5.3 มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Cd-ninhydrin 1 มิลลิลิตร เป็นสารละลายเปล่า วัดค่าการดูดกลืนแสงนำไปคำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของไกลซีน

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารกึ่งกัมกราม

การศึกษการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารกึ่งกัมกราม เป็นการศึกษาในระดับที่เหมาะสมของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า โดยศึกษาผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตของกึ่งกัมกราม ประสิทธิภาพของอาหาร องค์ประกอบทางเคมีของตัวกึ่งกัมกราม ทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีน ประสิทธิภาพของอาหาร ปริมาณอาหารที่กิน ค่าประโยชน์สุทธิของโปรตีน โปรตีนในเลือดของกึ่งกัมกราม ปริมาณไกลโคเจนในตับของกึ่งกัมกราม ศึกษา อาร์เอ็นเอ โปรตีน อัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีน ตลอดจนศึกษาผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กึ่งกัมกราม ทดลองโดยใช้กึ่งกัมกรามเพศผู้ ขนาด 19 ± 3 กรัม โดยกำหนดให้สูตรอาหารมีโปรตีนประมาณ 36 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 3 เดือน

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) จำนวน 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยศึกษาระดับเหมาะสมของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซต ในสูตรอาหารกึ่งกัมกรามที่ระดับ 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยดักแด้ไหมอีรีสดที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า

ชุดการทดลองที่ 1	ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนโปรตีนปลาป่น	0	เปอร์เซ็นต์
ชุดการทดลองที่ 2	ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนโปรตีนปลาป่น	50	เปอร์เซ็นต์
ชุดการทดลองที่ 3	ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตทดแทนโปรตีนปลาป่น	100	เปอร์เซ็นต์
ชุดการทดลองที่ 4	ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนโปรตีนปลาป่น	50	เปอร์เซ็นต์
ชุดการทดลองที่ 5	อาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า		

โดยมีสูตรอาหารดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของอาหารกึ่งกัมกรามที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ	ชุดการทดลอง				
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Protein Hydrolysate ¹	0	18	38.5	0	-
ดักแด้ไหมอีรีสด ²	0	0	0	17.5	-
ปลาป่น	37	20	0	22	-
กากถั่วเหลือง	30	30	30	30	-
เกลบกุ้ง	5	5	5	5	-
น้ำมันปลา	1.5	1.5	1	1.5	-
น้ำมันถั่วเหลือง	1.5	0	0	0	-
แป้งมัน	20.9	17.4	13.4	15.9	-
สารเหนียว	1.5	1.5	1.5	1.5	-
โมโนแคลเซียม	1	3.5	5	3.5	-
บีเทน	0.1	0.1	0.1	0.1	-
วิตามินซี	0.5	0.5	0.5	0.5	-
พรีมิกซ์*	1	1	1	1	-
CaCO ₃	1	1.5	3	1.5	-
รวม	100	100	100	100	-
โภชนะในอาหารจากการวิเคราะห์					
ความชื้น(%)	11.52	11.61	11.74	10.69	9.58
วัตถุแห้ง					
โปรตีน (%)	36.28	36.23	36.22	36.24	36.08
ไขมัน(%)	5.32	5.45	5.35	5.37	5.49
เถ้า(%)	11.41	8.77	8.23	12.70	10.32
เยื่อใย(%)	5.51	5.49	5.54	5.53	5.56

หมายเหตุ-หมายถึง ไม่ทราบองค์ประกอบ *พรีมิกซ์ 1 กิโลกรัมที่ใช้ประกอบด้วย Vitamin A 6,700,000 IU, Vitamin D 1,350,000 IU ,Vitamin E 67 g,Vitamin K₃ 3.4 g,Vitamin B₁6.7 g,Vitamin B₂10 g,Vitamin B₆ 8 g,Vitamin B₁₂13.5 g, niacin 53g, Pantothenic 26.5 g, folic acid 3.3 g,biotin 335 ml, inosital 135 g, Vitamin C activity from stay C-35 105 g 1.ลักษณะเป็นน้ำโดยนำไปกรองก่อนผสมอาหารด้วยผ้าไนลอน 2.ดักแด้ไหมอีรีสด นำไปบดผสมอาหาร

ขั้นตอนการเตรียมอาหารทดลอง

กรองของเหลวที่ได้จากการย่อยคั้คเค้ไ้หมอีรี่ด้วยผ้าไนลอน ชั่งวัตถุดิบต่างๆ ตามสูตรอาหารที่ได้คำนวณ ดังตารางที่ 2 หลังจากนั้นนำวัตถุดิบอาหารต่างๆ มาคลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว หลังจากนั้นนำวัตถุดิบอาหารที่ผสมแล้วมาอัดเม็ดโดยใช้เครื่อง Mincer อาหารเม็ดที่ได้นำไปอบในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง เก็บไว้ในถุงที่อุณหภูมิห้อง

สภาวะการทดลอง

ทำการทดลองในตู้กระจกขนาด 12 x 24 x 12 ลูกบาศก์นิ้ว น้ำที่ใช้เป็นน้ำประปาพักน้ำไว้ในบ่อพักจนไม่มีคลอรีน นำกึ่งก้ามกรามใส่ตู้ละ 5 ตัว ให้อาหารทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 น. และ 16.00 น. ในปริมาณที่มากเกินพอ หลังจากให้อาหาร 1 ชั่วโมง ทำการดูอาหารที่เหลือออก นำมากรองแล้วจึงนำออกมาอบแห้ง ชั่งอาหารที่เหลืออยู่แล้วคำนวณปริมาณอาหารที่ได้รับ การเปลี่ยนถ่ายน้ำ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงบ่ายของทุกวัน เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตทุก ๆ 2 สัปดาห์

การบันทึกข้อมูล

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของกึ่งก้ามกราม องค์ประกอบทางเคมีของตัวกึ่งก้ามกราม อัตราการเปลี่ยนอาหาร ประสิทธิภาพของโปรตีน ประสิทธิภาพของอาหาร ปริมาณอาหารที่กิน ค่าประโยชน์สุทธิต่อของโปรตีน ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ปริมาณโปรตีนในเลือด ปริมาณโปรตีนในตัว อัตราส่วนของอาร์เอ็นเอต่อโปรตีน และศึกษาผลต่อการเปลี่ยนแปลง ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ ทุก 1 เดือน เป็นเวลา 3 เดือน

เก็บข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (Proximate analysis) และลักษณะทางกายภาพของอาหารกึ่งก้ามกราม ดังนี้

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารกึ่งก้ามกราม

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารกึ่งก้ามกรามทดลองโดยวิธี Proximate analysis ทำการวิเคราะห์โปรตีน ความชื้น ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000) ดังนี้

วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีน	โดยวิธี	Micro – kjeldahl
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณความชื้น	โดยวิธี	Oven - drying
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณไขมัน	โดยวิธี	Ether - extraction
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเยื่อใย	โดยวิธี	Classical - method
วิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเถ้า	โดยวิธี	Muffle furnace combustion

การศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพของอาหารกึ่งกัมกราม

วิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพของอาหารกึ่งกัมกรามที่ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซต 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมผักผลไม้สด ทดแทนปลาป่น อาหารเชิงการค้า

วิเคราะห์ความคงทนของอาหารเมื่อนำ (Water Stability)

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ฝุ่น

วิเคราะห์การดูดน้ำ

การศึกษาประสิทธิภาพการเติบโตและการใช้ประโยชน์โปรตีน

น้ำหนักเพิ่ม (กรัม/ตัว/วัน) = น้ำหนักสุดท้าย - น้ำหนักเริ่มต้น / ตัว / จำนวนวัน

อัตราการเปลี่ยนอาหาร = น้ำหนักอาหารที่กิน / น้ำหนักตัวที่เพิ่ม

ประสิทธิภาพของโปรตีน = น้ำหนักตัวที่เพิ่ม / น้ำหนักโปรตีนที่กิน

ประสิทธิภาพของอาหาร = น้ำหนักตัวที่เพิ่ม / น้ำหนักอาหารที่กิน * 100

ค่าประโยชน์สุทธิของโปรตีน

= [(โปรตีนในร่างกายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - โปรตีนเริ่มต้น) / โปรตีนที่ได้รับ x 100

การศึกษาปริมาณโปรตีนในเลือดของกึ่งกัมกราม

การศึกษาปริมาณโปรตีนในเลือดกึ่งกัมกราม

โดยเจาะเลือดกึ่งกัมกรามจากโคนขาเดือที่ 3 (ใช้หลอดที่เคลือบด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ไตรโซเดียมซิเตรด) นำตัวอย่างเลือดที่ได้ ไปวิเคราะห์ โปรตีนด้วยวิธี Lowry's method

การศึกษาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างกล้ามเนื้อ

โดยนำกล้ามเนื้อทั้งตัว อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นบดให้ละเอียด เป็นเนื้อเดียวกัน ต้มตัวอย่างไปวิเคราะห์ โปรตีน ด้วยวิธี Micro-kjeldahl ตามวิธีของ AOAC (2000)

การศึกษาปริมาณไกลโคเจนในตับของกิ้งก่า

Hardie *et al.* (1991) นำเนื้อเยื่อของตับหรือกล้ามเนื้อมาเติม TCA 5 เปอร์เซ็นต์ และนำไป Homogenize 2 นาที ที่ 16,000 รอบต่อนาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ทำ 2 ครั้ง) ตักเอาเฉพาะส่วนใสมาก 200-1000 ไมโครลิตร แล้วเติม TCA 1 มิลลิตร และ 95 เปอร์เซ็นต์ ethanol 5 มิลลิตร นำไปอบใน oven ที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วเติมน้ำเดือด 0.5 มิลลิตร กรดซัลฟิวริก เข้มข้นที่มี 5 เปอร์เซ็นต์ phenol 5 มิลลิตร อ่านค่าที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

การศึกษาอัตราส่วนของ อาร์เอ็นเอ และโปรตีนของกิ้งก่า

เก็บตัวอย่างมาบดให้ละเอียด ชั่ง 50-100 มิลลิกรัม เติม TRIzol reagent นำไปเข้าเครื่อง Sonicator จนสารละลายผสมเข้ากันดี บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เติม Chloroform นำไป centrifuge จากนั้นจะได้สารละลายแยกออกเป็น 3 ส่วน ส่วนบนสุดเป็นชั้นของ อาร์เอ็นเอ และส่วนล่างสุดเป็นโปรตีน ปิเปตส่วน อาร์เอ็นเอ และโปรตีนแยกเป็นสองส่วนเติม Isopropanol นำไป centrifuge จะได้ Pellet ออกมา เติม 90 เปอร์เซ็นต์ ethanol ที่อุณหภูมิห้อง

ส่วนที่ 1 อาร์เอ็นเอ เก็บ Pellet แล้วนำไปแห้งอบ 10 นาที เติม NaAc อบต่ออีก 10 นาที จากนั้น เติม NaAc 1:10 (อาร์เอ็นเอ: NaAc) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร

ส่วนที่ 2 นำไป centrifuge แล้วล้างออกด้วย ethanol ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนำไป centrifuge อีก 10 นาที เก็บ Pellet แล้วอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เติม 1 เปอร์เซ็นต์ SDS 1 มิลลิตร แล้วนำไปแห้งอบ 100 นาที เติม SDS 1:3 (protein : SDS) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

การศึกษาผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กึ่งกัมกราม

สุ่มตัวอย่างกึ่งกัมกราม ฝ่าส่วนของลำไส้ ออก นำมาเจือจางในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณต่างๆ กัน ระดับความเจือจาง 3 ระดับ บดโดยใช้โกร่ง จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำมาวิเคราะห์ โดยวิธี spread plate ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

นำมาวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียรวมที่มีชีวิตทั้งหมดในลำไส้กึ่งกัมกราม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรียจากจานเลี้ยงเชื้อ

นำมาวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มของแบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดแลกติกในลำไส้กึ่งกัมกราม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรียจากจานเลี้ยงเชื้อ

นำมาวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มของแบคทีเรียสกุล *Vibrio* sp. ในลำไส้กึ่งกัมกราม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรียจากจานเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

15 มีนาคม 2550 – 15 ธันวาคม 2550 ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ด้วยเอนไซม์ปาเปนจาก ยางมะละกอสด

1. องค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมอี่

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมอี่อบแห้ง ดังตารางที่ 3 พบว่า ดักแด้ไหมอี่ มีโปรตีน 53.57 ± 1.78 เปอร์เซ็นต์ มีความชื้น 35.31 ± 0.76 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 11.81 ± 0.83 เปอร์เซ็นต์ มีเถ้า 2.46 ± 0.37 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใย 8.52 ± 0.45 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับการรายงานถึงโภชนาการของหนอนไหมอี่วัย 3-5 มีองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ มีโปรตีน 54.63-53.91 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 9.51-11.48 เปอร์เซ็นต์ มีเถ้า 1.28-1.34 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใย 7.97-8.04 เปอร์เซ็นต์ (Jintasatapom *et al.* 2002)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของดักแด้ไหมอี่

พารามิเตอร์	ดักแด้ไหมอี่
ความชื้น(%)	35.31 ± 0.76
วัตถุแห้ง	
โปรตีน(%)	53.57 ± 1.78
ไขมัน(%)	11.81 ± 0.83
เถ้า (%)	2.46 ± 0.37
เยื่อใย (%)	8.52 ± 0.45

2. การศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ด้วยเอนไซม์ปาเปนจาก ยางมะละกอสด

จากการศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด้ไหมอีรีด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสดในอัตราส่วน คักแด้ไหมอีรี : 10% Acetic acid : เอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสด (3 : 6.9 : 0.1) เป็นเวลา 7 วัน นำของเหลวที่ได้หลังจากการย่อยมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ปาเปนต่อคักแด้ไหมอีรี พบว่า การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวมโดยวิธี Lowry's method ทั้ง 7 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4 เนื่องมาจากการย่อยนั้นไม่ได้ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นหรือเปลี่ยนแปลงไป โดยมีระดับโปรตีนอยู่ระหว่าง 696.22 ± 101.83 - 795.11 ± 54.29 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 69.6-79.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ปริมาณโปรตีนที่วัดได้เป็นโปรตีนของคักแด้ไหมอีรีรวมถึงปริมาณโปรตีนจากเอนไซม์ปาเปน ซึ่งผลวิเคราะห์ออกมาเป็นปริมาณโปรตีนรวม จึงส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้มากขึ้น

ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret Reaction โดยอาศัยหลักการการวัดปริมาณโปรตีนที่ตำแหน่งพันธะเปปไทด์ ทั้ง 7 วัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) พบว่า ในวันเริ่มต้นมีปริมาณพันธะเปปไทด์สูงที่สุดคือ 684.68 ± 20.74 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในวันที่ 6 มีค่าปริมาณพันธะเปปไทด์ต่ำที่สุดคือ 278.68 ± 72.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือสามารถคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยได้ เท่ากับ 59.3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการย่อยโดยเอนไซม์ปาเปน เป็นการทำปฏิกิริยาโดยการสลายพันธะเปปไทด์ เมื่อเวลาผ่านไปจึงทำให้ค่าพันธะเปปไทด์ที่ได้ลดลง

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Ninhydrin assay มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) พบว่า เมื่อวันเริ่มต้น มีค่าต่ำที่ 1.48 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ในวันที่ 7 เท่ากับ 3.07 ± 1.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจาก วิธี Ninhydrin assay วิเคราะห์โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ α -อะมิโนของกรดอะมิโนและเปปไทด์ที่มีหมู่ α -อะมิโนอิสระ (ดาวัลย์, 2548) จึงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อถูกย่อยและเริ่มมีค่าคงตั้งแต่วันที่ 4 และค่าพีเอช มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในวันเริ่มต้นมีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 5.25 ± 0.04 จากนั้นพีเอชมีค่าสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในแต่ละวัน จนมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ 6.03 ± 0.15 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงความเป็นกลางมากจึงไม่น่ามีผลต่อระบบทางเดินอาหารของกิ้งก่ามรกต

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยคักแด่ไหมอีรีด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสด

วัน	พารามิเตอร์			
	Total protein (mg/ml)	Peptide bond (mg/ml)	Amino acid (mg/ml)	pH
เริ่มต้น	704.66 ^a ±28.33	684.68 ^a ±20.74	1.48 ^d ±0.09	5.25 ^b ±0.04
1	724.00 ^a ±86.66	641.83 ^a ±15.18	1.50 ^d ±0.07	5.40 ^b ±0.01
2	767.11 ^a ±42.33	622.02 ^a ±25.86	2.02 ^c ±0.01	5.40 ^b ±0.07
3	795.11 ^a ±54.29	545.35 ^b ±16.56	2.66 ^c ±0.16	5.86 ^a ±0.22
4	698.66 ^a ±75.71	437.02 ^c ±12.49	3.06 ^b ±0.02	5.87 ^a ±0.21
5	696.22 ^a ±101.83	375.02 ^d ±13.11	3.04 ^b ±0.10	5.97 ^a ±0.14
6	721.78 ^a ±136.02	278.68 ^c ±72.00	3.05 ^b ±0.08	6.02 ^a ±0.17
7	744.66 ^a ±25.09	318.02 ^{de} ±44.97	3.07 ^a ±1.47	6.03 ^a ±0.15
ผลวิเคราะห์ทางสถิติ				
P-value	0.735	0.001	0.014	0.001

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่ไหมอีรี

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่ไหมอีรีโดยนำของเหลวที่ผ่านการกรองด้วยผ้าไนลอน แล้ววิเคราะห์ พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่ไหมอีรีมีโปรตีน 62.41 ± 1.73 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 5 มีความชื้น 72.46 ± 3.52 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 10.26 ± 1.31 เปอร์เซ็นต์ มีเถ้า 0.42 ± 0.07 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใย 0.14 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดลองของ พิลาณีและคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่

ไหมอีรี โดยนำผักเคี้ยวสดมาบดให้ละเอียด ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 7.5 ย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า “อัลคาเลส” ปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยที่สภาวะดังกล่าวมีระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ 73.27 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณไนโตรเจนที่ผลิตได้ 62.82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการวิเคราะห์โปรตีนจากปริมาณไนโตรเจนก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่บอกถึงปริมาณโปรตีนได้เช่นกัน

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักเคี้ยวไหมอีรี

พารามิเตอร์	โปรตีนไฮโดรไลเซต
ความชื้น (%)	72.46±3.52
โปรตีน (%)	62.41±1.73
ไขมัน (%)	10.26±1.31
เถ้า (%)	0.42±0.07
เยื่อใย (%)	0.14±0.05

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับการใช้โปรตีนโปรตีนไฮโดรไลเซตในอาหารกึ่งกัมกราม

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของอาหาร

1.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารกึ่งกัมกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักเคี้ยวไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ผักเคี้ยวไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า

จากองค์ประกอบทางเคมีของอาหารกึ่งกัมกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักเคี้ยวไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ผักเคี้ยวไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า พบว่าโปรตีนในสูตรอาหารทั้ง 5 ชนิด ดังตารางที่ 1 โดยระดับโปรตีน 36.08 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นมีค่า 9.58 เปอร์เซ็นต์ ระดับไขมันมีค่า 5.32 เปอร์เซ็นต์ ระดับเถ้า อาหารที่ใช้ผักเคี้ยวไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 12.72 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 8.23 เปอร์เซ็นต์ การ

ทดแทนด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตทำให้ปริมาณเถ้าลดลง และการทดแทนด้วยดักแด้ไหมอี่ร์สดทำให้เถ้ามีปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับชนิดอาหารที่ไม่มีการทดแทนปลาป่น ซึ่งในปลาป่นมีปริมาณเถ้า 21.70 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ไหมอี่ร์มีเถ้า 6.38 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ มีเถ้า 1.81 เปอร์เซ็นต์ ระดับเชื้อยมีค่า 5.49 เปอร์เซ็นต์

1.2 ลักษณะทางกายของอาหารกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอี่ร์สดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาลักษณะทางกายของอาหารกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอี่ร์สดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า พบว่า ความคงทนของเม็ดในน้ำนั้น อาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า มีค่าสูงสุด 87.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 86.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าคงทนของอาหารในชุดการทดลองอื่น ๆ อยู่ในช่วง 83.62-85.58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานอาหารกึ่งทางอุตสาหกรรม ส่วนเปอร์เซ็นต์ฟูนของเม็ดอาหาร มีค่าอยู่ระหว่าง 0.54- 0.58 เปอร์เซ็นต์ และการดูดซึมน้ำของเม็ดอาหาร ในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอี่ร์สดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 71.52 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุด คือ 33.36 เปอร์เซ็นต์

2. การเจริญเติบโตของกึ่งก้ามกราม

จากการศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอี่ร์สดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า เมื่อเริ่มต้นการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น ไม่มีแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 6 โดยมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 18.91 ± 0.80 - 19.91 ± 0.63 กรัมต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุดเท่ากับ 45.08 ± 0.52 กรัมต่อตัว รองลงมาคือชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่ร์ทดแทนปลาป่น 50

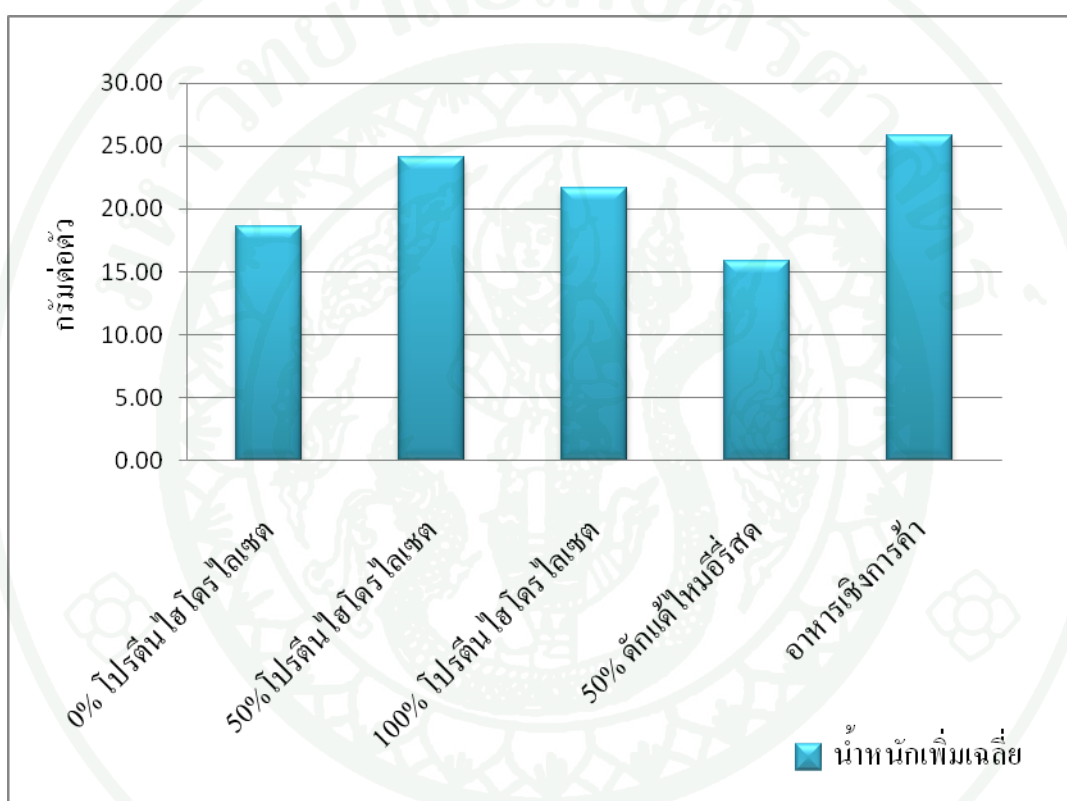
เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 43.49 ± 0.45 กรัมต่อตัว ซึ่งมีค่ามากกว่าน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ของชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนัก 41.63 ± 1.12 กรัมต่อตัว และการทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าการที่ไม่มีการทดแทนปลาป่น คือ 38.33 ± 1.15 กรัมต่อตัว ส่วนชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองต่ำที่สุด เท่ากับ 34.75 ± 0.90 กรัมต่อตัว ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ สิทธิชัย (2545) ที่ใช้ดักแด้ไหมบ้านทดแทนปลาป่นในอาหารกึ่งก้ามกรามได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการทดแทนปลาป่นโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ให้การเติบโตดีกว่าใช้ดักแด้ไหมสดทดแทนโปรตีนจากปลาป่น

ส่วนน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 25.83 ± 0.76 กรัมต่อตัว รองลงมาคือ ชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 24.08 ± 0.40 กรัมต่อตัว ซึ่งมีค่ามากกว่าน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยของชุดการทดลองที่ไม่มีการทดแทนปลาป่น คือ 18.58 ± 1.42 กรัมต่อตัว และชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่ำที่สุด เท่ากับ 15.83 ± 0.14 กรัมต่อตัว

ส่วนน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้ามีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน สูงที่สุดเท่ากับ 0.30 ± 0.008 กรัมต่อตัวต่อวัน และชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.18 ± 0.012 กรัมต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อวัน มีความสอดคล้องกับ Mukti (2003) ที่รายงาน ว่า กึ่งก้ามกรามขนาด $36.00 \pm 4.68 - 44.35 \pm 7.31$ กรัม ที่ได้รับอาหารที่มีอัตราส่วนของไขมันและคาร์โบไฮเดรต 5:1, 2.5 :1 และ 1:1 มีน้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อวัน 0.36 ± 0.02 กรัมต่อตัวต่อวัน

การที่กึ่งก้ามกรามได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น แล้ว มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเนื่องจาก โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นของผสมของเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งทำให้ดูดซึมได้ทันทีและลดพลังงานในการย่อย และการที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย มากกว่าการทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ จากตารางที่ 4 ค่าพีเอชของโปรตีนไฮโดรไลเซตในวันที่ 3 เท่ากับ 5.86 นั้น มีความเป็นไปได้ว่า การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี 100 เปอร์เซ็นต์ จึงมีค่าพีเอชของอาหารต่ำกว่าการทดแทนปลาป่นโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี 50 เปอร์เซ็นต์

อีกประการหนึ่งคือส่วนผสมของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ที่มากเกินไป และการที่มีส่วนผสมของเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งทำให้ดูดซึมได้ทันทีในปริมาณมาก ๆ นั้น จะมีการดูดซึมไปพร้อมกันทั้งหมดแต่การดูดซึมของลำไส้มีพื้นที่ในการดูดจำกัดทำให้เปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระบางส่วนไม่ถูกดูดซึมเข้าไปในร่างกาย และสัดส่วนของกรดอะมิโนของการทดแทน 50 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและตรงต่อความต้องการกรดอะมิโนของกิ้งก่ามากกว่า การทดแทน 100 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 5 น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยของกิ้งก่ากรมเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลานด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ ดักแด้ไหมอีรี่สด และอาหารกิ้งก่ากรมเชิงการค้า

ตารางที่ 6 การเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมอีรีสด และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

พารามิเตอร์	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย				อาหารเชิงการค้า	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ
	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี			ดักแด้ไหมอีรีสด		
	0 %	50 %	100 %	50 %		P-value
น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อ เริ่มต้น(กรัม/ตัว)	19.75 ^a $\pm$ 0.43	19.41 ^a $\pm$ 0.38	19.91 ^a $\pm$ 0.63	18.91 ^a $\pm$ 0.80	19.25 ^a $\pm$ 0.25	0.237
น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อ สิ้นสุด (กรัม/ตัว)	38.33 ^d $\pm$ 1.15	43.49 ^b $\pm$ 0.45	41.63 ^c $\pm$ 1.12	34.75 ^c $\pm$ 0.90	45.08 ^a $\pm$ 0.52	0.001
น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย(กรัม/ตัว)	18.58 ^d $\pm$ 1.42	24.08 ^b $\pm$ 0.40	21.70 ^c $\pm$ 1.04	15.83 ^c $\pm$ 0.14	25.83 ^a $\pm$ 0.76	0.001
น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย ต่อวัน(กรัม/ตัว/วัน)	0.22 ^d $\pm$ 0.017	0.28 ^b $\pm$ 0.004	0.25 ^c $\pm$ 0.014	0.18 ^c $\pm$ 0.012	0.30 ^a $\pm$ 0.008	0.001

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.1 ประสิทธิภาพของอาหารกึ่งกัมกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาประสิทธิภาพของอาหารกึ่งกัมกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า พบว่า ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 7 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.50 ± 0.68 - 0.69 ± 0.23 กรัมต่อตัวต่อวัน

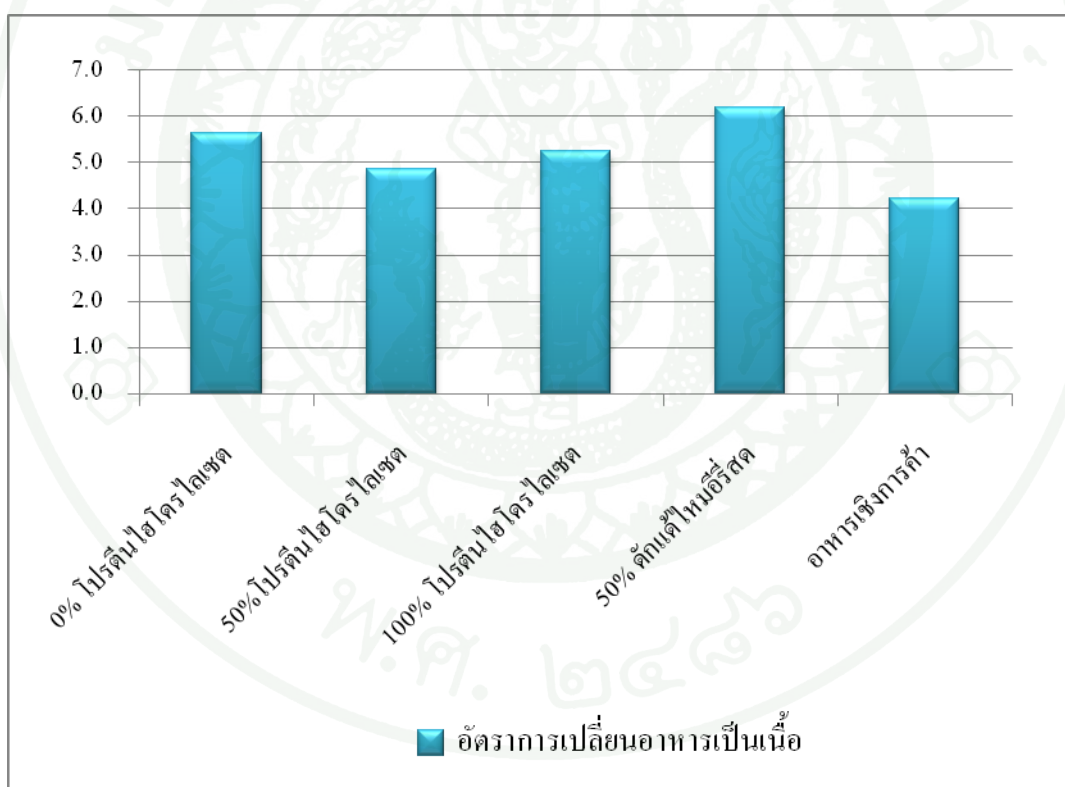
ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 6.20 ± 1.42 และอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 4.21 ± 1.27 จึงต่างกับการทดลองของ Jiwan *et al.* (2007) ทำการศึกษาการผสม Gamma Amino Butyric acid ลงในอาหารกึ่งกัมกรามเพื่อศึกษาผลต่อการเจริญเติบโต พบว่า มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) เท่ากับ 1.5 ± 0.27

ส่วนประสิทธิภาพของอาหาร มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) พบว่าอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า มีค่าสูงสุดเท่ากับ 47.68 ± 3.84 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่อาหารกึ่งกัมกรามที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 46.57 ± 6.43 อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยที่สุด 38.64 ± 7.61 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพของโปรตีน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า มีประสิทธิภาพของโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับ 0.66 ± 0.09 และอาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 0.48 ± 0.02 เนื่องจากแหล่งโปรตีนในการทดลองนั้น แต่ละชุดการทดลองมีความต่างกันออกไปอันได้แก่ ปลาป่น โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี และดักแด้ไหมอีรีสด ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งแหล่งที่มาและกระบวนการผลิตถึงแม้ว่าอาหารทุกชุดการทดลองจะมีปริมาณโปรตีนรวมเท่ากัน จากความแตกต่างของโปรตีนแต่ละชนิดนี้เองที่ทำให้ ประสิทธิภาพของอาหาร มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

ส่วนค่าประโชชน์สุทธิของโปรตีน มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุดคือ 0.34 ± 0.04 และโดยชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสด 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุดคือ 0.12 ± 0.05

จากตารางที่ 7 จะเห็นว่าอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน ของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.57 ± 0.49 กรัมต่อตัวต่อวัน ซึ่งกึ่งกินอาหารมากกว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 0.24 ± 0.64 กรัมต่อตัวต่อวัน จึงส่งผลเนื่องทำให้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ค่าประโชชน์สุทธิของโปรตีนและประสิทธิภาพของโปรตีน มีค่าน้อยตามไปด้วย



ภาพที่ 6 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกิ้งก่ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมอีรีสดและอาหารกิ้งก่ามกรามเชิงการค้า

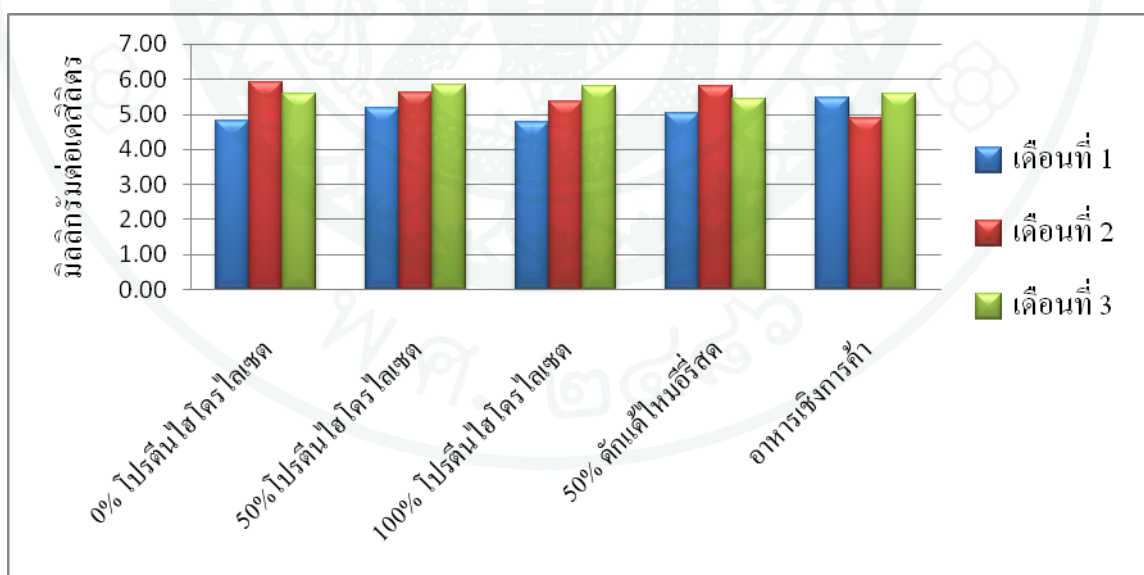
ตารางที่ 7 ประสิทธิภาพของอาหารกึ่งกัมกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี
ดักแด้ไหมอิตาลีสดและอาหารกึ่งกัมกรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

พารามิเตอร์	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย				อาหารเชิงการค้า	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ
	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี			ดักแด้ไหมอิตาลีสด		
	0 %	50 %	100 %			
อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	0.69 ^a ±0.23	0.57 ^a ±0.49	0.24 ^a ±0.64	0.69 ^a ±0.15	0.50 ^a ±0.68	0.069
อัตราการเปลี่ยนอาหาร	5.64 ^a ±1.58	4.85 ^c ±0.97	5.24 ^b ±1.56	6.20 ^a ±1.42	4.21 ^c ±1.27	0.021
ประสิทธิภาพของอาหาร(%)	44.34 ^c ±0.02	45.28 ^c ±6.43	46.57 ^b ±6.43	38.64 ^d ±7.61	47.68 ^a ±3.84	0.047
ประสิทธิภาพของโปรตีน	0.48 ^b ±0.02	0.58 ^a ±0.05	0.50 ^b ±0.13	0.53 ^a ±0.05	0.66 ^a ±0.09	0.038
ค่าประโยชน์สุทธิของโปรตีน	0.20 ^b ±0.05	0.34 ^a ±0.04	0.33 ^a ±0.02	0.12 ^c ±0.05	0.19 ^{bc} ±0.04	0.001

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ปริมาณโปรตีนในเลือดของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ ใหม่อีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ใหม่อีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

การศึกษาปริมาณโปรตีนในเลือดของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ใหม่อีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ใหม่อีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า เดือนที่ 1 พบว่า ปริมาณโปรตีนในเลือด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 8 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4.78 ± 6.61 - 5.46 ± 2.25 มิลลิกรัมโปรตีนต่อเดซิลิตร หรือคิดเป็น 4.7-5.4 เปอร์เซ็นต์ เดือนที่ 2 พบว่า ปริมาณโปรตีนในเลือด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4.88 ± 7.18 - 5.90 ± 3.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อเดซิลิตร หรือคิดเป็น 4.8-5.9 เปอร์เซ็นต์ และ เดือนที่ 3 พบว่า ปริมาณโปรตีนในเลือด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 5.43 ± 4.06 - 5.84 ± 3.79 มิลลิกรัมโปรตีนต่อเดซิลิตร แสดงให้เห็นว่าปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในเลือดของกุ้งก้ามกราม ไม่สามารถบอกถึงแนวโน้มการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามได้ เพราะการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกัน



ภาพที่ 7 ปริมาณโปรตีนในเลือดของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ใหม่อีรี ดักแด้ใหม่อีรีสดและอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

ตารางที่ 8 ปริมาณโปรตีนในเลือดของกึ่งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี
ดักแด้ไหมอีรีสดและอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า (มิลลิกรัมโปรตีนต่อเดซิลิตร) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

เวลา	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย				อาหารเชิงการค้า	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ
	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี			ดักแด้ไหมอีรีสด		
	0 %	50 %	100 %			
เดือนที่ 1	4.81±4.91	5.20±3.68	4.78±6.61	5.03±10.58	5.46±2.25	0.673
เดือนที่ 2	5.90±3.00	5.61±3.16	5.35±5.50	5.80±4.37	4.88±7.18	0.155
เดือนที่ 3	5.59±4.60	5.82±3.48	5.43±4.06	5.84±3.79	5.59±0.84	0.618

4. ปริมาณโปรตีนในตัวกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาปริมาณโปรตีนในตัวของกึ่งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า เมื่อเริ่มต้นการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 26.97 ± 1.05 - 27.64 ± 0.79 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 11

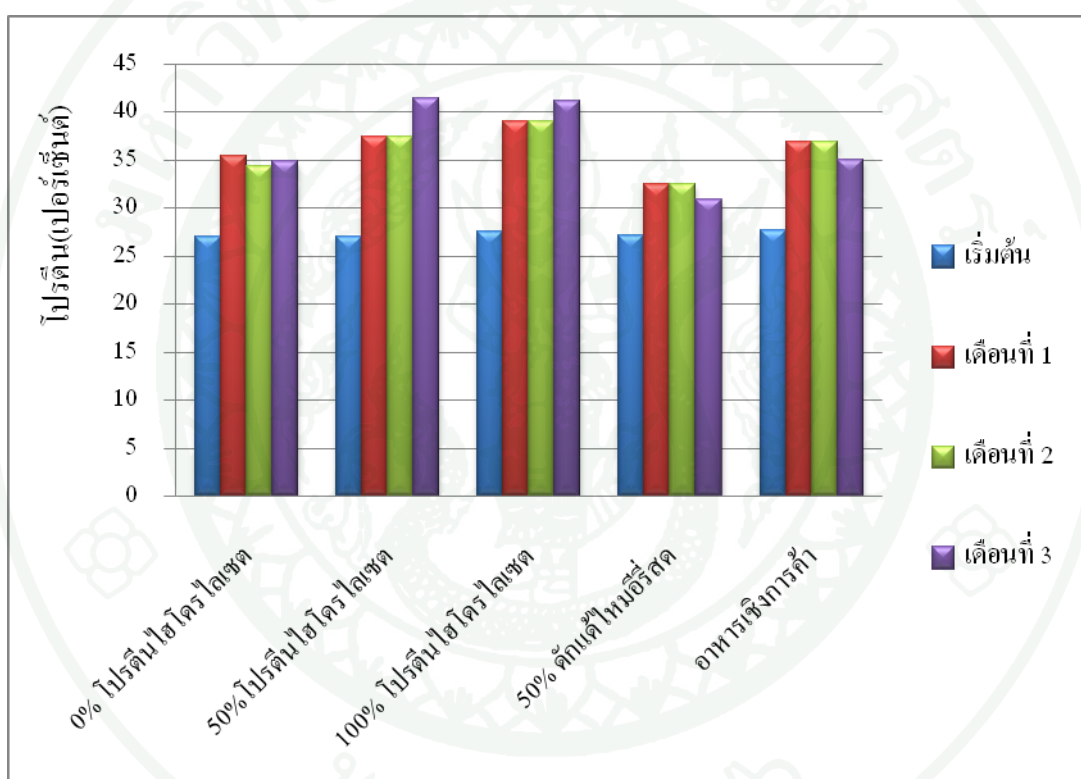
เดือนที่ 1 ปริมาณโปรตีนในตัว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวสูงที่สุด เท่ากับ 39.08 ± 0.41 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 37.48 ± 1.20 เปอร์เซ็นต์ และในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวต่ำที่สุดคือ 32.50 ± 0.63 เปอร์เซ็นต์

เดือนที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนในตัว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวสูงที่สุดคือ 41.51 ± 1.02 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ 40.93 ± 0.50 เปอร์เซ็นต์ และในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนทั้งตัวต่ำที่สุด คือ 32.00 ± 0.59 เปอร์เซ็นต์ และ สิ้นสุดการทดลอง

เดือนที่ 3 พบว่าปริมาณโปรตีนในตัว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในอาหารชุดทดลองที่มีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวสูงที่สุด คือ 41.41 ± 0.35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คืออาหารชุดทดลองที่มีการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 41.13 ± 1.17 เปอร์เซ็นต์ และในชุดอาหารทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวต่ำที่สุด คือ 30.82 ± 0.51 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนในตัวของกึ่งก้ามกรามนั้นมีการแปรผันตามอัตราการเจริญเติบโตของกึ่งก้ามกราม ดังจะเห็นได้จากการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจาก

ดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนในตัวสูงที่สุดและมีอัตราการเจริญเติบโต สูงที่สุดด้วย

ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของแหล่งโปรตีนที่ได้รับ การใช้ประโยชน์ของโปรตีนใน สัตว์ส่วนการทดแทน 50 เปอร์เซ็นต์ มีองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุดทำให้ ปริมาณโปรตีนในตัวมีค่ามากที่สุดและในการวิเคราะห์นั้นใช้ทั้งตัวซึ่งรวมไปถึงระยะต่าง ๆ ทั้งหัวและตัวกึ่ง ฉะนั้น ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนรวมที่ได้อาจขึ้นกับสัดส่วนของหัวกับตัวของกึ่งด้วย



ภาพที่ 8 ปริมาณโปรตีนรวมในตัวของกึ่งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่น ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมอีรีสด และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า

ตารางที่ 9 ปริมาณโปรตีนรวมในตัวของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่ไหมอีรี คักแด่ไหมอีรีสด และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า (เปอร์เซ็นต์) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

เวลา	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย					ผลวิเคราะห์ทางสถิติ
	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากคักแด่ไหมอีรี			คักแด่ไหมอีรีสด		
	0 %	50 %	100 %	50 %	อาหารเชิงการค้า	
เริ่มต้น	26.97 ^a ±1.05	26.99 ^a ±0.67	27.49 ^a ±1.44	27.13 ^a ±1.27	27.64 ^a ±0.79	0.911
เดือนที่ 1	35.41 ^d ±1.05	37.48 ^{ab} ±1.20	39.08 ^a ±0.41	32.50 ^c ±0.63	36.87 ^{bc} ±0.49	0.001
เดือนที่ 2	34.41 ^c ±0.59	40.93 ^a ±0.50	41.51 ^a ±1.02	32.00 ^d ±0.59	36.02 ^b ±0.98	0.001
เดือนที่ 3	34.84 ^b ±1.08	41.41 ^a ±0.35	41.13 ^a ±1.17	30.82 ^c ±0.51	35.00 ^b ±0.66	0.001

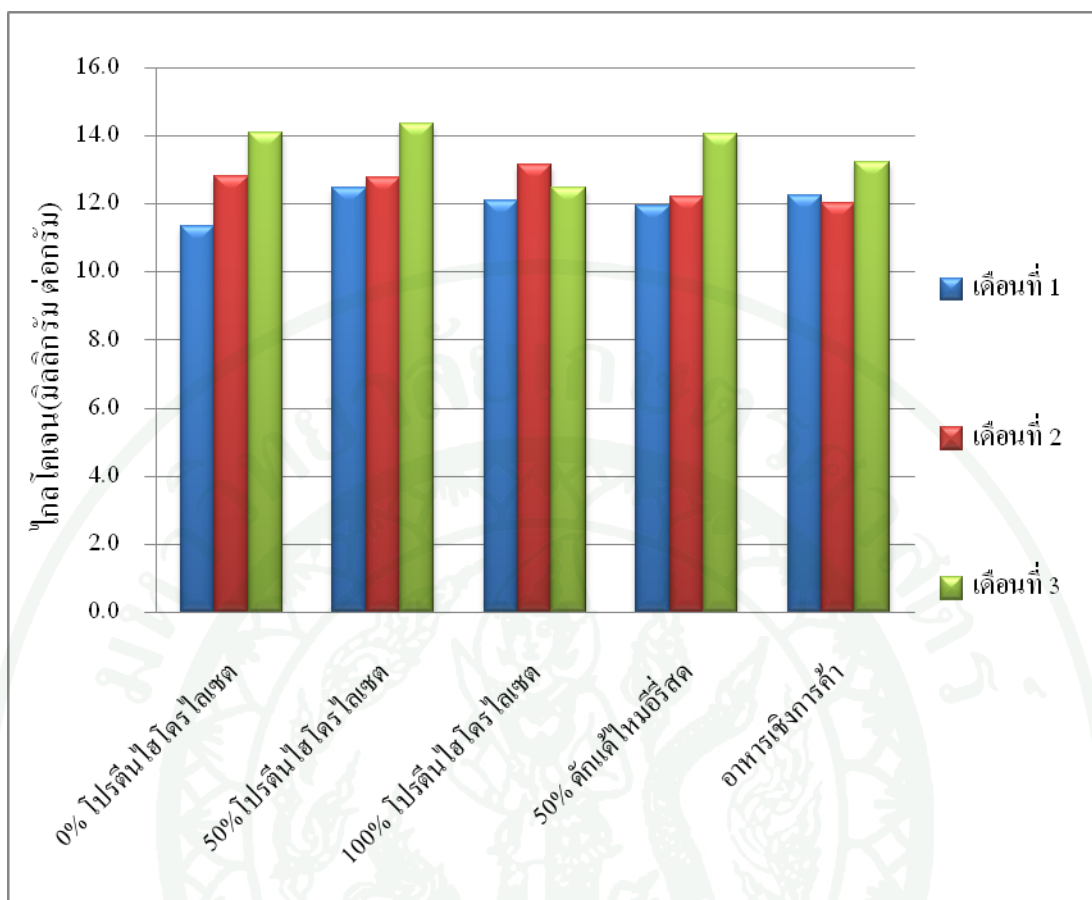
หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

5. ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า พบว่า

เดือนที่ 1 ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกราม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 10 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 11.32 ± 0.57 - 12.46 ± 0.42 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัม hepatopancreas เดือนที่ 2 ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกราม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 12.02 ± 0.48 - 13.16 ± 1.19 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัม hepatopancreas เดือนที่ 3 ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกราม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 13.22 ± 0.45 - 14.55 ± 0.36 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัม hepatopancreas แสดงว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่นที่ระดับต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไกลโคเจน ทั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ (Chin-Chyang Chang, *et al*, 2005) รายงานว่าปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกราม มี 15-19 มิลลิกรัมต่อกรัม hepatopancreas

ถึงแม้ว่าชุดการทดลองแต่ละชุด จะมีการเจริญเติบโตเมื่อสิ้นการทดลองที่แตกต่างกัน แต่สำหรับการสะสมปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามกลับไม่มีความแตกต่างกัน หมายถึง การสะสมปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ไม่ได้บ่งชี้ถึงว่าการที่มีปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas มีปริมาณมาก แล้วจะทำให้กุ้งก้ามกรามการเจริญเติบโตดีขึ้น



ภาพที่ 9 ปริมาณไคโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมอีรีสดและอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

ตารางที่ 10 ปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas ของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี ดักแด้ไหมอิตาลีสด และอาหารกุ้งก้ามกราม เจริญการค้ำ (มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัม hepatopancreas) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

เวลา	ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย					ผลวิเคราะห์ทางสถิติ
	โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี			ดักแด้ไหมอิตาลีสด	อาหารเชิงการค้า	
	0 %	50 %	100 %			
เดือนที่ 1	11.32±0.57	12.46±1.42	12.09±0.71	11.93±1.28	12.26±0.76	0.701
เดือนที่ 2	12.82±0.58	12.77±0.49	13.16±1.19	12.21±1.28	12.02±0.48	0.530
เดือนที่ 3	14.07±0.53	14.55±0.36	14.35±0.52	14.06±0.68	13.22±0.45	0.533

6. ปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่าง อาร์เอ็นเอต่อโปรตีน ใน hepatopancreas ของกิ้งก่ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหาร กิ้งก่ามกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนใน hepatopancreas ของกิ้งก่ามกรามที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีททดแทน ปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหาร กิ้งก่ามกรามเชิงการค้า พบว่า

เดือนที่ 1 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 11 โดยในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณ อาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีน สูงที่สุดคือ 0.666 ± 0.07 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอ ต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ, 0.003 ± 0.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.226 ± 0.03 ตามลำดับ และในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีน ต่ำที่สุดคือ 0.440 ± 0.08 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอ ต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ, 0.440 ± 0.08 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.171 ± 0.03 ตามลำดับ

เดือนที่ 2 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนสูงที่สุดคือ 1.795 ± 0.04 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ, 0.003 ± 0.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อและ 0.540 ± 0.02 ตามลำดับ และในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และ อัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีน ต่ำที่สุดคือ 1.332 ± 0.04 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ, 0.003 ± 0.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.432 ± 0.01 ตามลำดับ

เดือนที่ 3 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีททดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาร์เอ็นเอโปรตีน และ อัตราส่วนระหว่าง อาร์เอ็นเอต่อโปรตีนสูงที่สุดคือ 1.779 ± 0.05 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ 0.003 ± 0.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.540 ± 0.02 ตามลำดับ และในชุด

การทดลองที่ใช้ผักแค้ไหมอีรีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีน และ อัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนต่ำที่สุดคือ 1.383 ± 0.05 ไมโครกรัมอาร์เอ็นเอต่อมิลลิกรัม 0.003 ± 0.00 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิกรัมเนื้อเยื่อ และ 0.432 ± 0.01 ตามลำดับ

เนื่องจากปริมาณการสังเคราะห์ RNA ที่วิเคราะห์ได้นั้นเป็น total RNA ซึ่งประกอบด้วย mRNA, tRNA และ rRNA โดยปริมาณ RNA จะบ่งบอกถึงแนวโน้มความสามารถ การสังเคราะห์โปรตีนได้ เพราะ RNA แต่ละตัวเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน เช่น mRNA เป็นตัวรับข้อมูลพันธุกรรมจาก DNA ส่วน tRNA เป็นตัวขนย้ายกรดอะมิโนเพื่อมาสร้าง โปรตีนและ rRNA เป็นแหล่งไรโบโซมเพื่อสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ ถ้ามีปริมาณ RNA มาก โอกาสที่จะมีการสังเคราะห์โปรตีนได้มาก แต่ทั้งนี้ก็จะขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนที่ จะนำมาต่อเป็นสายพันธะ เปปไทด์ของกรดอะมิโนแต่ละชนิดให้เกิดเป็นให้เป็นโปรตีนแต่ละชนิด ด้วย ทั้งนี้ยังต้องขึ้นกับโภชนาอาหารที่กุ้งได้รับ อาหารที่ให้มีการเสริมโคลีน 30 กรัมต่อกิโลกรัม คิดเป็น 600 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งเพียงพอต่อความต้องการของกุ้ง (Kanazawa, 1982)

ฉะนั้นการทดแทนโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักแค้ไหมอีรีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ จึงมีผลการสังเคราะห์ปริมาณอาร์เอ็นเอ โปรตีนมากที่สุดนั่นเอง

ตารางที่ 11 ปริมาณ อาร์เอ็นเอ โปรตีน และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนใน hepatopancreas ของกุ้งเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่น ด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ ดักแด้ไหมอีรี่สด และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD)

		ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย				ผลวิเคราะห์ทางสถิติ	
		โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่			ดักแด้ไหมอีรี่สด		
เวลา	พารามิเตอร์	0 %	50 %	100 %	50 %	อาหารเชิงการค้า	P-value
เดือนที่ 1	RNA *	0.488 ^b $\pm$ 0.06	0.654 ^a $\pm$ 0.01	0.666 ^b $\pm$ 0.07	0.440 ^a $\pm$ 0.08	0.618 ^a $\pm$ 0.06	0.003
	Proteins**	0.003 ^c $\pm$ 0.00	0.003 ^{ab} $\pm$ 0.02	0.003 ^a $\pm$ 0.00	0.440 ^a $\pm$ 0.08	0.003 ^{bc} $\pm$ 0.00	0.007
	RNA /protein	0.192 ^{ab} $\pm$ 0.02	0.229 ^a $\pm$ 0.01	0.226 ^a $\pm$ 0.03	0.171 ^b $\pm$ 0.03	0.228 ^a $\pm$ 0.02	0.051
เดือนที่ 2	RNA *	1.318 ^c $\pm$ 0.05	1.728 ^d $\pm$ 0.01	1.795 ^a $\pm$ 0.04	1.332 ^c $\pm$ 0.04	1.566 ^b $\pm$ 0.08	0.001
	Proteins**	0.003 ^b $\pm$ 0.00	0.003 ^a $\pm$ 0.00	0.003 ^a $\pm$ 0.00	0.003 ^b $\pm$ 0.00	0.003 ^b $\pm$ 0.00	0.002
	RNA/Protein	0.445 ^b $\pm$ 0.03	0.525 ^a $\pm$ 0.00	0.540 ^a $\pm$ 0.02	0.432 ^b $\pm$ 0.01	0.526 ^a $\pm$ 0.02	0.001
เดือนที่ 3	RNA *	1.585 ^b $\pm$ 0.08	1.784 ^c $\pm$ 0.10	1.779 ^a $\pm$ 0.05	1.383 ^a $\pm$ 0.05	1.645 ^b $\pm$ 0.07	0.001
	Proteins**	0.003 ^{bc} $\pm$ 0.00	0.003 ^a $\pm$ 0.00	0.003 ^{ab} $\pm$ 0.00	0.003 ^{bc} $\pm$ 0.00	0.003 ^c $\pm$ 0.00	0.010
	RNA/Protein	0.498 ^b $\pm$ 0.02	0.523 ^{ab} $\pm$ 0.01	0.540 ^a $\pm$ 0.02	0.432 ^c $\pm$ 0.01	0.526 ^{ab} $\pm$ 0.02	0.001

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

* μ g RNA /mg tissue ** mg Protein /mg tiss

7. ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งก้ามกราม (log cfu/g ลำไส้) ที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งก้ามกราม (log cfu/g ลำไส้) ที่ได้รับโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

เดือนที่ 1 มีปริมาณแบคทีเรียรวมมากกว่า 7.48 แบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลกติก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 14 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 7.08 ± 0.45 - 7.02 ± 0.71 ส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* sp. ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 6.88 ± 0.41 - 6.09 ± 0.62

เดือนที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียรวมมากกว่า 7.48 แบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลกติก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 7.14 ± 0.54 - 6.12 ± 0.55 แบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* sp. มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยในชุดการทดลองที่ไม่มีการทดแทนโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลี มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 6.89 ± 0.75 รองลงมา คืออาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า เท่ากับ 6.81 ± 0.64 และโดยมีในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 4.94 ± 0.77

เดือนที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรียรวม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีแบคทีเรียในลำไส้อยู่ระหว่าง 9.30 ± 1.08 - 9.13 ± 1.25 ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดแลกติก มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีแบคทีเรียในลำไส้ในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 8.00 ± 0.52 รองลงมา คือแบคทีเรียในลำไส้ในชุดการทดลองที่ใช้ดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 7.83 ± 0.48 และแบคทีเรียในลำไส้ในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 6.86 ± 0.41 ส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* sp. มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีของในอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 7.89 ± 0.58 รองลงมา คือในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอิตาลีทดแทนปลาป่น 0 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 7.58 ± 0.51 และ ในชุดการทดลองที่ใช้โปรตีนไฮโดรไลเซต

จากผักคั่วไหม้หรือทอดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำที่สุด เท่ากับ 5.74 ± 0.9 เช่นเดียวกับ วลัยพร (2544) ทำการสำรวจแบคทีเรียจากลำไส้ของกิ้งก่ามกราคมที่ตลาดสะพานใหม่ ปอเลียง จ.อยุธยา และแม่น้ำบางปะกง ศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมและ กลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก รายงานว่า อาหารศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมคิดเป็น แบคทีเรียในลำไส้ 7.88 ($\log \text{cfu/g}$ ลำไส้) (7.7×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร), 7.91 ($\log \text{cfu/g}$ ลำไส้) (8.25×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) และ 9.20 ($\log \text{cfu/g}$ ลำไส้) (1.6×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ และกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก พบว่า น้ำไม่ได้ 6.68 ($\log \text{cfu/g}$ ลำไส้) (4.8×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) และ 9.37 (2.35×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ อาจเนื่องมาจาก การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักคั่วไหม้หรือทอดแทนปลาป่น ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผักคั่วไหม้หรือนั้น ได้มาจากกระบวนการย่อยภายใต้สภาวะกรดแก่ เมื่อได้รับอาหารเข้าไป ซึ่งยังทำให้ แบคทีเรีย ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในทางเดินอาหารและลำไส้ของกิ้งก่ามกราคมนั้นสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ

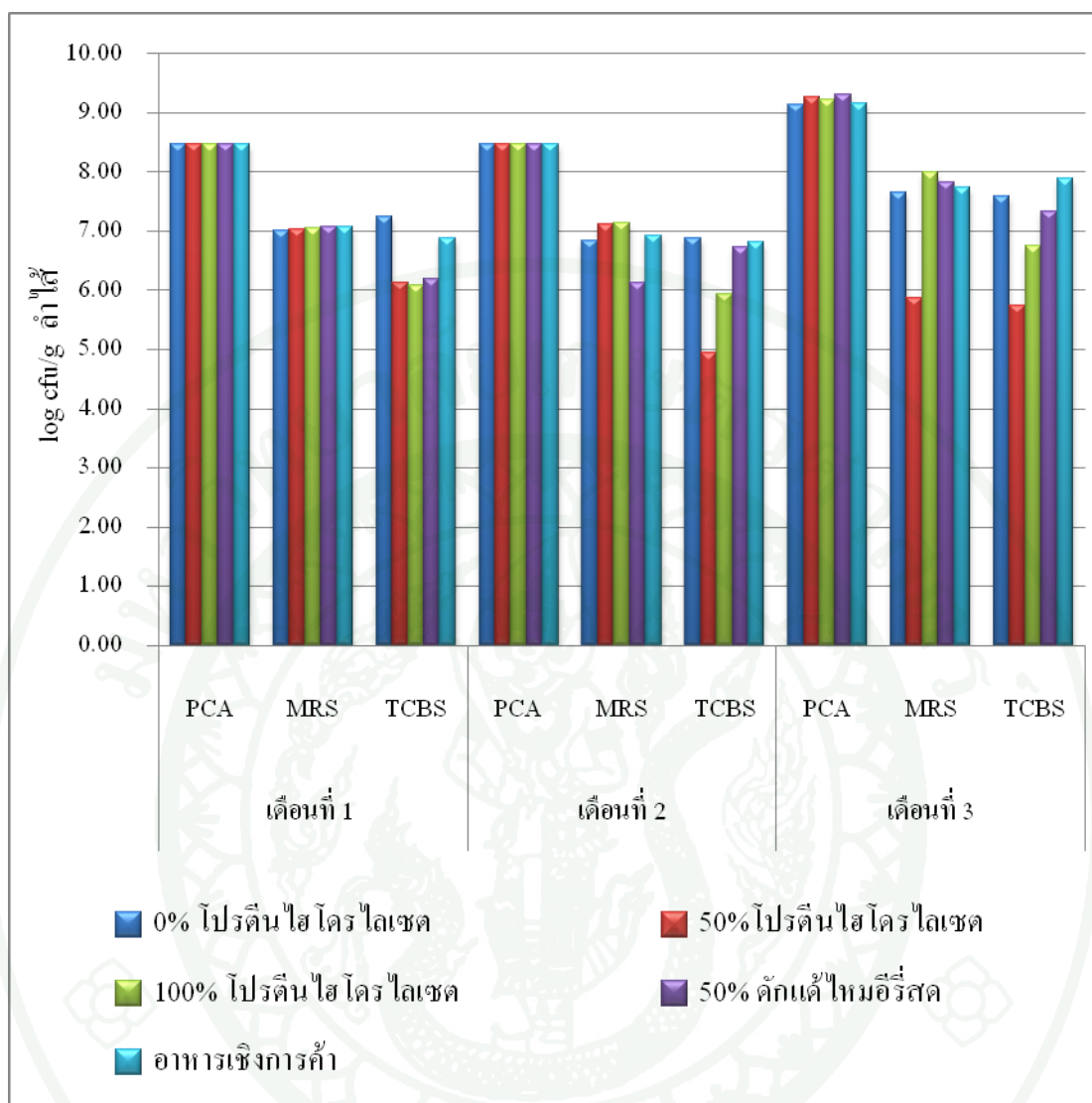
ตารางที่ 12 ปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้ของกิ้งก่ามกราม (log cfu/g ลำไส้) เมื่อได้รับอาหารที่มี การทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซต จากดักแด้ไหมอีรี ดักแด้ไหมอีรีสดและอาหารกิ้งก่ามกรามเชิงการค้า

		ระดับการทดแทนปลาป่นด้วย					
		โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่			ดักแด้ไหมอีรี่สด	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ	
เวลา	อาหารเลี้ยงเชื้อ	0 %	50 %	100 %	50 %	อาหารเชิงการค้า	P-value
เดือนที่ 1	PCA	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	-
	MRS	7.02 ^a ±0.71	7.03 ^a ±0.52	7.05 ^a ±0.68	7.08 ^a ±0.45	7.06 ^a ±0.56	0.107
	TCBS	6.24 ^a ±0.44	6.14 ^a ±0.83	6.09 ^a ±0.62	6.19 ^a ±0.57	6.88 ^a ±0.41	0.095
เดือนที่ 2	PCA	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	>7.48 ¹	-
	MRS	6.83 ^a ±0.80	7.11 ^a ±0.67	7.14 ^a ±0.54	6.12 ^a ±0.55	6.93 ^a ±0.42	0.102
	TCBS	6.89 ^a ±0.75	4.94 ^c ±0.72	5.94 ^b ±0.39	6.73 ^a ±0.32	6.81 ^a ±0.64	0.036
เดือนที่ 3	PCA	9.13 ^a ±1.25	9.26 ^a ±1.48	9.22 ^a ±1.33	9.30 ^a ±1.08	9.16 ^a ±1.39	0.073
	MRS	7.66 ^b ±0.37	5.86 ^c ±0.41	8.00 ^a ±0.52	7.83 ^b ±0.48	7.73 ^b ±0.63	0.006
	TCBS	7.58 ^b ±0.51	5.74 ^c ±0.29	6.76 ^d ±0.49	7.33 ^c ±0.57	7.89 ^a ±0.58	0.028

หมายเหตุ a,b,c,d อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p<0.05)

¹ หมายถึง ปริมาณแบคทีเรียที่มากกว่า 300x10⁵ โคโลนีต่อมิลลิลิตร หรือ นับไม่ได้

PCA = total count bacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, MRS=lactic acid bacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS TCBS = *Virbio* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS



ภาพที่ 10 ปริมาณของแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรี่ ดักแด้ไหมอีรี่สดและอาหารกุ้งก้ามกรามเชิงการค้า

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่นในอาหารกึ่งก้ำมกรามที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กึ่งก้ำมกรามเจริญเติบโตดีที่สุดโดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุดจาก 19.5 ± 1.43 กรัมต่อตัว เป็น 43.49 ± 0.45 กรัมต่อตัว หรือน้ำหนักเพิ่มขึ้น 24.08 ± 0.40 กรัมต่อตัว
2. การย่อยดักแด้ไหมอีรีด้วยเอนไซม์ปาเปนจากยางมะละกอสดในอัตราส่วน ดักแด้ไหมอีรี : 10 % Acetic : เอนไซม์ปาเปน (3 : 6.9 : 0.1) มีประสิทธิภาพการย่อยได้ เท่ากับ 59.3 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 6
3. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่นในอาหารกึ่งก้ำมกรามที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในเลือด และปริมาณไกลโคเจนใน hepatopancreas แต่ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในตัว และอัตราส่วนระหว่างอาร์เอ็นเอต่อโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้น
4. การใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอีรีทดแทนปลาป่นในอาหารกึ่งก้ำมกรามมี ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของกึ่งก้ำมกราม

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการศึกษาการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่รีทดแทนปลาป่น 0, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ดักแด้ไหมอี่รีสดทดแทนปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกึ่งก้ามกรามเชิงการค้า ซึ่งสามารถทดแทนได้ 50 เปอร์เซ็นต์ นั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ในส่วนของคุณภาพน้ำภายในตู้ระหว่างการเลี้ยงเพื่อดูว่าคุณภาพน้ำมีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ เพื่อเป็นการเปรียบเทียบถึงผลของอาหารทดแทนนี้ ที่มีการดักแด้ว่ามีผลต่อคุณภาพในตู้เลี้ยงหรือไม่
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับที่เหมาะสมของการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่รีในอาหารกึ่งก้ามกรามระยะอื่นๆ ด้วย ซึ่งผลที่ได้จะได้นำมาเปรียบเทียบผลต่อการตอบสนอง ของกึ่งก้ามกรามแต่ละระยะ การเจริญเติบโต เพื่อประสิทธิภาพของอาหารสูงสุด
3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงชนิดและปริมาณที่แน่นอนของกรดอะมิโนที่ได้จากโปรตีนไฮโดรไลเซตจากดักแด้ไหมอี่รีเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมประมง. 2549. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2549. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 4/2549. ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ชะลอ ลิมสุวรรณ, ยนต์ มุสิก, ชีระ เล็กชวายุทธ, กังวาลย์ จันทร์โชติ, นงนุช รักสกุลไทย. 2530. โรคกุ้งทะเลและการใช้เคมีภัณฑ์, วารสารสงขลานครินทร์.

ชูศักดิ์ แสงธรรม. 2532. กุ้งก้ามกราม. ศูนย์ผลิตตำราเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 2, กรุงเทพฯ.

ดาวัลย์ จิมภู. 2548. ชีวเคมี. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ทิพย์วดี อรรถธรรม, สุธรรม อารีกุล, เสาวลักษณ์ ศิริวงศ์, วารณี บุญปก. 2549. การใช้บริการ
ใหม่อีรีเพื่อดำเนินงานวิจัย. โครงการการพัฒนาใหม่อีรีสู่อุตสาหกรรม.
ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

พวงชมพู ชูเกียรติวัฒนา. 2545. การเพิ่มความบริสุทธิ์และคุณสมบัติของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัด
ได้จากเฮฟาโทแพนครีซของกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิลาณี ไวนอมสัดย์ และ ชิดชัย ปัญญาสวรรค์. 2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตโปรตีน
ไฮโดรไลเสทจากใหม่อีรีโดยเทคโนโลยีทางด้านเอนไซม์. โครงการการพัฒนาใหม่อีรีสู่
อุตสาหกรรม. ฝ่ายเทคโนโลยีเอนไซม์และการจัดการของเสีย. สถาบันค้นคว้าและพัฒนา
ผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรจง เทียนสงรัสมิ. 2521. หลักการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

บรรจง เทียนสงรัสมิ. 2535. หลักการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

ประจวบ หล้าอุบล. 2541. **สรีรวิทยาของกุ้ง**. น. 265 - 291. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะประมงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประยูร ลีถางมวงศ์. 2529. ทำไมจึงนำไข่ปลาไปเป็นอาหารสัตว์ **ปลาน้ำจืด**. 1 (3):37-45.

วลัยพร ทิมบุญธรรม. 2544. **การคัดเลือกกลิ่นที่มียุทธศาสตร์เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง
ก้ามกราม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิเชียร สาคเรศ. 2521. **การเจริญเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งแชบ๊วยวัยรุ่นที่เลี้ยงด้วย
อาหารผสมที่มีโปรตีน 4 ระดับ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิโรจน์ แก้วเรือง และ สุทธิศักดิ์ พิมพ์สาส์. 2548. **เก็บไข่ปลาเลี้ยงในกสิกรรม**. 78 (3): 57-62.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2535. **อาหารปลา**. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ**,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนชัย ลิโทพลิต, วิวัฒน์ ชัยชนะศิริวิทยา. 2531. **การศึกษาจุลินทรีย์ในลำไส้กุ้งกุลาดำปกติและน้ำที่
ใช้เลี้ยงกุ้ง**. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์. คณะสัตวแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ลิลลา เรืองแป้น, ยาใจ เจริญวิริยะกุล, เขานิตย์ ดนยดล. 2528. **โรคและพยาธิในกุ้งของไทย**.
เอกสารวิชาการฝ่ายทดลองและวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยง. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.

ลิลลา เรืองแป้น. 2544. **โต๊ะวิชาการ: ไก่โตซาน**. วารสารสัตว์น้ำ. (12) 142: 65 - 66.

ศุภชัย นิลวานิช. 2543. **กลเม็ดสร้างอนาคตกับกุ้งก้ามกราม**. สำนักพิมพ์มติชน, กรุงเทพฯ. 104 หน้า.

ศิริชัย สิริมงคลรัตน์, ประภาส โฉลกพันธุ์รัตน์ และ ชยยุทธ ไวกุล. 2544. การใช้หนอนไหมป่า
ชื่อ *Philosamia ricini* Boisd เป็นอาหารปลาสวยงาม. คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สมโภชน์ ทับเจริญ. 2535. อาหารหมูไหมใช้โปรตีนหนอนไหมใหม่สุดประหยัด.
สุกฤษฎี 10: น. 13-18.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2533. การสกัดไคตินและไคโตแซนจากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
สาขาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, วิทยาเขตหาดใหญ่.

สถาบันวิจัยหม่อนไหม. 2536. ข้อมูลการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในเขตรับผิดชอบของศูนย์วิจัย
หม่อนไหม. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สถานการณ์ปศุสัตว์ปี 2544 และแนวโน้มปี 2545 กลุ่มวิจัยสินค้าเกษตรกรรมที่ 1 ส่วนวิจัยสินค้า
เกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กุมภาพันธ์(2545) : 79- 97.

สาโรช คำเจริญ. 2523. อาหารและการให้อาหารสัตว์เลี้ยง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สิทธิชัย สะทะโซติ. 2547. การใช้ดักแด้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารกุ้งก้ามกราม.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวิทย์ ชื่นสินธุ์. 2534. การเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. หนังสือเกษตรชาวบ้าน ปีที่ 2.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อัมพร ทองกุ๊กริยดิกุล. 2540. รายงานการวิจัยเรื่องศึกษาชนิดของเอนไซม์ในกระเพาะอาหารกุ้ง
กุลดำ. ภาควิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

อำนวย โชติญาณวงษ์. 2536. การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. วารสารการประมง. 36(4): 389-392.

อุดมชัย จินะดิษฐ์. 2535. ผลกระทบจากเปลือกกุ้งกับการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสาร สทท. ฉบับเทคโนโลยี 19 (104): 50 - 54.

อังคณา หาญบรรจง, ดวงสมร สีนเจิมศิริ และ สุรัตน์ นราประเสริฐกุล. 2533. การศึกษาคุณภาพ ปลาป่น. ปลาป่นสาร 5(16): 38-42.

Adler-Nissen, J. 1986. **Enzymic Hydrolysis of Food Protein**. Vanderblit, New York.

A.O.A.C. 2000. **Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists**. 14th ed. Association Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Briggs, M.R., K. Januncey and J.H. Brow, 1988. The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semi-purified diets. **Aquaculture** 70: 121- 129.

Chandrasekaram, M., P. Lakshmanaperumlsamy and D. Chandramohan. 1984. Current of Vibrio during fish spoilage, **Curr. Sci** 53: 31-32.

D'Abramo, L.R. 1998. Nutritional requirement of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* : comparison with species of Penaeiid shrimp. **Reviews in fisheries Science** (6): 153-163.

D'Abramo, L.R. and M.B. New. 2000. Nutrition, feeds and feeding. in M.B. New and W.C. Valenti; eds. *Freshwater Prawn Culture—The Farming of Macrobrachium rosenbergii*. **Blackwell Science**. 203-220, Oxford, England.

D'Abramo, L.R. and W. H. Daniels. 1994. Sterol requirement of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* In: Abstracts of the World Aquaculture (94) 14 – 18 January 1994. New Orleans. **World Aquaculture Society**. Baton Rouge, LA USA.

- D'Abramo, L.R. and S.S Sheen. 1992. Polyunsaturated fatty acid nutrition in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*, **Aquaculture** 115: 63 –68.
- Dempsey A.C. and Kitting CL. 1987. Characteristics of bacteria isolated from penaeid shrimp, **Crustaceana** 52: 90-93.
- Dempsey A.C. Kitting CL, and Rosson RA. 1989. Bacterial variability among individual penaeid shrimp digestive tracts, **Crustaceana** 56: 267-276.
- Doi, Etsushiro. D. Shibata and T. Matoba. 1981. Modified colorimetric ninhydrin for peptidase assay. **Anal. Biochem.** 118: 173-184.
- Green, J. and H.F. G. Witherby Ltd. 1961. **A Biology of Crustacea**, London.
- Hanson, A.J. and H.L. Goodwin. 1977. **Shrimp and Prawn Farming in The Western Hemisphere**. State of the Art Rev, 274–277.
- Havenaar, R. and J.H.J. Huis in't Veld. 1992. Probiotics : a general viewr, pp. 151-170 in Wood, B.J.W. (ed). **The Lactic Acid Bacteria in Health and Diseases**. London: Elsevier Applied Science.
- Hardie et al., 1991 I.J. Hardie, T.C. Fletcher and C.J. Secombes, The effect of dietary vitamin C on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), **Aquaculture** 95 (1991), pp. 201–214.
- Hilton, J.W. , K.E. Harrison and S.J. Slinger. 1984. A semipurified test diet for *Macrobrachium rosenbergii* and the lack of need for supplemental lecithin. **Aquaculture** 37: 209 –215.

- Howell, N.K. 1996. Chemical and enzymatic modifications,. In S. Nakai and H.W. Modler, eds. **Food Protein : Properties and characterization** 235 – 280VCH Publishers, New York.
- Hoyle, N.T. and J.H. Merritt. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring. **J. Food Sci** 59: 76-79.
- Jintasataporn, O., Tabthipwon, P. and Ohshima, Y. 2001. **Chemical position, lipid class and fatty acid composition of eri silkworm *Philosamia ricini* Boisd.** *Fisheries Science* 68:1637-1638. Yokohama, Japan.
- Jiwan Kumar Cherttri, N.P. Sahu , A.K. Pal , A.K. Reddy , Shivendra Kumar and Vikas Kumar. 2007. Comparative performance of Gamma Amino Butyric Acid (GABA) and 5-Hydroxytryptamine (5-HT) in the diet of larvae and post larvae of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: Effect of dose and route of administration on growth and survival. **Aquaculture** 270: 240–248.
- Johnson SK. 1978. **Handbook of shrimp Diseases**. Texas A and M University Sea Grant College Program, Texas.
- Johnson SK. 1982. Diseases of *Macrobrachium*. In: Giant prawn farming developments in aquaculture and fisheries Science. In M.B. New (ed.), Amsterdam-Oxford-New York, **Elzenier Scientific Publishing Co** 10: 89-90, New York.
- Kaper JB, Lc kman H, Remmer EF, Kristensen K, and Colwell RP. 1983. Numerical taxonomy of *Vibrio* isolated from estuarine environments. *Inter. J. Sys. Bacteriol.* 229-255.
- Kanazawa, A. 1982. Penaeid nutrition, pp. 87-105. *In Proceedings of the Second International Conference in Aquaculture nutrition*, Rehoboth Beach.

- Kristinsson, H.G. and B.A. Rasco. 2000. Biochemical and functional properties of atlantic Salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. **J. Agric Food Chem** 48: 657 – 666.
- Lee, P.G., N.J. Blake and G.E. Rodrick. 1980. A quantitative analysis of digestive enzymes for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Proc. World Maricul. SC** 11: 392 – 402.
- Mukti, S.H. 2003. **Effect of Dietary Lipid and Carbohydrate Ratio on Growth Performance, Feed Utilization and Waste Excretion of Giant Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)**. M.S. Thesis, Kasetsart University.
- Mohr, V. 1980. Enzyme technology in the meat and fish industries. **Process Biochem** 15: 18-21.
- Moorjani, M.N., R.B. Nair and N.L. Lahiry. 1968. Quality of fish protein concentrate prepared By direct extraction of fish with various solvents. **Food Technol** 22: 1557-1604.
- New, M.B. 1980. The diet of Prawn, 63- 64. In Programme for the Expansion of fresh water farming. **Elsevier scientific publ. Com.**, Amsterdam.
- Peterson, M.S. and A.H. Johnson. 1978. **Encyclopedia of Food Science**. AVI Publishing Company, Connecticut.
- Quaglia, G.B. and E. Orban. 1987. Enzymic solubilisation of protein of sardine (*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. **J. Sci. Food Agric** 38: 263-269.
- Ravindran, V., E.T. Kornegay, H.S. Bartlett, L.M. Polter and J.A. Cherry. 1984. Use of cassava leaf in tropical broiler diets. **Poultry Sci** 63:167-168.

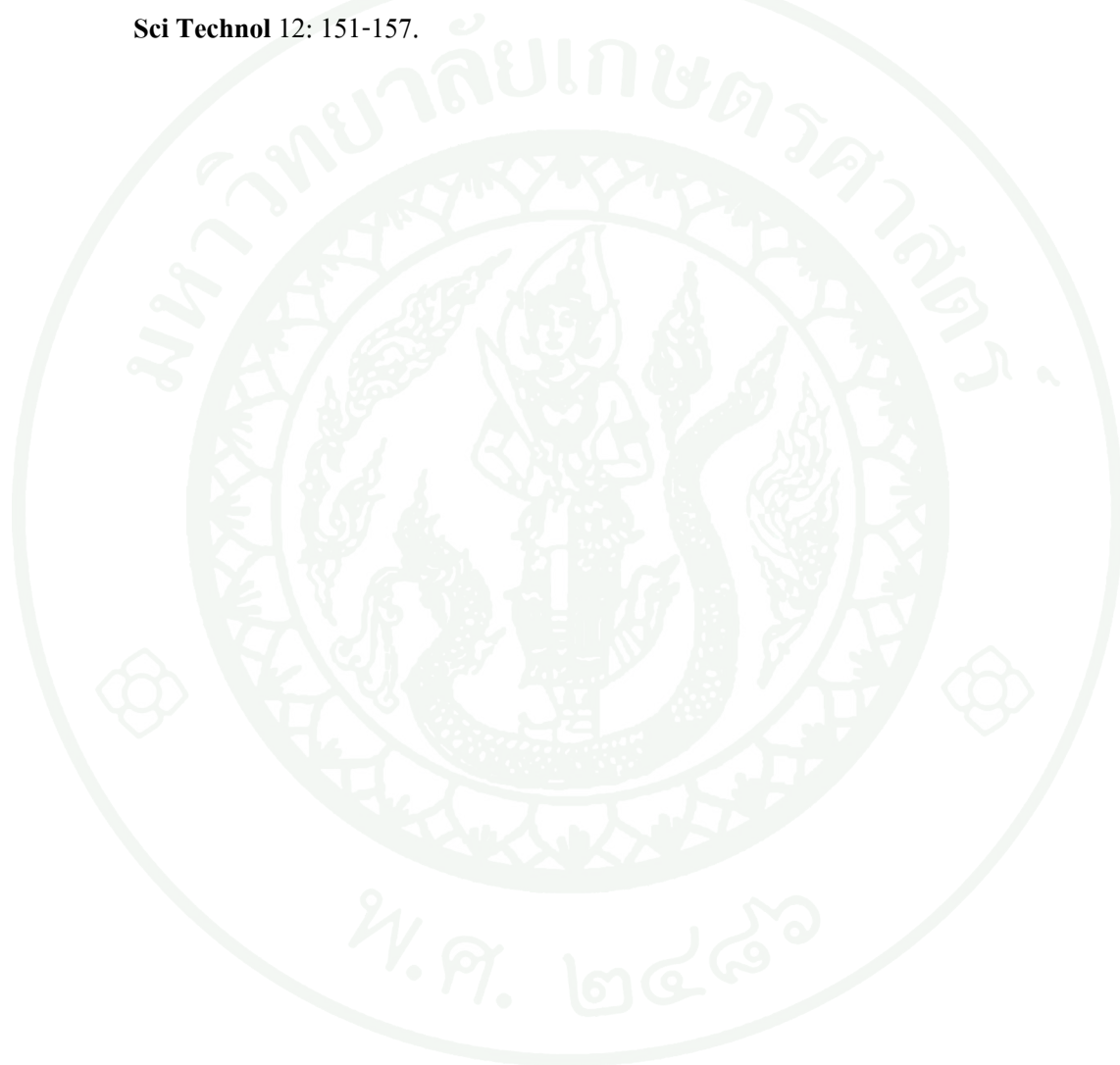
- Reight, R.C. and R.R. Stickney. 1989. Effects of purified dietary fatty acids on the fatty acid composition of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*, **Aquaculture** 77: 157- 174.
- Ruello, N.V. 1976. Biological Characteristics of Australian Prawns. **Australian Fisheries** 35 (2): 4 – 9.
- Sandifer, P.A. and J.D. Joseph. 1976. Growth responses and fatty Acid composition of juvenile prawns(*Macrobrachium rosenbergii*) Fed a prepared ration augmented with shrimp head oil. **Aquaculture** 8: 129 – 138.
- Sen, D.P. 1966. Fish odors and the problem of their removal. **Fish Technology Experiment Station**, Mangalore.
- Shahidi, F., X.Q. Han and J. Synowiecki. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates From capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chem.** 58: 285-293.
- Shin, F.F. 1992. Modification of food proteins by non-enzymatic meethods. In B.J.F. Hudson, ed. **Bichemistry of Food Proteins** 235-248. Elsevier Applied Science, London.
- Sindermann CJ, and Lightner DV. 1988. Disease diagnosis and control in North American Marine Aquacultrue. Elsevier. **Amsterdam** 42-47.
- Stahl, M.S. and G.A. Ahearn. 1978. Amino acid studies with Juvenile *Macrobrachium rosenbergii* Prc . Annu. Meet. **World Maricult. Sc** . 9 : 209 –216.
- Watanabe, W.O. 1975. **Identification of essential amino acids of the freshwater prawn , *Macrobrachium rosenbergii*** , M.S. Thesis, University of Hawaii, Honolulu.

Wood, T. 1966. The cyanogenic glucoside content of casava and cassava products.

Journal of the Science of Food and Agriculture 16: 300-305.

Yuthachit P, Vaoravuthikunchai S, and Suntainalert P. 1990. Studies of bacterial microbiota in the gastrointestinal tract of cultured tiger prawn (*penaeus monodon*). Songklanakarin. J.

Sci Technol 12: 151-157.





การวิเคราะห์อัตราการผลิตโต

1. น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain: ADG)

$$\text{น้ำหนักเพิ่มต่อตัวต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุด} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

ระยะเวลาทดลอง

2. น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย (Weight gain: W_g)

$$W_g = \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง}$$

3. อัตราการเปลี่ยนอาหาร (food conversion ratio: FCR)

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหาร} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

4. อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน (feed intake: FI)

$$\text{อาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน(กรัม/ตัว/วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{(\text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้น} + \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุด}) / \text{จำนวนวัน}}$$

5. ประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio: PER)

$$\text{ประสิทธิภาพของโปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่กิน}}$$

6. การใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utilization: NPU)

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่สะสมในตัว} = \frac{B - B_0}{I}$$

B = ปริมาณโปรตีนในตัว ขณะเสร็จสิ้นการทดลอง

B_0 = ปริมาณโปรตีนในตัว ขณะเริ่มการทดลอง

I = ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่กิน

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์หาความชื้น

วิธีการ

1. เตรียม drying pan โดยอบในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำ ไปใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที
2. นำ drying pan ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก
3. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน drying pan บันทึกน้ำหนักรวมของ drying pan และตัวอย่าง
4. นำ drying pan และตัวอย่างไปอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
5. นำ drying pan และตัวอย่าง ใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นนาน 30 นาที แล้วนำ ไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(B-C) \times 100}{B-A}$$

โดยที่ A : น้ำหนัก drying pan

B : น้ำหนัก drying pan และตัวอย่างอาหารก่อนอบ

C : น้ำหนัก drying pan และตัวอย่างอาหารหลังอบ

การวิเคราะห์หาเถ้า

วิธีการ

1. เตรียม crucible โดยอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที แล้วนำไปใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น
2. นำ crucible ไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก
3. ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน crucible บันทึกน้ำหนัก crucible และตัวอย่าง
4. นำ crucible พร้อมตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง
5. เมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จากนั้นนำ ออกใส่ใน desiccator นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก
6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{(B-C) \times 100}{B-A}$$

B-A

โดยที่ A : น้ำหนัก crucible
 B : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารก่อนอบ
 C : น้ำหนัก crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ

การวิเคราะห์หาโปรตีน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม catalyst mixed ที่มีส่วนผสมของ selenium อยู่ด้วยประมาณ 10 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงในหลอดย่อย 10 มิลลิลิตร
4. นำ ไปย่อยที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 30-45 นาที จนสังเกตเห็นเป็นสาร

ละลายใส

5. ทิ้งให้เย็นประมาณ 20 นาที
6. เตรียมกรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ 80 มิลลิลิตร ในขวดลูกผสมพวย หยด mixed indicator (methyl red + bromองศาเซลเซียส resol green) 2-3 หยด นำ ไปตั้งที่เครื่องกลั่นให้ปลายหลอดกลั่นจุ่ม ในสารละลาย
7. นำ หลอดตัวอย่างใส่ในเครื่องกลั่น เติมน้ำ 30 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์ 70 มิลลิลิตร ใช้เวลากลั่นประมาณ 3-4 นาที สารละลายกรดบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า
8. นำ สารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้
9. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ในขวดลูกผสมพวย หยด mixed indicator 2-3 หยด นำ ไปไทเทรตด้วย 0.1 N H_2SO_4 จนได้สารละลายสีชมพู บันทึกปริมาณที่ใช้
10. คำนวณหาค่าไนโตรเจนจากสูตร
เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน = $\frac{(V_2 - V_1) \times N \times F \times 1.4}{W}$

W

โดยที่ N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ (0.1 N)

F = factor ของกรดซัลฟูริก ได้จากการ standardization กับ Tris-buffer

V_1 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไทเทรต blank

V_2 = ปริมาณของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

11. นำ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้คูณด้วยค่า Empirical factor คือ 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์ไขมัน

วิธีการ

1. อบ extraction beaker ในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้ว ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 1.5-3 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ ออบและชั่งซ้ำ 1-2 ครั้งจนได้น้ำหนักที่คงที่
3. ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองอย่างหลวม ๆ
4. ใส่ตัวอย่างใน thimbles
5. เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ ลงใน extraction beaker
6. ตั้งบีกเกอร์ในเครื่องมือวิเคราะห์ไขมันทิ้งไว้ประมาณ 1-1.5 ชั่วโมง จนนิโตรเลียมอีเทอร์ ในหลอดสกัดไขมันใส เก็บนิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในถังเก็บ สกัดจนนิโตรเลียมอีเทอร์ ในบีกเกอร์เกือบหมดจึงปิดเครื่อง
7. นำ บีกเกอร์ที่มีไขมันไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมัน
9. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมันจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ ไขมัน} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

โดยที่ W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

A = น้ำหนัก extraction beaker

B = น้ำหนัก extraction beaker และไขมันที่สกัดได้

การวิเคราะห์เยื่อใย

วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยแบบ gravimetric (classical fiber) method

หลักการ

วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหารที่ต้องการวิเคราะห์โดยใช้กรดอ่อนและด่างอ่อนด้วยการละลายสารอินทรีย์ส่วนที่สัตว์สามารถย่อยได้ออกจากตัวอย่าง (NFE) ส่วนที่เหลือคือสารอินทรีย์ส่วนที่ย่อยไม่ได้ (เยื่อใย) และสารอนินทรีย์ นำ ส่วนที่เหลือไปเผาเถ้า จะได้ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีในตัวอย่างอาหาร ปริมาณสารอินทรีย์ที่หายไปจากการเผาในเผาเถ้า คือ ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. ต้มกรดซัลฟูริก 0.128 M ประมาณ 1 ลิตร
ต้มน้ำกลั่นให้ร้อน ประมาณ 1.5 ลิตร
ต้มด่าง KOH 0.223 M ประมาณ 1 ลิตร
2. ชั่งตัวอย่าง (W) น้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ใน crucible นำ ไปวางบน crucible stand
3. นำ crucible ใส่ในเครื่องย่อย (hot extraction unit)
4. เติมกรดซัลฟูริก 0.128 M 150 มิลลิลิตร ต้มตัวอย่างจนเดือด แล้วจับเวลาประมาณ 45-60 นาที
5. กรองสารจนแห้งล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง
6. เติม KOH ที่ร้อน 0.223 M 150 มิลลิลิตร ต้มจนเดือดจับเวลา 30 นาที กรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง
7. นำ crucible ออกจากเครื่องย่อย ไปอบที่ 130 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก (W_1)
8. เผาตัวอย่างใน crucible ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผาจนเหลืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำ crucible ใส่ desiccator ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_2)
9. คำนวณปริมาณเยื่อใยจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เยื่อใย} = [(W_1 - W_2) / W] \times 100$$

ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ

วิธีการ

การหาน้ำหนักที่แท้จริงของอาหารซึ่งน้ำหนักอาหารที่จะทดสอบประมาณ 100 กรัม คัดเลือกอาหารที่มีขนาดใกล้เคียงกันใส่จานแก้ว นำ ไปอบที่ 80-100 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง นำ ออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

การหาความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ

1. ชั่งอาหารที่อบและทิ้งไว้ให้เย็นแล้วมา 5.0 กรัม (W_0) ใส่ในตะกร้าขนาด 5 x 5 x 5 ซม. ขนาดช่องตา 0.2 x 0.2 ซม. จำนวน 4 ตะกร้า แล้วนำไปแขวนในถังกลมความจุ 2 ลูกบาศก์ เมตร ให้อากาศตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างครั้งละ 1 ตะกร้า ทิ้งไว้ให้สะเด็ด น้ำ ศึกษาลักษณะภายนอกด้วยสายตาบันทึกความพองตัวของเม็ดอาหารทดลองหักเม็ดอาหาร เพื่อดูสภาพภายใน

2. นำ อาหารที่เหลือในตะกร้าไปอบที่ 80-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้ว ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำ มาชั่งน้ำหนัก (W_t) คำนวณหาน้ำหนักที่หายไปหรือเปอร์เซ็นต์ สูญเสียโดยคำนวณจาก

$$\text{ความคงทนของอาหารเม็ดในน้ำ (เปอร์เซ็นต์)} = (W_t/W_0) \times 100$$

W_t = น้ำหนักอาหารที่เหลือหลังจากอบแห้งแล้ว (กรัม)

W_0 = น้ำหนักอาหารแห้งเริ่มต้น (กรัม)

วิธีนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hasting (1971), Balazs (1973), Lovell (1975)

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ฝุ่น

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม (W_0) ให้ทราบน้ำหนักแน่นอน
2. ใส่ในตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร เขย่าเป็นเวลา 15 นาที ที่ 500 รอบ/นาที
3. น้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านตะแกรงร่อน (W_r) คือ ปริมาณฝุ่น คำนวณเป็นร้อยละ

$$\text{ปริมาณฝุ่นของอาหารเม็ด (เปอร์เซ็นต์)} = 100 \times (W_0 - W_r) / W_0$$

W_r = น้ำหนักอาหารที่เหลือหลังจากเขย่าผ่านตะแกรงร่อน (กรัม)

W_0 = น้ำหนักอาหารแห้งเริ่มต้น (กรัม)

วิเคราะห์การดูดน้ำ

วิธีการ

1. ชั่งอาหารที่อบและทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมา 5.0 กรัม
2. มาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำอยู่ 250 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. หลังจากนั้นเทน้ำออก นำเม็ดอาหารที่เหลือมาชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดน้ำ

ดูดน้ำ

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Lawry's method

วิธีการ

- 1.นำตัวอย่าง 0.05 มิลลิลิตร ผสมกับสาร I 0.45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในแต่ละตัวอย่าง
- 2.แล้วบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที
- 3.นำออกมาเติม สาร II 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
- 4.บ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที
- 5.วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น A_{750} นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer
- 2.นำค่าความยาวคลื่นที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่มีในเอนไซม์ แล้วเทียบกับ

กราฟมาตรฐานของ bovine serum albumin: BSA

หมายเหตุ สาร I : เตรียมจาก A:B:C (100: 1: 1)

สารละลาย A: 2เปอร์เซ็นต์ Sodium carbonate

Sodium carbonate 20 กรัม + 30 มิลลิลิตร 0.1 N NaOH + น้ำกลั่น 950

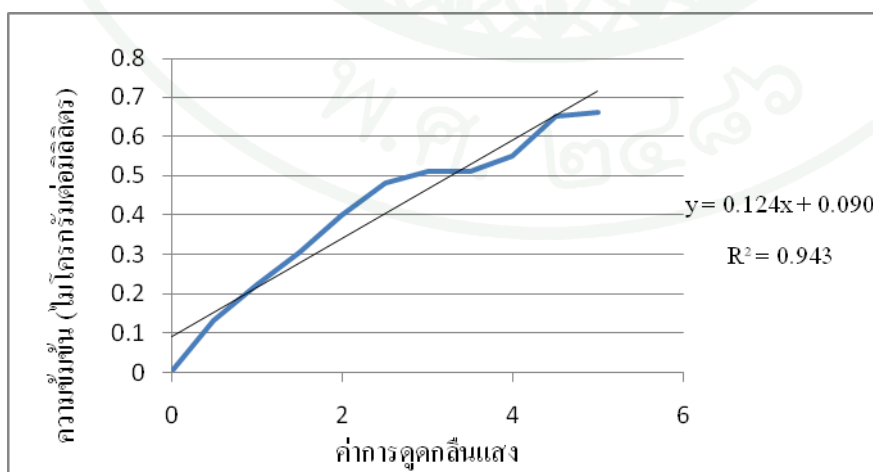
มิลลิลิตรสารละลาย B : 1 เปอร์เซ็นต์ CuSO_4

$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 1 g + น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สารละลาย C: Sodium potassium titrate

Sodium potassium titrate 2 กรัม + น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สาร II : Folin: น้ำกลั่น (1: 1)



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) โดยวิธี Lawry's method

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Biuret reaction

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายไบยูเรท

ละลาย copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1.5 กรัม และ sodium potassium tartrate ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) 6.0 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมสารละลาย sodium hydroxide เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ 300 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ชั่ง bovine serum albumin (BSA) 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ได้สารละลาย 1.0 เปอร์เซ็นต์ BSA

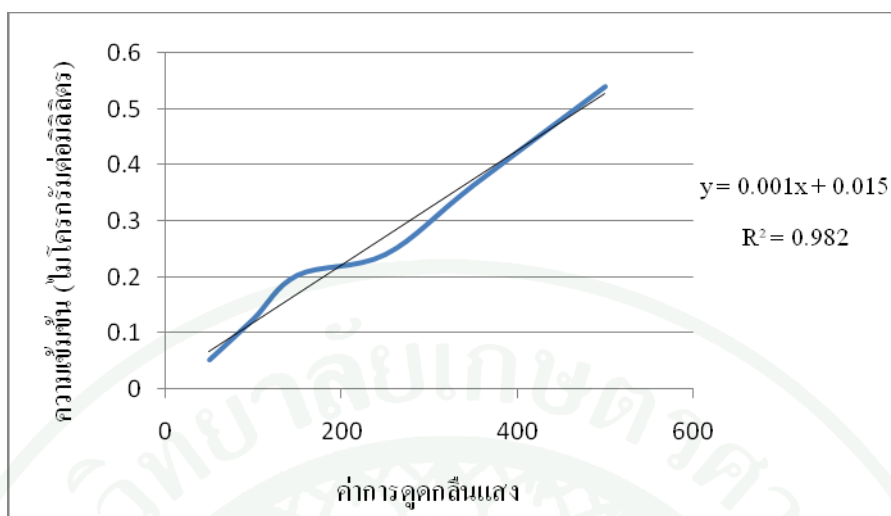
3. การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลาย 1.0 เปอร์เซ็นต์ BSA ปริมาตรต่าง ๆ กัน เติมน้ำจนได้ปริมาตรของสารละลายโปรตีนเป็น 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 570 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาเขียนกราฟกับปริมาณโปรตีนทั้งหมด ได้กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

ชั่งสารตัวอย่าง 10 กรัม ปรับให้เป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น คูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 570 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงนำไปอ่านปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณค่าจากสูตร

$$\text{DH (\%)} = \frac{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด} - \text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดที่ผ่านการย่อยสลาย}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีนของเลือดสด}} \times 100$$



ภาพผนวกที่2 กราฟมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) เปอร์เซ็นต์
โดยวิธี Biuret reaction

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Ninhydrin assay

วิธีการ

1.การเตรียมสารละลาย cd-ninhydrin

ละลาย ninhydrin 4 กรัม ใน 99.5 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 400 มิลลิลิตร จากนั้นเติม acetic acid 400 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย cd Cl (CdCl₂ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

2.นำสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Cd-ninhydrin

1 มิลลิลิตร

3. บ่มที่อุณหภูมิ 84 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

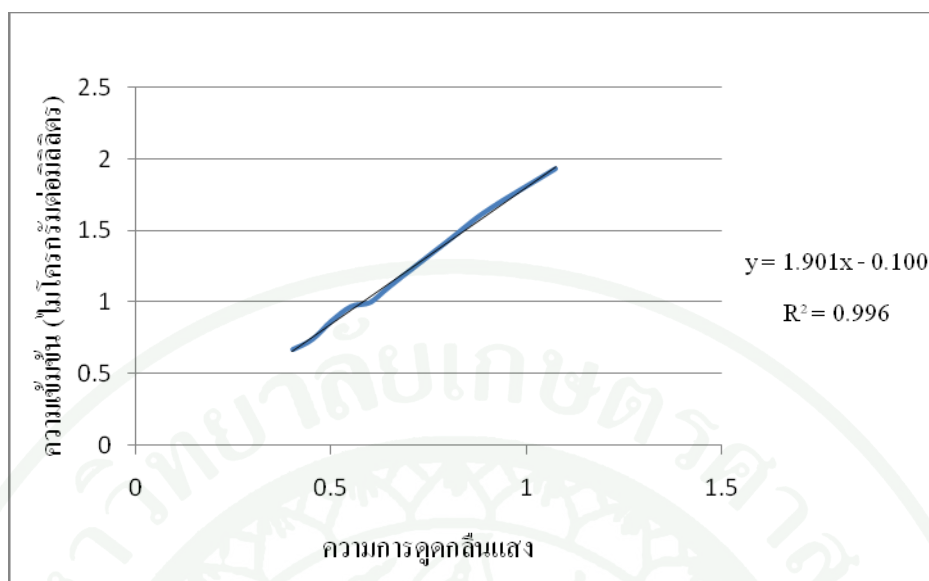
4.ทำให้เย็นทันทีด้วยน้ำแข็ง

5.วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 507 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

6.ใช้ 0.5 มิลลิลิตร Acetic acid pH 5.3 มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Cd-ninhydrin

1 มิลลิลิตร เป็นสารละลายเปล่า

ค่าการดูดกลืนแสงนำไปคำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของไกลซีน



ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานไกลูตามีน 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Ninhydrin assay

การวิเคราะห์อัตราส่วนการสังเคราะห์ อาร์เอ็นเอ ต่อ โปรตีน

วิธีการ

- 1.เก็บตัวอย่างมาบดให้ละเอียด ชั่ง 50-100 กรัม เติม TRIzol reagent 1 มิลลิลิตร
- 2.นำไปเข้าเครื่อง Sofnicator จนสารละลายผสมเข้ากันดี บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เติม Chloroform 0.2 มิลลิลิตร
- 3.นำไป centrifuge 5000 รอบ นาน 10 นาที จากนั้นจะได้สารละลายแยกออกเป็น 3 ส่วน
- 4.ส่วนบนสุดเป็นชั้นของ อาร์เอ็นเอ คูมา 200 μ l และส่วนล่างสุดเป็นโปรตีนคูมา 50 ไมโครลิตร

ส่วนที่ 1 อาร์เอ็นเอ

- 1.1 เติม Isopropanol 1 มิลลิลิตร
- 1.2 นำไป Centifuge 9000 รอบ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จะได้ Pellet
- 1.3 เติม 90เปอร์เซ็นต์ ethanol 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้นาน 10 – 20 นาที
- 1.4 เก็บ Pellet แล้วอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
- 1.5 เติม NaAc (pH 5) 1 มิลลิลิตร อบต่ออีก 10 นาที
- 1.6 เติม NaAc 1:10 (อาร์เอ็นเอ : NaAc) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น A 260 นาโนเมตร

ส่วนที่ 2 โปรตีน

- 1.1 เติม isopropanol 1 มิลลิลิตร
- 1.2 นำไป centrifuge 9000 รอบ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จะได้ Pellet
- 1.3 เติม 90 เปอร์เซ็นต์ ethanol 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้นาน 10 – 20 นาที
- 1.4 นำไป centrifuge 9000 รอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- 1.5 ล้างด้วย ethanoll ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10-20 นาที
- 1.6 นำไป centrifuge 9000 รอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- 1.7 เก็บ Pellet แล้วอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที
- 1.8 เติม 1เปอร์เซ็นต์ SDS 1 มิลลิลิตร อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 100 นาที
- 1.9 เติม SPS 1:3 (protein : SDS)
- 1.10 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ A 280 นาโนเมตร

การคำนวณ $\mu\text{g RNA} / \text{mg hepatopencreas} = \frac{0.72 \times 40 \times 100 \times \text{ABS}(260)}{\text{น้ำหนัก hepatopencreas}(\text{mg})}$

$\text{mg Protein} / \text{mg hepatopencreas} = \frac{0.48 \times 2.1 \times 3 \times \text{ABS}(280)}{\text{น้ำหนัก hepatopencreas}(\text{mg})}$

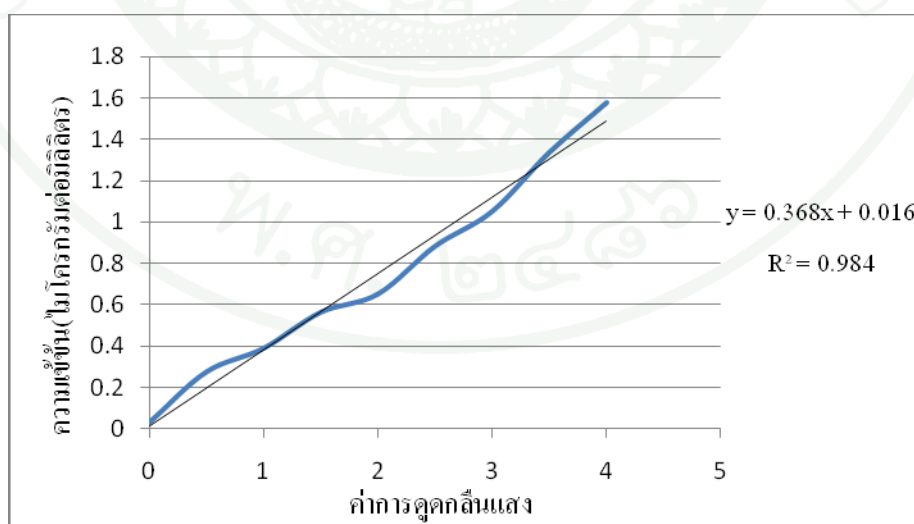


การวิเคราะห์โกลโคเจน

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักhepatopancreas 0.3 กรัม
2. เติม TCA 5เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร
3. ปั่นเวียงที่ความเร็ว 3000 rpm นาน 5 นาที
4. ดูดส่วนใสมา 100-200 ไมโครลิตร
5. เติม TCA 5 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร
6. เติม เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 5 มิลลิลิตร
7. บ่มที่อุณหภูมิ 37-40 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
8. ปั่นเวียงที่ความเร็ว 3000 rpm นาน 5 นาที
9. ดูดส่วนใสทิ้ง เพื่อเก็บตะกอน
10. ละลายตะกอน ในน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร
11. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร
12. เติม ฟีนอล 5เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร
13. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ A 490 นาโนเมตร

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน กลูโครส 1 เปอร์เซ็นต์



ภาพผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐาน กลูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีวิเคราะห์โกลโคเจน

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในทางเดินอาหาร

การนับจำนวนแบคทีเรียเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้หาปริมาณแบคทีเรียที่มีอยู่ในตัวอย่าง (specimen) เช่น ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ในบ่อเลี้ยงปลา ในตัวสัตว์น้ำ หรือในสารละลายแบคทีเรีย (suspension) ว่ามีปริมาณมากน้อยเพียงใด การนับวิธีนี้ยึดหลักที่ว่าแบคทีเรียหนึ่งเซลล์ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารในจานเลี้ยงเชื้อจะเจริญเป็นหนึ่งโคโลนี จำนวนโคโลนีที่พอเหมาะจากการนับในจานเลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วง 30 ถึง 300 โคโลนี จึงต้องทำการเจือจาง (serial dilution) ก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยง มีการเจือจางที่นิยมทำกันโดยทั่วไป คือการเจือจางความเข้มข้นครั้งละ 10 เท่า (serial tenfold dilution)

การนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี Spread plate

วิธีการ

1. ผ่าลำไส้กึ่งก้ามกราม ชั่งน้ำหนักลำไส้
2. นำลำไส้มาบดให้ละเอียด
3. นำตัวอย่างมาเจือจางความเข้มข้นลงครั้งละ 10 เท่า โดยใช้น้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ใน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ใน 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่าง ต่อ 9 มิลลิลิตร ของน้ำเกลือ และทำการเจือจางครั้งละ 10 เท่า จนกระทั่ง ได้ความเจือจางที่ต้องการ (เลือก 3 dilution)
4. คูด suspension จาก tube ที่ได้เลือกไว้ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร หยดตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ (บนผิวอาหารควรจะมีแสงสนิท) ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมจุ่มแอลกอฮอล์ เผาไฟทิ้งไว้ให้เย็น ป้ายไปมาให้ทั่วตลอดเนื้อที่บน plate แล้ว นำไปบ่มที่ incubator ที่อุณหภูมิ ประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แต่ละ dilution ทำซ้ำ
5. นับจำนวนโคโลนีโดยเลือกจานเลี้ยง ที่มีจำนวนแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี และคำนวณหาจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อหนึ่งมิลลิลิตร (1 โคโลนีเท่ากับแบคทีเรีย 1 เซลล์)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อนามสกุล	นางสาวณฤทัย วันชูเพลลา
เกิดวันที่	8 กันยายน 2525
สถานที่เกิด	อำเภอภูผินารายณ์ จังหวัดกาฬสินธุ์
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์การประมง) มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-