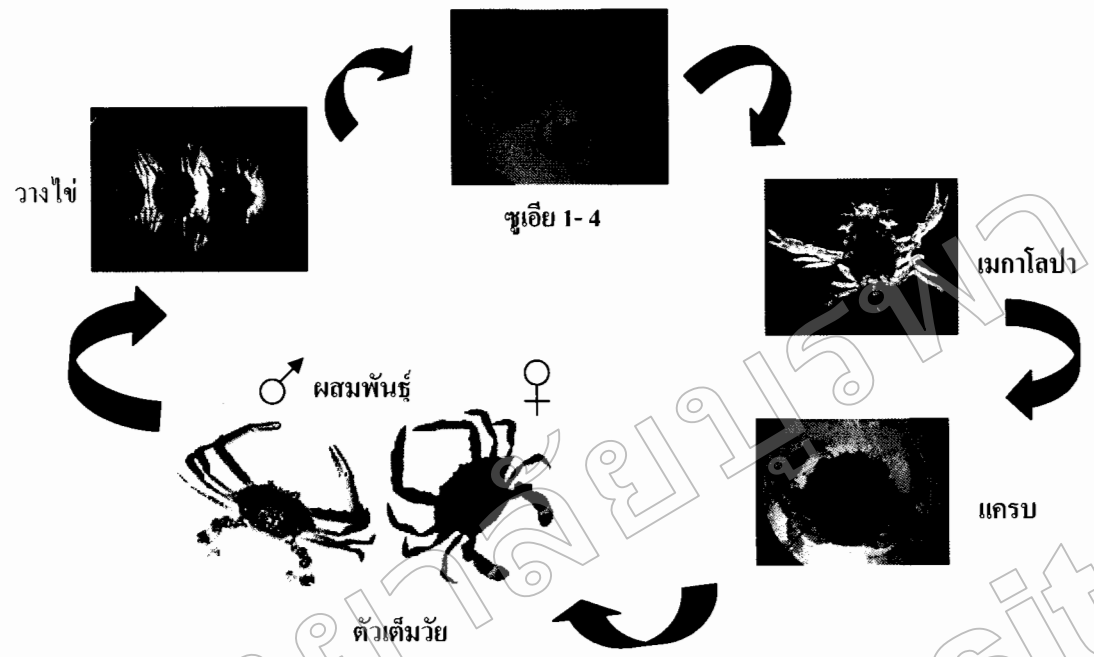
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ชีววิทยาของปูม้า

ปูม้า (*Portunus pelagicus*) เป็นปูที่อยู่ในครอบครัว Portunidae มีลักษณะเด่นคือมีการพัฒนาปล้องสุดท้าย (Dactylus) ของขาเดินคู่ที่ 5 ให้มีลักษณะกลมแบนคล้ายใบพายสำหรับใช้ในการว่ายน้ำ โดยปกติปูม้าเพศผู้จะมีลำตัว และขาเดินทั้ง 5 คู่เป็นสีฟ้าซึ่งสอดคล้องกับชื่อสามัญว่า Blue swimming crab (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545) ปูม้าพบแพร่กระจายอยู่ตามชายฝั่งและพื้นทะเลเขตอินโดแปซิฟิก สำหรับประเทศไทยพบปูม้าแพร่กระจายทั่วไปตั้งแต่ปากแม่น้ำชายฝั่งทะเลทั่วทั้งอ่าวไทยและอันดามัน พฤติกรรมการกินอาหารของปูม้ามีหลายรูปแบบได้แก่ การกินพืช และสัตว์ (Omnivorous) กินซากสิ่งมีชีวิต (Scavenger) และกินพวกเดียวกันเอง (Cannibalism) ปูม้าจะวางไข่ในบริเวณพื้นท้องทะเลที่เป็นโคลน ทราย และโคลนปนทราย บริเวณที่วางไข่จะมีความเค็มสูงประมาณ 28-32 ppt และอุณหภูมิต่ำกว่าถิ่นอาศัยปกติ ปูม้าสามารถวางไข่ได้ตลอดทั้งปี ซึ่งจะมีไข่นอกกระดองสูงที่สุด 2 ช่วงในรอบปีคือระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม และระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคม และช่วงที่ปูม้ามีความดกไข่สูงสุดคือช่วงเดือนพฤศจิกายนและเดือนธันวาคม (สุเมธ ตันติกุล, 2527) ปูม้าเพศเมียขนาดเล็กที่สุดที่สามารถทำการผสมพันธุ์และวางไข่ได้จะมีความกว้างกระดองด้านนอกเฉลี่ย 9.5 cm ส่วนเพศผู้จะมีขนาดความกว้างกระดองด้านนอกเฉลี่ย 6.8 cm (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545) เมื่อปูม้าฟักออกจากไข่แล้วจะมีการพัฒนาต่ออีก 6 ระยะโดยเริ่มพัฒนาจากระยะซูเอีย 1 ถึงซูเอีย 4 ใช้ระยะเวลาประมาณ 10-14 วัน จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะเมกาโลปาซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 2-6 วัน แล้วพัฒนาต่อเป็นลูกปูวัยอ่อนระยะแครบ ซึ่งมีรูปร่างเหมือนปูตัวเต็มวัยรวมระยะเวลาประมาณ 12-20 วันและจะว่ายน้ำสลับกับลงเดินเข้าใกล้ชายฝั่งเพื่อหาอาหาร (กรุณา สัตยมาศ, 2532) ดังภาพที่ 2-1

1.1 เพศของปูม้า ปูม้าสามารถจำแนกเพศได้ด้วยวิธีเบื้องต้นคือการสังเกตตับปิ้ง (Abdomen) โดยปูม้าเพศผู้จะมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมหน้าจั่วเล็กเรียว (V-shape) ในขณะที่ปูม้าเพศเมียจะมีตับปิ้งเป็นสามเหลี่ยมหน้าจั่วขนาดใหญ่ และมน (U-shape) (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545) นอกจากนี้อาจจำแนกได้จากสีของกระดอง ก้าม และขาเดินของปูม้าซึ่งจะแตกต่างกันโดยปูม้าเพศผู้จะมีสีฟ้าอ่อนสลับจุดสีขาว ส่วนเพศเมียมีสีน้ำตาลอ่อนสลับจุดขาวแต่ไม่ชัดเจนเหมือนเพศผู้ (สุเมธ ตันติกุล, 2527; Barnes, 1987) เมื่อจะจำแนกเพศตามลักษณะโครงสร้างของระบบสืบพันธุ์สามารถพิจารณาได้ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-1 วงจรชีวิตของปูม้า (*Portunus pelagicus*) (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545)

1.1.1 เพศผู้ จะประกอบไปด้วยอัณฑะ 1 คู่ อยู่ภายในกระดองค่อนไปทางด้านหน้า ต่อจากนั้นจะมีท่อนำน้ำเชื้ออสุจิ (Vas deferens) 1 คู่ ทำหน้าที่ในการนำน้ำเชื้อส่งต่อไปยังท่อฉีดน้ำเชื้ออสุจิ (Ejaculatory duct) ซึ่งเป็นท่อที่ต่อออกมานอกกระดองบริเวณระหว่างตับปิ้งกับลำตัว จากนั้นจะเป็นอวัยวะเพศผู้ ซึ่งอยู่ใต้ตับปิ้ง

1.1.2 เพศเมีย ประกอบไปด้วยรังไข่และถุงเก็บน้ำเชื้ออสุจิ (Sperm sac) ซึ่งอยู่บริเวณภายนอกของส่วนอก โดยมีรูสำหรับรับน้ำเชื้อจากเพศผู้ และมีรยางค์ที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อไว้สำหรับให้ไข่ที่ผสมแล้วเกาะติดอยู่ (สุเมธ ตันติกุล, 2527)

1.2 ระยะพัฒนาการของไข่นอกกระดอง แม่ปูม้าความกว้างกระดองเฉลี่ย 14-17 cm หรือ น้ำหนักตั้งแต่ 80-140 g จะมีความดกไข่เฉลี่ย 300,000-1,900,000 ฟอง สำหรับปูม้าในอ่าวไทยความดกไข่โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 713,000 ฟองต่อตัว โดยแบ่งระยะพัฒนาการของไซโกต (Zygote) ได้ดังนี้ (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545)

1.2.1 ระยะคลีเวจ (Cleavage stage) สีส้ม เส้นผ่านศูนย์กลาง 295 µm

1.2.2 ระยะบลาสตูลา (Blastula stage) สีเหลืองอ่อน เส้นผ่านศูนย์กลาง 310 µm

1.2.3 ระยะแกสตูลา (Gastrula stagc) สีเหลืองแก่ เส้นผ่านศูนย์กลาง 327 µm

1.2.4 ระยะจุดตา และการเกิดสี (Eyespot and pigmentation stage) สีน้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลาง 345 µm

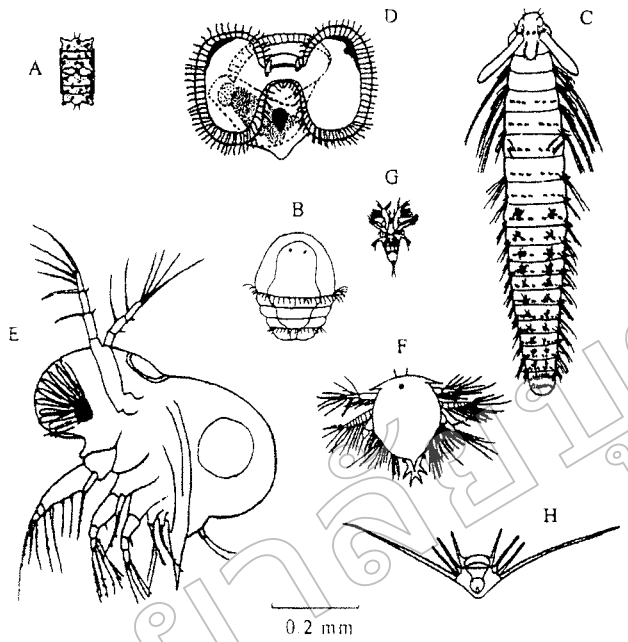
1.2.5 ระยะหัวใจเต้น (Heart breathing stage) เส้นผ่านศูนย์กลาง 360 µm สีเทาดำ

2. การเพาะเลี้ยงปูม้า

ประวัติการเพาะพันธุ์ปูม้าเริ่มตั้งแต่การทดลองเพาะและอนุบาลจนสำเร็จถึงระยะแครบในปี พ.ศ. 2521 (สุเมธ ตันติกุล, 2527) ในปัจจุบันก็ยังพบว่าไม่ก้าวหน้าเท่าที่ควรเนื่องจากอัตราการรอดตายต่ำ สาเหตุหนึ่งอาจมาจากเทคนิคที่ใช้ และนิสัยการกินกันเองที่สูงในระยะเมกาโลปา และระยะแครบ แม้ว่าจะมีการปรับสภาพความเค็มน้ำ หรือให้วัสดุหลบซ่อนชนิดต่าง ๆ แล้วก็ตาม (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และสุริยัน ธัญกิจจานุกิจ, 2548) ในปัจจุบันมีการเพาะฟักลูกปูม้าหลายวิธีด้วยกันซึ่งส่วนมากจะเป็นการเลือกใช้แม่ปูม้าที่มีไข่แก่นอกกระดองซึ่งหาได้จากท้องตลาด หรือจากตับปิ้งที่มีไข่จากโรงงานปูกระป๋องเนื่องจากไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2545) สำหรับระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมในการฟักไข่ปูม้าสีน้ำตาลจากตับปิ้งอยู่ในช่วง 27-35 ppt (วารินทร์ ธนาสมหวัง และภมรพรรณ ฉัตรภูมิ, 2548) ในขณะที่ระดับความเค็มน้ำที่เหมาะสมกับการอนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอีย 1 ถึงซูเอีย 4 คือ 24-27 ppt และพบว่าระดับความเค็มน้ำดังกล่าวทำให้ลูกปูม้ามีการเจริญเติบโตสูงกว่าลูกปูม้าที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 30 ppt (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และสุริยัน ธัญกิจจานุกิจ, 2548) ส่วนอาหารเพื่ออนุบาล และเลี้ยงลูกปูม้าส่วนใหญ่ยังคงยึดถือรูปแบบ และวิธีการเลี้ยงกุ้งทะเลเป็นส่วนใหญ่ โดยมีการศึกษาทดลองปรับเปลี่ยนชนิดของอาหารเพื่อเปรียบเทียบปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตที่ได้ แต่พื้นฐานที่สำคัญซึ่งไม่ควรมองข้ามคือการศึกษาความสัมพันธ์ในระบบนิเวศที่ปูอาศัยอยู่จริง หรือทำการเก็บตัวอย่างปูจากธรรมชาติเพื่อศึกษาองค์ประกอบอาหารจากกระเพาะอาหาร (Stomach content) เช่นตัวอย่างการศึกษาชนิดอาหารของครัสเตเชียนวัยอ่อนในธรรมชาติ (ภาพที่ 2-2)

ชลธี ชีวเศรษฐธรรม (2539) พบว่าลูกปูทะเล (*Scylla serrata*) ระยะซูเอีย 1 ที่อนุบาลด้วย *Skeletonema costatum* และ *Isochrysis galbana* ความหนาแน่นประมาณ 0.5-0.8 X 10^6 cell/mL ร่วมกับโรติเฟอร์ (*Brachionus plicatilis*) อัตรา 5 ตัว/mL จะมีอัตราการรอดตายดีกว่าการอนุบาลด้วย *Nannochloropsis oculata* อัตรา 0.5-1 X 10^6 cell/mL ร่วมกับโรติเฟอร์ 5 ตัว/mL นอกจากนี้ยังมีการใช้สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* sp.) เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมร่วมด้วย เมื่อลูกปูได้พัฒนาเข้าสู่ระยะซูเอีย 3-4 จึงปลี่ยนเป็นตัวอ่อนไรน้ำเค็ม (*Artemia* sp.) อายุ 1 วันที่อัตรา 5-30 ตัว/L และให้หอยร่วมกับกุ้งสับ เมื่อปูเข้าสู่ระยะเมกาโลปาโดยให้วันละ 5-6 ครั้งวิธีนี้จะสามารถผลิตลูกปูระยะแครบที่มีอัตรารอดตาย 10-26 % ส่วน Nogami and Maeda (1998) พบว่าการอนุบาลลูกปูม้า *Portunus trituberculatus* ด้วยไดอะตอม 1 X 10^6 cell/mL ร่วมกับโรติเฟอร์ 5,000 ตัว/L ต่อจำนวนลูกปู 28,000 ตัว /m^3 พบว่าลูกปูมีอัตราการรอดตายสูงสุด จากผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่านอกจากชนิดของแพลงก์ตอนสัตว์แล้วแพลงก์ตอนพืชก็มีความสำคัญเช่นกันแม้จะเป็นเพียงอาหารของลูกปูทางอ้อม (วารินทร์ ธนาสมหวัง, สุพิศ ทองรอด และลิลา เรืองแป้น, 2548)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-2 อาหารของครัสเตเชียน (Crustacean) วัยอ่อนในธรรมชาติ

A = ไดอะตอม (*Biddulphia* sp.)

B = ตัวอ่อนโพลีคีตระยะแรก (Early polychaete larva)

C = ตัวอ่อนโพลีคีตระยะสุดท้าย (Late polychaete larva)

D = ตัวอ่อนมอลลัส (Mollusk larva)

E= ไรแดง (*Podon* sp.)

F= ตัวอ่อนเพรียง (*Balanoid nauplius*)

G= ตัวอ่อนโคพีพอด (*Calanoid metanauplius*)

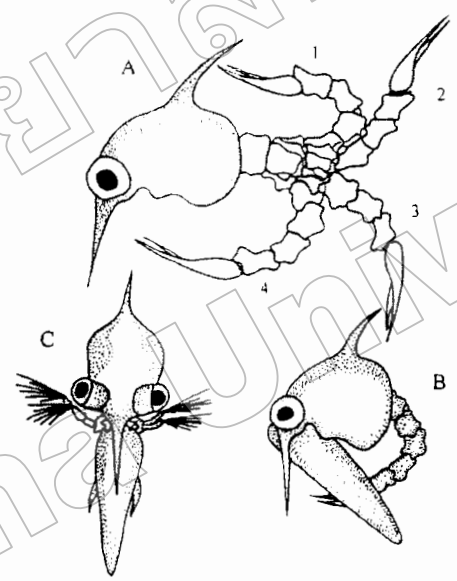
H= ตัวอ่อนเอคไคโนเดิร์ม (*Ophiuroid pluteus*) (Anger, 2001)

บุญรัตน์ ประทุมชาติ และสุริยัน ธัญกิจจานุกิจ (2548) พบว่าการอนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอียโดยใช้โรติเฟอร์กับอาร์ทีเมียวัยอ่อนมีอัตราการรอดตายสูงสุด ซึ่งสูงกว่าการอนุบาลด้วยโรติเฟอร์ร่วมกับอาร์ทีเมียเฟลกที่ไม่แตกต่างกับโรติเฟอร์ร่วมกับไรแดง (*Moina macrocopa*) ในขณะที่วารินทร์ ธนาสมหวัง ภมรพรรณ ฉัตรภูมิ และศิริภรณ์ โคตะมี (2549) อนุบาลลูกปูม้าระยะซูเอียด้วยคีโตเซอรอส และโรติเฟอร์ 2 วัน ก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียวัยอ่อนพบว่ามีอัตราการรอดตาย และอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดที่ให้ คีโตเซอรอส และโรติเฟอร์ 4 หรือ 6 วันก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียวัยอ่อน นอกจากนี้ได้มีการศึกษายืนยันผลการทดลองโดยอนุบาลลูกปูซึ่งกลุ่มแรกให้คีโตเซอรอส และโรติเฟอร์ 1 วันก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียวัยอ่อนและกลุ่มที่ 2 ให้คีโตเซอรอส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

และโรติเฟอร์ 1 วันก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียวัยอ่อนพบว่ามีอัตรารอดตาย และขนาดที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดที่ให้คีโตเซอรอส และโรติเฟอร์ 3 หรือ 5 วันก่อนให้ร่วมกับอาร์ทีเมียวัยอ่อน

ประเด็นดังกล่าวนับว่ามีความสำคัญหากจะทำการคัดเลือก หรือผลิตอาหารสำเร็จรูปในการอนุบาลลูกปูจำเป็นต้องคำนึงถึงขนาด รูปร่าง และกลิ่นที่เหมาะสมอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่มีอิทธิพลเกี่ยวข้องคือพฤติกรรมการเคลื่อนไหว และรูปแบบการกินอาหารของลูกปูโดยส่วนใหญ่แล้วลูกปูวัยอ่อนจะกินแพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหาร โดยอาศัยการรับสัมผัสจากกลไกการเคลื่อนไหว และกลไกทางเคมีของอาหาร ซึ่งใช้การรับสัมผัสทางตาน้อยมาก ดังนั้นการกินอาหารของลูกปูวัยอ่อนจะมีการเคลื่อนไหวที่เหมาะสม และสัมพันธ์กับการกินของตัวเอง เมื่อประสาทสัมผัสรับความรู้สึกได้จึงสามารถจับเหยื่อกินเป็นอาหารได้ดังภาพที่ 2-3



ภาพที่ 2-3 การเคลื่อนที่ และลักษณะการกินอาหารของลูกปู *Uca pugilator* ระยะซูเอีย

A = การเคลื่อนที่ของ Pleonal จาก1ถึง4

B และ C = ลักษณะการจับ และการกินอาหาร

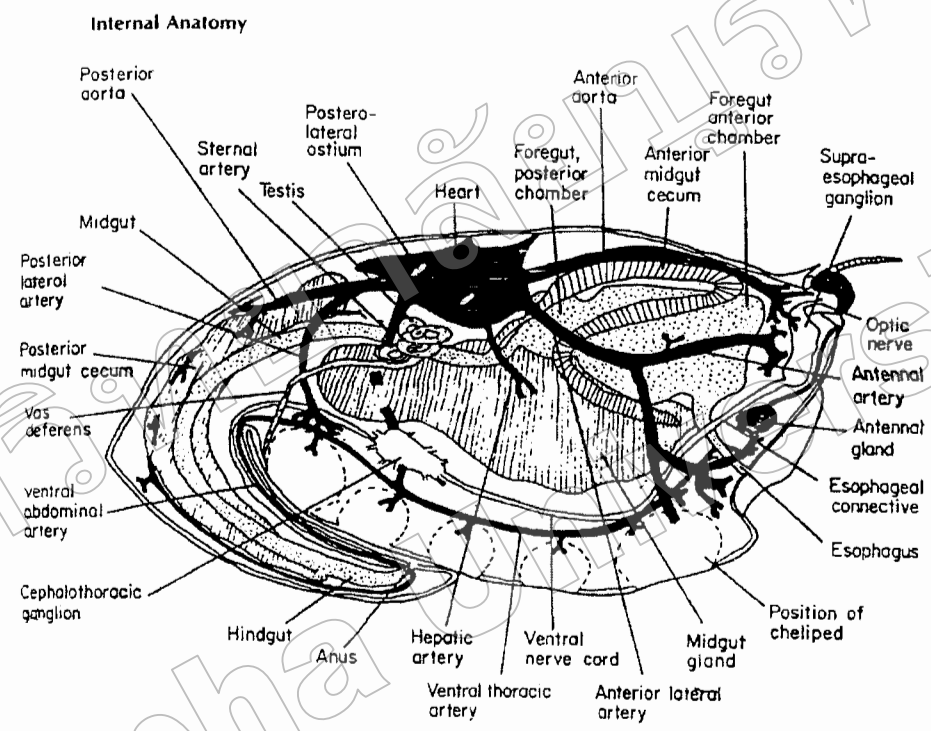
(Anger, 2001)

3. ระบบการย่อยอาหาร ของครัสเตเชียน

ระบบการย่อยอาหารของครัสเตเชียนแบ่งออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ ๆ คือ กระเพาะอาหารส่วนต้นและส่วนกลางที่พัฒนามาจาก Embryonic endoderm กระเพาะอาหารส่วนท้ายซึ่งพัฒนามาจาก Embryonic ectoderm การเคลื่อนที่ของอาหารจะเริ่มจากปากแล้วผ่านเข้าสู่กระเพาะอาหารส่วนต้น ซึ่งเปรียบเสมือนคอหอย (Pharynx) โดยจะทำหน้าที่ย่อยอาหารที่มีขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

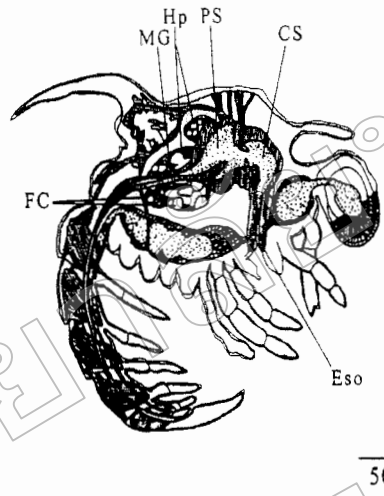
ด้วย Gastric mill และมีการผลิตสารเมือกหล่อลื่นเพื่อช่วยคลุกเคล้าอาหาร แล้วเคลื่อนที่เข้าสู่กระเพาะอาหารส่วนกลาง ซึ่งบริเวณนี้จะมีการหลั่งเอนไซม์ย่อยอาหารหลายชนิด นอกจากนั้นจะมีการดูดซึมแร่ธาตุสารอาหาร รวมถึงกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) สารอินทรีย์ (Mc Laughlin, 1983) หลังจากที่อาหารผ่านการย่อยแล้วจะถูกส่งต่อมาถึงกระเพาะอาหารส่วนท้าย ซึ่งจะดูดซึมสารอาหารและทำหน้าที่ดูดกลับน้ำหรือแร่ธาตุ (ภาพที่ 2-4)



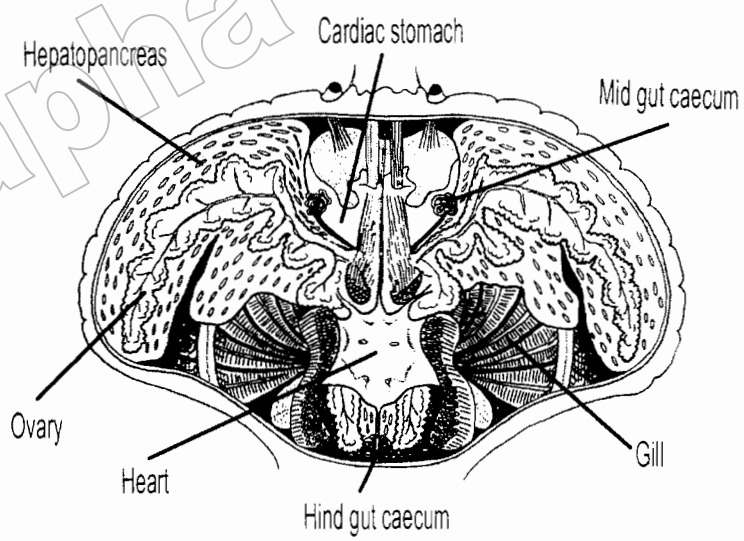
ภาพที่ 2-4 ตำแหน่งระบบทางเดินอาหารของปูในครอบครัว Portunidae (McLaughlin, 1983)

Lovett and Felder (1990) พบว่ากระเพาะอาหารของกุ้ง *L. setiferus* ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ใน 4 -5 สัปดาห์แรก แต่ภายหลังที่มีระยะพัฒนาการสูงขึ้น กระเพาะอาหารส่วนกลางจึงเริ่มมีการทำงานเต็มประสิทธิภาพรวมถึงปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มมากขึ้น อาจกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับอายุ และระยะพัฒนาการของครัสเตเชียน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hallberg and Hirche (1980) ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกระเพาะอาหารส่วนกลาง และกิจกรรมของเอนไซม์ภายใน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระยะพัฒนาการ เพศ และฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้การศึกษากระเพาะอาหารส่วนกลางของปู *Cancer magister* ที่พบว่ามีการหลั่งของเหลวที่มีสภาพสมดุลกับน้ำและแร่ธาตุภายในร่างกาย (Iso-osmotic) ซึ่งมีส่วนช่วยให้การทำงานของเอนไซม์เป็นปกติ (Holliday, Mykles, Terwilliger. & Dangott, 1980) จากการศึกษากระเพาะ

อาหารส่วนกลางของครัสเตเชียนพบต่อมที่มีการหลั่ง และสังเคราะห์เอนไซม์ย่อยอาหารซึ่งอวัยวะส่วนนี้ไม่ได้ทำหน้าที่แยกกันเหมือนกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีตับ และตับอ่อนจึงทำให้ มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าเฮปพาโตแพนเครียส (Hepatopancreas) (Van Weel, 1974; Phillips, Mckiney, Hird, & Mcmillan, 1977) (ภาพที่ 2-5 และภาพที่ 2-6)



ภาพที่ 2-5 ตำแหน่งเฮปพาโตแพนเครียสของปู Yellow rock crab (*Cancer anthonyi*) ระยะซูเอีย
CS= Cardiac stomach; Eso= Esophagus; FC= Ferment cells of hepatopancreas
Hp= Hepatopancreas; MG= Mid gut; PS= Pyloric stomach (Anger, 2001)



ภาพที่ 2-6 ตำแหน่งเฮปพาโตแพนเครียสของปู *Cancer pagurus* (Warner, 1977)

โดยทั่วไปแล้วเฮปพาโตแพนเครียสจะมีน้ำหนักประมาณ 2-6 % เทียบกับน้ำหนักตัวของครัสเตเชียน และมีสีแตกต่างกันเช่น สีน้ำตาล แดง เขียว เหลือง และสีแทน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชนิดของรงควัตถุที่สะสมอยู่ภายในเช่น เบต้าแครอทีน (β-carotene) ซีแซนทีน (Zeaxanthin) และแอสต้าแซนทีน (Astaxanthin) เป็นต้น (Leavitt & Bayer, 1982) นอกจากนี้เฮปพาโตแพนเครียสมีบทบาทในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต และไขมันรวมถึงหลั่งสารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ที่ช่วยในการย่อยอาหาร (Gibson & Barker, 1979)

4. เอนไซม์ย่อยอาหารของครัสเตเชียน

ชนิดอาหารของครัสเตเชียนระยะวัยอ่อน และตัวเต็มวัยส่วนใหญ่เป็นกลุ่มคาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่อาหารเหล่านั้นจะต้องถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเนสก่อนการนำสารอาหารดังกล่าวไปใช้ในการเจริญเติบโต และการดำรงชีวิตต่อไปซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดมีสมบัติดังนี้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

4.1 อะไมเลส (Amylase)

อะไมเลสเป็นเอนไซม์ย่อยสลายพันธะ α-D-1, 4-glucosidic ในสายพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ของอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเช่น แป้งซึ่งประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิดคือ อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) และจะถูกย่อยได้เป็นโอลิโกแซกคาไรด์ (Oligosaccharide) และไดแซกคาไรด์ (Disaccharide) หรือมอลโทส (Maltose) อะไมเลสมีน้ำหนักโมเลกุล 50 kDa ทำงานได้ดีเมื่อมี pH ในช่วง 6.5-8.0 ถูกกระตุ้นปฏิกิริยาโดยคลอไรด์ โบรไมด์ และฟลูออไรด์ไอออน ในขณะที่ตะกั่ว แคดเมียม และปรอทจะเป็นตัวยับยั้งปฏิกริยา โดยอะไมเลสสามารถแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ

4.1.1 เอนโดอะไมเลส (Endoamylase) มีอยู่ชนิดเดียวคือแอลฟาอะไมเลส (α-amylase: EC 3.2.1.1, 1, 4-α-D-glucan glucanohydrolase) เป็นอะไมเลสที่สามารถย่อยสลายพันธะ α-D-1, 4-glucosidic แบบสุ่มบริเวณกลาง ๆ หรือส่วนในของโมเลกุลพอลิแซกคาไรด์ เช่น ย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลมอลโทส

4.1.2 เอกโซอะไมเลส (Exoamylase) แบ่งออกเป็น 2 ชนิดได้แก่

4.1.2.1 เบต้าอะไมเลส (β-amylase: EC 3.2.1.2, 1, 4-α-D-glucan maltohydrolase) พบในพืชบางชนิดเช่น เบอร์รี่ มันฝรั่งหวาน และมอลท์ อะไมเลสชนิดนี้สามารถย่อยสลายพันธะ α–D-1, 4-glucosidic ในโมเลกุลของพอลิแซกคาไรด์โดยตัดมอลโทสออกครั้งละ 1 โมเลกุลจากปลายด้าน Non-reducing

4.1.2.2 แกมมาอะไมเลส (γ-amylase: EC 3.2.1.3, 1, 4-α-D-glucohydrolase) พบได้ในแบคทีเรียสามารถย่อยสลายพันธะ α- D-1, 4-glucosidic ได้ทุกตำแหน่งในโมเลกุลของพอลิแซกคาไรด์ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือน้ำตาลกลูโคส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.2 โปรติเนส (Proteinase)

โปรติเนสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญชนิดหนึ่งในระบบการย่อยอาหารประเภทโปรตีนเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการควบคุมการแข็งตัวของเลือด ควบคุมการกำจัดเชื้อโรคโดยการสลายโปรตีนจากภายนอก โปรติเนสมีชื่อสามัญหลายชื่อได้แก่ เปปติเดส (Peptidase) โปรติเอส (Protease) เปปไทด์ไฮโดรเลส (Peptidehydrolase) และเอนไซม์โปรติโอไลติก (Proteolytic enzyme) เอนไซม์โปรติเนสมีลักษณะปฏิกิริยาที่สำคัญคือ การสลายพันธะเพปไทด์ (-C-NH-) ด้วยน้ำแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามตำแหน่งการตัดสายพอลิเพปไทด์ดังนี้

4.2.1 เอกโซเพปทิเดส (Exopeptidase) ย่อยสลายสายพอลิเพปไทด์จากด้านปลายเช่น คาร์บอกซิเพปทิเดส (Carboxypeptidase, EC 3.4.2.X) อะมิโนเพปทิเดส (Aminopeptidase, EC 3.4.1.X) ไดเพปทิเดส (Dipeptidase, EC 3.4.3.X) และไตรเพปทิเดส (Tripeptidase, EC 3.4.4.X)

4.2.2 เอนโดเพปทิเดส (Endopeptidase) ย่อยสลายสายพอลิเพปไทด์จากการตัดพันธะเพปไทด์จากด้านในของสายพอลิเพปไทด์ และยังสามารถแบ่งออกเป็นชนิดต่าง ๆ ตามชนิดของกรดอะมิโนสำคัญในบริเวณ Active site ดังนี้

4.2.2.1 โปรติเนสเซอรีน (Serine Proteinase) หรืออัลคาไลโปรติเนส (Alkali proteinase) เช่น ตระกูลไคโมทริปซิน (Chymotrypsin family) ไคโมทริปซินบี (EC. 3.4.21.1) ไคโมทริปซินซี (EC. 3.4.21.2) ทริปซิน (EC.3.4.21.4) อิลาสเทส (Elastase, EC. 3.4.21.36) ทรอมบิน (Thrombin, EC. 3.4.21.5) ซับทิไลซิน (Subtilisin A, EC. 3.4.21.14) และแอลฟาไลทิกโปรติเนส (α-Lytic proteinase ที่ผลิตจาก *Sorangium* sp.) เอนไซม์กลุ่มนี้จะถูกยับยั้งโดย DPF (Diisopropyl-phospho-fluoridate) และจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) ของอนุมูลเซริล (Seryl residue) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ มีสภาวะ pH ที่เหมาะสมในช่วง 7-10 และจะมีความจำเพาะต่อสับสเตรต (Substrate) ที่อนุมูลกรดอะมิโนเป็น R_1 (ตารางที่ 2-1)

ตารางที่ 2-1 ความจำเพาะต่อหมู่อะมิโนในสับสเตรตสำหรับเอนไซม์โปรติเนสเซอรีน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

เอนไซม์	ความจำเพาะต่อหมู่กรดอะมิโนในสับสเตรต
ไคโมทริปซิน	ไทโรซีน (Tyrosine) ฟีนิลอะลานิล (Phenylalanine) และทริปโตแฟน (Tryptophan)
ทริปซิน	ไลซีน (Lysine) และอาร์จีนีน (Arginine)
อิลาสเทส	ฟีนิลอะลานิล(Phenylalanine) ลิวซีน (Leusine) และไอโซลิวซีน(Isoleusine)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4.2.2.2 โปรติเนสซัลไฟดริล (Sulfhydryl proteinase) หรือโปรติเนสไทออล (Thiol proteinase) หรือโปรติเนสซิสเตอีน (Cysteine proteinase) เช่นปาเปน (Papane, EC 3.4.22.2) ไฟซิน (Physin, EC 3.4.22.3) โบรมิเลน (Bromilane, EC 3.4.22.4) เปปติเดสสเตรปโตคอกคัส (Streptococcus peptidase A, EC 3.4.22.10) แสดง pH ที่เหมาะสมในช่วง 6.0-7.5

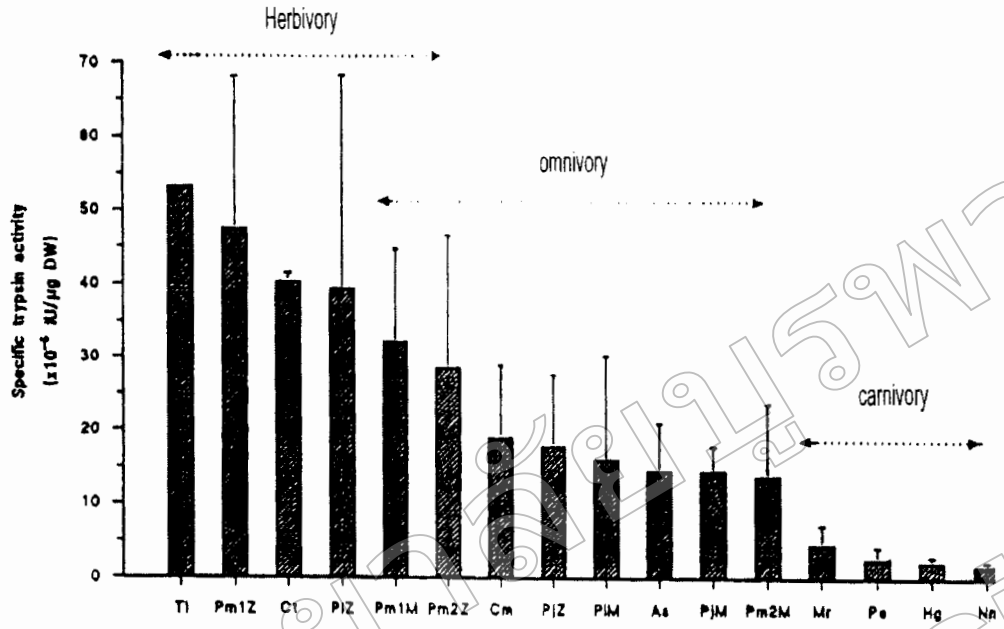
4.2.2.3 เมทัลโลโปรติเนส (Metalloproteinase) เป็นเอนไซม์โปรติเนสที่มีไอออนและโลหะรวมในโมเลกุล หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อยสลาย หรืออยู่ในรูปของโคแฟคเตอร์ (Co factor) เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ Carboxypeptidases, Carboxypeptidases B, Glycyl-glycine, Dipeptidase และ Carmosinase ต้องการไอออนสังกะสีส่วน Cytosol aminopeptidase และ Prolidase ต้องการไอออนแมงกานีส

4.2.2.4 แอสิดโปรติเนส (Acid proteinase) ได้แก่ เปปซิน (Pepsin, EC 3.4.23.1) และเรนนิน (Renin, EC 3.4.23.4) แสดง pH ที่เหมาะสมในช่วง 2-4

5. การศึกษาเอนไซม์ย่อยอาหารของครัสเตเชียน

เอนไซม์ย่อยอาหารของครัสเตเชียนในเชิงปริมาณและคุณภาพจะมีความสัมพันธ์กับระยะพัฒนาการของครัสเตเชียนวัยอ่อน (Van Wormhoudt, Farel, & Guillame, 1989; Galgani & Benyamin, 1985) เช่นในกุ้งกลุ่มพีเนียด (Penaeid) พบว่าเอนไซม์อะไมเลสในระยะวัยอ่อนตอนต้นจะมีความเข้มข้นสูงมาก จากนั้นความเข้มข้นจะต่ำลงเนื่องจากถูกแทนที่ด้วยเอนไซม์โปรติเนสที่ระยะวัยอ่อนตอนกลาง และตอนปลาย เนื่องมาจากการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่ได้รับ เช่น กุ้งขาวแวนนาไม ที่มีสัดส่วนเอนไซม์อะไมเลสต่อทริปซินอยู่ในระดับต่ำที่ระยะซูเอีย 1 จากนั้นจะเริ่มมีสัดส่วนสูงขึ้นจนมีค่าสูงสุดที่ระยะซูเอีย 3 คงที่ไปจนถึงระยะไมซิส 3 (Mysis) และลดลงในระยะโพสลาวา (Post larva) นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเนสของปู *Carcinus maenas* ในช่วงก่อนลอกคราบตอนปลาย (Late Pre molt) จะมีกิจกรรมต่ำ (Ceccadi, 1997) ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ Nucleotide pyrophosphatase ของปู *Callinectes sapidus* จะมีค่าสูงสุดในระยะก่อนการลอกคราบตอนต้น (Early Premolt stage) (Puyear, 1969) ในขณะที่ Vega-Villasante, Nolasco, and Civera (1995) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสค่อนข้างคงที่ในระยะคราบแข็ง (Intermolt stage) ในขณะที่เอนไซม์อะไมเลส และไลเปสมีค่าสูงขึ้นในระยะก่อนการลอกคราบ นอกจากความสัมพันธ์ของกิจกรรมที่เปลี่ยนแปลงตามระยะการลอกคราบแล้วยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับการกินอาหารของครัสเตเชียน (ภาพที่ 2-7)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2-7 กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินในเดคาพอด (Decapod) ระยะวัยอ่อนแบ่งตามชนิดลักษณะการกินอาหาร (Anger, 2001)

Tl= *Temora Longicornis*; Pm= *Penaeus monodon*

Ct= *Centropages typicus*; Pi= *Fenneropenaeus indicus*

Cm= *Carcinus maenas*; Pj= *Marsupenaeus japonicus*

As= *Artemia salina*; Mr= *Marcrobrachium rosenbergii*

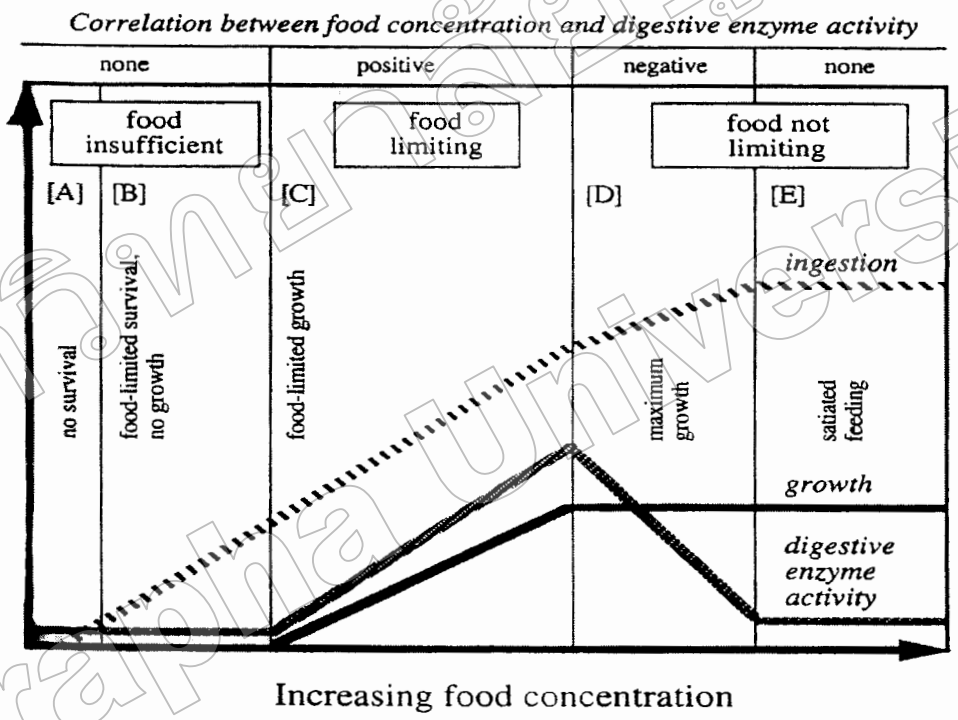
Pe= *Palaemon elegans*; Hg= *Hormarus gammarus*

Nn= *Nephrops norvegicus*

ครัสเตเชียนที่กินเนื้อส่วนใหญ่ จะมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสสูงดังเช่นการศึกษาใน Midgut gland ของกุ้งทะเลหลายชนิด (Le Moullac et al., 1996; Fernandez-Gimenez, Garcia-Carreno, Navarrete del Torro, & Fenucci, 2001) หรือในลอบสเตอร์ (*Homarus americanus*) เป็นต้น (Johnston & Yellowlees, 1998; Johnston, 2003) ในขณะที่ครัสเตเชียนที่เป็นพวกกินซากหรือผู้ย่อยสลาย จะมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสต่ำเช่นในกุ้งเครย์ฟิช (*Cherax quadricarinatus*) เป็นต้น (Figueierdo, Kricker, & Anderson, 2001) นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของอาหารที่ได้รับอีกด้วย (Anger, 2001) (ภาพที่ 2-8) เช่นเอนไซม์โปรติเนส และแอลฟาอะไมเลสของครัสเตเชียนจะมีกิจกรรมสูงขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับของกลูโคส หรือโปรตีนในสูตรอาหาร (Van Wormhoudt et al., 1992) โดยระดับที่เหมาะสมของกลูโคส และโปรตีนคือ 5-10% และ 40-50% ตามลำดับ (Le Moullac, Van Wormhoudt, & AQUACOP, 1994)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอนไซม์ทริปซินเป็นเอนไซม์สำคัญที่มีหน้าที่ย่อยโปรตีนในครัสเตเชียน ซึ่งประกอบด้วยไอโซไซม์ 6 ชนิดมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25 kDa (Galgani, Benyamin, & Van Wormhoudt, 1985) ไคโมทริปซินที่สกัดจากเฮปพาโตแพนเครียสของกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งจัดเป็น Serine protease homologous ชนิดเดียวกับสัตว์มีกระดูกสันหลัง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อมีการเปลี่ยนระดับของโปรตีนในอาหารจะมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินสูงขึ้น คือ เพิ่มระดับของเคซีนจาก 25% เป็น 48% และยังพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินที่ทดสอบกับเนื้อหมึกจะมีค่าสูงมากกว่าการทดสอบกับเจลาติน (Gelatin) (Van wormhoudt et al., 1992)



ภาพที่ 2- 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอาหารกับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารของครัสเตเชียน (Anger, 2001)

Lemos, Ezquerra, and Garcia- Carreno (2000) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในแต่ละระยะพัฒนาการของกุ้ง *L. schmitti* พบว่าช่วงอายุ และระยะพัฒนาการมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ โดยกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินจะมีระดับต่ำที่ระยะไข่ และนอเพลียสระยะที่ 4-5 จากนั้นจะเริ่มมีระดับสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในระยะโปรโตซูเอีย 1-2 และมีค่าสูงที่สุดที่โปรโตซูเอีย 3 จากนั้นกิจกรรม ของเอนไซม์ทริปซินจะมีระดับลดลงในระยะไมซิส และเริ่มคงที่ในระดับต่ำที่ระยะโพสลาวา ซึ่งรูปแบบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในกุ้ง *L.* schmitti นี้จะมีความคล้ายคลึงกับกุ้งในกลุ่มพีเนียด เช่นกุ้ง *Marsupenaeus japonicus*, *L. setiferus*, *P. monodon*, *L. vannamei* และ

F. paulensis (Le Moullac et al., 1996; Lemos et al., 2000)

Cordova-Murueta, Garcia-Carreno, and Navarrete-del-Toro (2003) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซินในกุ้งขาวแวนนาไมคืออุณหภูมิ 37°C และ pH 7.5 ในขณะที่ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารจากเฮปพาโตแพนเครียสของปูทะเล (*S. serrata*) พบว่าที่อุณหภูมิ 50°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเนส อะไมเลส เซลลูเลส และไซลาเนสในขณะที่ pH 7 จะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเนส และอะไมเลส (Pavasovic et al., 2004) สอดคล้องกับ Garcia-Carreno, del Toro, and Ezquerra (1997) พบว่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานเอนไซม์โปรติเนสของกุ้ง *P. japonicus* อยู่ที่ 5.5-9 ส่วนที่ pH 5.5 จะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนส

Zwilling and Neurath (1981) พบว่าเอนไซม์ทริปซินในครัสเตเชียนจะมีกิจกรรมเหมาะสมที่ช่วง pH 7-9 โดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25 kDa และมีการตอบสนองต่อ Soybean trypsin inhibitor, Diisopropyl fluorophosphates และ Tosyl-lysyl-chloromethyl ketone กล่าวคือเอนไซม์ในครัสเตเชียนส่วนใหญ่จะมีกิจกรรมที่สภาวะเหมาะสมกับเป็นกลางจนถึงเบส เนื่องจากครัสเตเชียนจะมี Acidic isoeletric point ในขณะที่ Brockerhoff, Hoyle, and Hwang (1970) ซึ่งศึกษาเอนไซม์โปรติเนส 7 ชนิดในลอบสเตอร์ (*H. americanus*) พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 12.5-50.0 kDa โดยมีเอนไซม์บางชนิดจะมีสภาวะpH ที่เหมาะสมที่ pH 4 และ 8 ซึ่งพบว่าเอนไซม์โปรติเนสในกุ้ง *Astacus* sp. มีน้ำหนักโมเลกุลเพียง 11 kDa

ปริมาณอาหารที่ครัสเตเชียนได้รับมีผลโดยตรงกับความถี่ของการกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโต และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร กล่าวได้ว่าในช่วงที่ครัสเตเชียนได้รับอาหารที่เหมาะสมเพียงพอกับความต้องการจะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่ม และส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นด้วยทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับความถี่ของการกินที่มากขึ้นนั่นเอง จนกระทั่งครัสเตเชียนมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดถึงจุดจุดหนึ่ง กิจกรรมของเอนไซม์ก็จะมีค่าสูงสุดเช่นกัน จากนั้นอัตราการเจริญเติบโตจะคงที่ต่อไปเรื่อย ๆ แม้ว่าจะมีอัตราการกินที่มากขึ้นเพราะปริมาณอาหารที่เพิ่มขึ้นก็ตาม แต่กลับพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเรื่อย ๆ และคงที่เมื่ออัตราการกินคงที่เนื่องจากปริมาณอาหารสูงสุดแล้ว (Anger, 2001) เช่นเดียวกับสภาวะปลาแอตแลนติกแซลมอลที่อดอาหาร หรือมีการเจริญเติบโตลดลงหรือคงที่ พบว่าค่าอัตราส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินต่อไคโมทริปซิน (T/C ratio) มีค่าต่ำจากนั้นจะเริ่มมีค่าสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหาร และมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ในขณะที่ระยะการเจริญเติบโตสูงสุดจนคงที่ ค่า T/C ratio จะลดลง และคงที่เช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) ของจารุนันท์ ประทุมยศ และปิยะวรรณ ศรีวิลาส (2548) ที่พบว่า T/C ratioในปลาอายุ 3 เดือนจะมีค่ามากกว่าปลาการ์ตูนอายุ

5-6 เดือนเนื่องจากปลาการ์ตูนอายุ 3 เดือนมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่าปลาอายุ 5 และ 6 เดือน เพราะปลาหรือสิ่งมีชีวิตทั่วไปจะเริ่มมีอัตราการเจริญเติบโตคงที่หรือลดลงเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์กับระยะการเจริญเติบโตของปลา โดยพบว่าในระยะที่ปลามีการเจริญเติบโตจะมีค่า T/C ratio สูงขึ้นในทางตรงกันข้ามระยะที่ปลาอดอาหารหรือมีการเจริญเติบโตลดลงค่า T/C ratio จะมีค่าต่ำลงด้วย (ตารางที่ 2-2) และสามารถกล่าวได้ว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินจะเป็นดัชนีทางบวก (Positive indicator) ที่แสดงถึงการตอบสนองต่อสภาวะร่างกายที่เหมาะสม และมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ในขณะที่กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไคโมทริปซินจะเป็นดัชนีทางลบ (Negative indicator) ที่ตอบสนองต่อร่างกายที่เผชิญกับสภาวะอดอาหาร และมีการเจริญเติบโตลดลง

ตารางที่ 2-2 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน และไคโมทริปซินกับระยะของการเจริญเติบโตของปลาแอตแลนติกแซลมอล (Rungruangsak-Torrissen, 2002)

ระยะของการเจริญเติบโต	ทริปซิน (T)	ไคโมทริปซิน (C)	T/C
สภาวะอดอาหาร (เจริญเติบโตลด)	ลดลง	เพิ่มขึ้น	ต่ำ
สภาวะการปรับตัว (เจริญเติบโตคงที่)	คงที่	เพิ่มขึ้น	ต่ำ
ระยะการเจริญเติบโตตอนต้น (เจริญเติบโตช้า)	เพิ่มขึ้น	ลดลง	สูง
ระยะการเจริญเติบโตตอนปลาย (เจริญเติบโตเร็ว)	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น	สูง
การเจริญเติบโตลดลงหลังจากเจริญเติบโตสูงสุด	คงที่	เพิ่มขึ้น	ลดลง
ระยะไม่มีการเจริญเติบโต (เจริญเติบโตคงที่)	ลดลง	ลดลง	ลดลง

6. เสถียรภาพของเอนไซม์

6.1 ผลของ pH ต่อเสถียรภาพของเอนไซม์

เอนไซม์ทุกชนิดเป็นโปรตีน ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ก็คือปัจจัยที่มีผลให้โครงสร้างของโปรตีนในระดับทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิเปลี่ยนไป เช่น pH ที่สูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ หรืออาจทำให้กิจกรรมถูกยับยั้ง โดยเสถียรภาพเอนไซม์ต่อระดับ pH ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยร่วม เช่น อุณหภูมิ Ionic strength ชนิดของสารเคมีในบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของสารกันเสียเช่น กลีเซอรอล (Glycerol) สารประกอบซัลไฟดริล (Sulfhydryl) ความเข้มข้นของสารปนเปื้อนพวกไอออนโลหะ ความเข้มข้นของสับสเตรต หรือโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์และความเข้มข้นของเอนไซม์

6.2 ผลของอุณหภูมิ ต่อเสถียรภาพของเอนไซม์

ปฏิกิริยาทางเคมีส่วนใหญ่จะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์แก่โมเลกุลที่เข้าทำปฏิกิริยา แล้วส่งผลให้เกิดโอกาสในการชนกันมากขึ้นต่อหน่วยเวลา สำหรับเอนไซม์ก็เช่นกัน แต่เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน และมีความละเอียดอ่อนมาก หากโมเลกุลของเอนไซม์ได้รับพลังงานมากเกินไป จะมีผลทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติและกิจกรรมจะสูญเสียไป ดังนั้นในการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาในสภาวะที่เหมาะสม (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

7. ความต้องการสารอาหารของครัสเตเชียน

7.1 ความต้องการโปรตีน

โปรตีน ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเพปไทด์โดยกรดอะมิโนทุกตัวจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าโปรตีนทุกชนิดจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบด้วยเช่นกัน จึงทำให้การคำนวณองค์ประกอบของโปรตีนทำโดยการวัดองค์ประกอบของไนโตรเจนได้ กระบวนการเมแทบอลิซึมของโปรตีนจะได้พลังงานเป็นผลิตผลขั้นสุดท้าย แต่ครัสเตเชียนจะกำจัดออกทางเหงือก อุจจาระ และปัสสาวะ ซึ่งไนโตรเจนที่เป็นผลผลิตสุดท้ายนี้จะสร้างปัญหากับบ่อเลี้ยงได้ (Parker, 2002) ดังนั้นในการผลิตอาหารสัตว์น้ำจึงมีความจำเป็นต้องทราบปริมาณความต้องการโปรตีนที่แน่นอนโดยไม่ควรมีปริมาณต่ำเกินจนทำให้การเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และการดำรงชีวิตไม่เป็นไปตามปกติ หรือมีปริมาณโปรตีนในอาหารมากจนเกินความจำเป็นจนทำให้สิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรม อาจกล่าวได้ว่าความต้องการโปรตีนในอาหารของครัสเตเชียนก็คือความต้องการกรดอะมิโนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการดำรงชีวิต การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์เช่น กรดอะมิโนที่ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ หรือกรดอะมิโนจำเป็น 10 ชนิดคือ อาร์จีนีน (Arginine) ฮิสติดีน (Histidine) ไอโซลูซีน (Isoleusine) ลูซีน (Leusin) ไลซีน (Lysine) เมทไธโอนีน (Methionine) ฟีนิลอะลานี (Phenylalanine) ทรีโอนีน (Threonine) ทริปโตแฟน (Tryptophan) และวาลีน (Valine)

การศึกษาความต้องการโปรตีนในครัสเตเชียนส่วนใหญ่เป็นการออกแบบสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน และศึกษาอัตราการเจริญเติบโต การรอดตาย และอัตราส่วนโปรตีนต่อพลังงาน (P/E ratio) จากการศึกษาความต้องการโปรตีนในกุ้งพีเนียด และครัสเตเชียนทั่วไป พบว่าความต้องการโปรตีนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 20-60 % (Guillaume, 1997) ซึ่งความต้องการโปรตีนดังกล่าวมักขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ขนาดลำตัว อายุ เพศ อุณหภูมิ ความเค็มน้ำ ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และอื่น ๆ (Catacutan, 2002)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

7.2 ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

ในปัจจุบันนับว่าคาร์โบไฮเดรตมีความสำคัญกับการผลิตอาหารสัตว์น้ำมากเนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานราคาถูกซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทดแทนโปรตีนได้ (Protein sparing action) โดยทำให้สัตว์น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตเป็นไปตามปกติ คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในการผลิตอาหารสัตว์น้ำที่สำคัญคือแป้ง ซึ่งสำคัญมากกว่าน้ำตาลเพราะแป้งเป็นสารโมเลกุลใหญ่เมื่อถูกย่อยจะได้เป็นโมเลกุลเล็กลง และถูกดูดซึมไปใช้อย่างช้า ๆ มีน้ำตาลในเลือดไม่สูงมากนักทำให้มีการเผาผลาญพลังงานได้มาก ในขณะที่น้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดเล็กไม่ต้องถูกย่อยอีกจึงถูกดูดซึมไปใช้ทันทีทำให้มีน้ำตาลในเลือดมาก ส่งผลให้น้ำตาลที่เหลือในเลือดบางส่วนที่ยังไม่ถูกดูดซึมถูกขับออกมากับปัสสาวะ

7.3 ความต้องการไขมัน

ไขมันทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเยื่อเซลล์ (Biomembrane) และเป็นแหล่งพลังงานของร่างกาย นอกจากนี้ยังมีบทบาทต่อกระบวนการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของฮอร์โมนบางชนิดเช่น สเตอรอยด์ฮอร์โมน (Steroid hormone) และพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) เป็นต้น เมื่อกระบวนการเมแทบอลิซึมไขมันเกิดขึ้นจะได้กรดไขมันซึ่งครัสเตเชียนจะไม่เก็บสะสมไว้เนื่องจากละลายน้ำยาก และเป็นพิษจึงเก็บไว้ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) หรือฟอสโฟกลีเซอไรด์ (Phosphoglyceride)

7.4 ความต้องการวิตามิน

วิตามินที่ครัสเตเชียนต้องการมีสองชนิดคือ วิตามินที่ละลายในน้ำเช่น บี 1 (Thiamin) บี 2 (Riboflavin) บี 6 (Pyridoxine) บี12 (Cyanocobalamine) วิตามินซี (Ascorbic acid) กรดแพนโทเทนิค (Pantothenic acid) โฟเลท (Folate) ไบโอติน (Biotin) และโคลีน (Choline) และวิตามินที่ละลายในไขมันเช่น เอ (Retinol) อี (Tocopherol) ดี (Calciferol) และเค (Phylloquinone)

7.5 ความต้องการแร่ธาตุ

โดยทั่วไปแล้วแร่ธาตุจะเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในโครงสร้างแข็ง (Exoskeleton) ในเนื้อเยื่ออ่อน (Soft tissue) เช่น ซัลเฟอร์ในโปรตีน เมทัลโลโปรตีน (Metalloproteins) ที่มีส่วนสำคัญในการทำงานของเอนไซม์เช่นสังกะสีในคาร์บอกซีเพปทิเดส (Carboxypeptidase) และอาจเป็นโคแฟคเตอร์หรือตัวเร่งในเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่นสังกะสีที่เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์อัลคาไลด์ฟอสฟาเทส (Alkali phosphatase) สำหรับแร่ธาตุที่ละลายในน้ำเช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส คลอไรด์ โพแทสเซียม และโซเดียม จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการรักษาสมดุลของน้ำ และเกลือแร่รวมถึงกลไกการควบคุมสมดุลกรดและเบส และเนื้อเยื่อเป็นต้น (Davis & Lawrence, 1997)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

8. วัตถุดิบอาหารสำหรับครัสเตเชียน

โดยทั่วไปแล้วการเลือกวัตถุดิบอาหารจะเน้นความสำคัญไปที่แหล่งของโปรตีน พลังงาน กรดไขมันจำเป็น เกลือแร่ และวิตามิน ในขณะที่วัตถุดิบอาหารบางชนิดถือเป็นวัตถุดิบอาหารพิเศษที่จะเพิ่มการยอมรับอาหารหรือกระตุ้นการกินอาหาร (Palatability) มีวัตถุดิบอาหารบางชนิดช่วยรักษาหรือเพิ่มภูมิคุ้มกัน (Immuno stimulant) หรือช่วยเพิ่มปริมาณสารสีให้แก่สัตว์น้ำ ในการผลิตอาหารสัตว์เป็นที่ทราบกันดีว่าวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าสูง และสัตว์ที่กินจะมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารที่ดีคือปลาป่น ขณะที่เศษปลาที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมหรือปลาเป็ดที่ได้จากการประมงจะมีปริมาณของโปรตีนที่มีคุณภาพ และปริมาณวิตามิน เกลือแร่ในระดับต่ำ เช่นเดียวกับเนื้อ และกระดูกป่นที่มีองค์ประกอบโปรตีนที่มีคุณภาพต่ำเช่นกัน หรือแม้แต่กระทั่งเลือดไก่ป่นที่แม้จะมีปริมาณโปรตีนสูง แต่พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นในระดับต่ำ จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และการนำพลังงานไปใช้ไม่ดีเท่าที่ควร (Parker, 2002) ดังนั้นในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสำหรับครัสเตเชียนจึงมีความจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

8.1 วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีน

วัตถุดิบต้องมีโปรตีนมากกว่า 20% สามารถแบ่ง ออกได้ 2 แหล่งใหญ่ ๆ คือ

8.1.1 แหล่งโปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น ปลาสด เลือดป่น ขนไก่ป่น เนื้อ และกระดูกป่น กุ้งป่น เศษไก่ป่น ไส้ไก่ หัวไก่ ปูป่น ผลิตภัณฑ์จากนม ฯลฯ

8.1.2 แหล่งโปรตีนจากพืช ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากเมล็ดฝ้าย กากมะพร้าว กากงา กากอุ่น ใบกระถินป่น โปรตีนสกัดเข้มข้นจากข้าวโพด และจากข้าวสาลี ฯลฯ

8.2 วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งพลังงาน

วัตถุดิบประเภทนี้มีโปรตีนต่ำกว่า 20% แต่มีคาร์โบไฮเดรตหรือแป้งสูง ได้แก่ เมล็ดและผลิตภัณฑ์ของเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และรำจากธัญพืช ฯลฯ โปรตีนของวัตถุดิบเหล่านี้มีค่า 8-12% มีแป้ง ในปริมาณ 60-80% และไขมันมีค่า 1-8%

8.3 วัตถุดิบจำพวกวิตามินและแร่ธาตุ

วิตามินและแร่ธาตุที่ใช้เป็นส่วนผสมของอาหาร มักเรียกว่าสารผสมล่วงหน้า (Premix) ในการผสมให้ทั่วถึงในทุก ๆ ส่วนไม่นิยมผสมวิตามิน และแร่ธาตุ ในตัว อาหารโดยตรง แต่มักถูกผสมไว้ก่อนล่วงหน้ากับสื่อบางชนิด เช่น กากถั่วเหลือง รำ แกลบบด หรือแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) แม้ว่าวัตถุดิบเหล่านี้จะใช้ในปริมาณน้อยแต่ก็ต้องผสมลงในอาหารให้มากกว่าปริมาณที่ได้คำนวณไว้เพราะวิตามินจะมีการเสื่อมสภาพได้ในขณะที่มีการเก็บรักษาที่ไม่ ดีหรือถูกความร้อนในกระบวนการผลิตอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

8.4 วัตถุดิบจำพวกไขมัน หรือน้ำมัน

เป็นวัตถุดิบที่ให้พลังงาน กรดไขมันที่จำเป็น วิตามินที่ละลายในไขมัน และบางครั้งใช้เป็นสารแต่งกลิ่นอาหารเพื่อ กระตุ้นให้สัตว์น้ำกินอาหารได้มากขึ้น น้ำมันที่ใช้ผสมอาหารสัตว์น้ำแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ น้ำมันจากสัตว์ ได้แก่ น้ำมันปลา น้ำมันปลาหมึก น้ำมันหมู และน้ำมันจากพืช ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันเมล็ดทานตะวัน ฯลฯ

8.5 วัตถุดิบจำพวกเสริมคุณภาพของอาหาร

วัตถุดิบจำพวกนี้ใช้ผสมอาหารเพื่อวัตถุประสงค์อื่นที่ไม่ใช่เพิ่มคุณค่า ทางโภชนาการของอาหาร ถึงแม้ว่าบางครั้ง ใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการเสริมคุณภาพแต่ตัวมันเองจะมีคุณภาพอาหารอยู่ด้วย สามารถแบ่งได้ 3 ประเภทดังนี้

8.5.1 สารเหนียว (Binder)

สารเหนียว หรือสารประสานอาหาร เป็นสารที่ช่วยทำให้อาหารมีความคงทนในน้ำได้นาน การใช้สารเหนียวมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในการทำอาหารสำหรับสัตว์น้ำที่กินอาหารช้า ๆ เช่น กุ้ง ซึ่งสารเหนียวสามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภทใหญ่ ๆ คือโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารสังเคราะห์ หรือ สารธรรมชาติที่ไม่มีคุณค่าทางอาหาร จากการศึกษาของ Divakaran and Duerr (1989) พบว่าสารเหนียวกลุ่มกลูเท่น (Gluten) มีประสิทธิภาพการคงตัวของอาหารเมื่ออยู่ในน้ำได้นานกว่าสารเหนียวกลุ่มวุ้น และลดอัตราการสูญเสียไรโบฟลาวิน

8.5.2 สารแต่งกลิ่นอาหาร (Attractant)

สารแต่งกลิ่นเป็นสารช่วยเพิ่มกลิ่นและรสของอาหารให้มีความน่ากินมากขึ้น กลิ่นในอาหารที่สัตว์น้ำชอบมักเป็นกลิ่นที่มีในอาหารตามธรรมชาติของมัน เช่น อาหารปลาที่กินเนื้อเป็นอาหารจะชอบกลิ่นของเนื้อกุ้ง หอย ปู ปลา หมึก ฯลฯ ซึ่งกลิ่นเหล่านี้ สามารถ หาได้จากเศษชิ้นส่วนหรือผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปแล้วของสัตว์ต่าง ๆ ดังกล่าว เช่น น้ำมันปลา น้ำมันหมึก หัวและเปลือกกุ้งป่น เศษหมึกป่น ตับวัวป่น ฯลฯ (Lee & Meyer, 1997)

8.5.3 สารป้องกันการหืน (Antirancid substrate)

ความหืนของอาหารเกิดขึ้นจากไขมันในอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และการที่อาหารขึ้นราก็เพราะอาหารนั้นมีความชื้นสูงเกิน 12% ดังนั้นเพื่อป้องกันไม่ให้คุณค่าของอาหารเสียไป ในการทำอาหาร จึงมักเติม สารกันหืนเช่น Butyl hydroxyl toluene (BHT) และ Beta hydroxy acid (BHA) ในปริมาณ 0.2% หรือใช้ Propionic acid ปริมาณ 0.3%

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

9. ปัญหาที่เกิดจากวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ

9.1 องค์ประกอบ และปัญหาที่เกิดจากวัตถุดิบโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ

การเลือกใช้วัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดล้วนมีข้อจำกัดเกี่ยวกับการใช้หากพิจารณาเพียงองค์ประกอบด้านคุณค่าสารอาหารเพียงอย่างเดียวอาจทำให้เกิดผลกระทบต่าง ๆ ดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 องค์ประกอบ และปัญหาที่เกิดจากแหล่งโปรตีนที่ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ (Parker, 2002)

วัตถุดิบอาหาร	พลังงาน (kcal/kg)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	ปัญหาที่พบ
เลือดป่น	3188	89.2	0.7	2.3	เมทไธโอนินต่ำ
เมล็ดคาโนลา	2549	38.0	3.8	11.1	มีเส้นใย และแทนนิน (Tannin) สูง
เมล็ดฝ้ายป่น	2792	41.7	1.8	6.4	ไลซีน และเมทไธโอนินต่ำ
ปลาป่น	3778	62.0	7.1	20.7	ไม่พบ
ปลาเป็ด	-	50.8	9.6	10.4	โปรตีนไม่มีคุณภาพ
เนื้อ กระดูกป่น	3058	50.9	9.7	29.2	มีองค์ประกอบของเถ้ามาก
ถั่วลิสงป่น	3370	49.0	1.3	5.9	ไลซีน และเมทไธโอนินมีปริมาณจำกัด
กระดูกไก่ป่น	3546	59.7	13.6	14.5	โปรตีนไม่มีคุณภาพ
ขนไก่ป่น	3325	83.3	5.4	2.9	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำ
ถั่วเหลืองป่น	3010	44.0	0.9	5.8	คุณค่าทางอาหารเสื่อมสลายง่ายเมื่อถูกความร้อน

9.2 สารลดคุณค่าทางอาหารในวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ

ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงนอกเหนือจากสารอาหารที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพ และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำยังคงคำนึงถึงผลกระทบที่เกิดจากสารลดคุณค่าทางอาหารในวัตถุดิบอาหารด้วย (ตารางที่ 2-4) ทั้งนี้อาจทำให้การเลี้ยงสัตว์น้ำมีอุปสรรคและทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-4 ผลกระทบ ที่เกิดจากวัตถุดิบอาหารในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ (Parker, 2002)

ชื่อสารเคมี	วัตถุดิบอาหาร	ผลกระทบ	การป้องกัน
Trypsin inhibitor	ถั่วเหลืองดิบ	ยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน	ควบคุมความร้อนที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต
Phytic acid (Phytate)	กากถั่วเหลือง และจากพืชชนิดอื่นๆ	ลดประสิทธิภาพโปรตีน และแร่ธาตุ Zn, Mn, Cu, Ca และ Fe	จำกัดการใช้วัตถุดิบจากถั่วเหลืองและพืชบางชนิด
Gossypol	เมล็ดฝ้ายสกัดน้ำมัน	ลดการเจริญเติบโต ทำลายอัณฑะและเนื้อเยื่อ ออกฤทธิ์คล้ายสารคาร์ซิโนเจน (Carcinogen)	จำกัดการใช้เมล็ดฝ้ายสกัดน้ำมันในสูตรอาหาร
Cyclopropenoic Fatty acid	เมล็ดฝ้ายป่น	ทำให้เกิดบาดแผล, มีการสะสมไกลโคเจน กรดไขมันออกฤทธิ์คล้ายคาร์ซิโนเจน	จำกัดการใช้เมล็ดฝ้ายป่นในสูตรอาหาร
Glucosinolates	เมล็ดแรพ (Rapeseed)	ออกฤทธิ์คล้ายสารต้านไทรอยด์ (thyroid)	จำกัดการใช้เมล็ดแรพ
Erucic acid	น้ำมันจากพืช	ทำให้ผิวหนัง เหงือก ไต และหัวใจบกพร่องถึงตาย	จำกัดการใช้น้ำมันจากพืชบางชนิด
Alkaloids	การปนเปื้อนจากเมล็ดฝ้าย และถั่วเหลืองป่น	ลดการเจริญเติบโต และทำให้ตายในที่สุด	มีการควบคุมคุณภาพของเมล็ดฝ้าย และถั่วเหลืองป่น
Thiaminase	เนื้อปลาดิบบางชนิด	ทำลายวิตามินไทอะมีน	เพิ่มความร้อนในการผลิต

10. ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหาร

10.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน

10.1.1 ความแตกต่างของชนิดสัตว์ และอายุ (Species and age) โดยทั่วไปแล้ว ครัสเตเชียนน้ำจืดจะมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเช่น รำสาลี หรือรำข้าวได้สูงกว่าครัสเตเชียนน้ำเค็ม แต่ครัสเตเชียนทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากกุ้งป่น และเคซีนได้ดีใกล้เคียงกัน ในขณะที่เครย์ฟิชจะมีประสิทธิภาพการย่อยอาหารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่มีไฟเบอร์สูงได้ดี และจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากสิ่งมีชีวิตต่ำกว่าเป็นต้น สำหรับความสัมพันธ์ของอายุ และประสิทธิภาพการย่อยอาหารนั้นพบว่าเกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์ของระบบย่อยอาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีค่าต่ำ และมีความต้องปริมาณสารอาหารที่แตกต่าง (Lee & Lawrence, 1997)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

10.1.2 ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Environmental factors) นับว่ามีความสัมพันธ์ทางอ้อมเนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของครัสเตเชียนซึ่งอาจส่งผลต่อกิจกรรมต่าง ๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปเช่น การยอมรับอาหาร อัตราการกินอาหาร หรือความต้องการอาหารเป็นต้น ซึ่งปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ได้มีการศึกษาได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็มน้ำ pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เป็นต้น (Lee & Lawrence, 1997)

10.1.3 องค์ประกอบทางโภชนาการ (Nutrient associations) เป็นหลักฐานที่แน่ชัดว่าองค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารในธรรมชาติ หรืออาหารสำเร็จรูปมีอิทธิพลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารของครัสเตเชียน เนื่องจากวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดมีโครงสร้าง หรือองค์ประกอบแตกต่างกัน เช่นวัตถุดิบโปรตีนจากพืชบางชนิดแม้จะมีโปรตีนสูงแต่ก็มีไฟเบอร์สูง นอกเหนือจากนั้นคือสารยับยั้งการย่อยของเอนไซม์ย่อยอาหารที่มีปริมาณสูงหากผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่มีคุณภาพโดยวัตถุดิบแต่ละชนิดก็จะมีความเหมาะสมกับสายพันธุ์ และช่วงอายุของครัสเตเชียนซึ่งได้กล่าวไว้ในข้างต้น (Lee & Lawrence, 1997)

10.1.4 การยอมรับอาหาร (Feed Palatability) ในที่นี้รวมถึงความพึงพอใจหรือการยอมรับในสี รส รูปร่าง และขนาดของอาหาร ซึ่งจากการศึกษาในอดีตมีการยอมรับว่าการยอมรับอาหาร เป็นปัจจัยสำคัญอันดับต้น ๆ ที่มีผลต่ออัตราการกินอาหาร รวมถึงกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ และระบบย่อยอาหารให้ทำงานได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Lee & Lawrence, 1997) กล่าวคือการวิจัยหรือพัฒนาอาหารสำหรับครัสเตเชียนนั้นยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง และมีความสำคัญมาก

10.2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในร่างกาย (*In vivo* protein digestibility)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่นิยมใช้ และเป็นที่ยอมรับเนื่องจากสัตว์ได้กินอาหารทดลอง และอยู่ในสภาวะสิ่งแวดล้อมจริง ซึ่งมีวิธีการศึกษาหลายวิธีด้วยกันเช่น การประเมินจากน้ำหนักหรือความหนาแน่น (Gravimetric method) สารโครมิกซ์ออกไซด์ (Chromic oxide marker) อัตราส่วนเถ้า (Ash ratio) ความสัมพันธ์ด้านองค์ประกอบของสารอาหาร (Nutrient composition correlations) และเครื่องหมายสารกำมันตรังสี (Radio labeled tracers) เป็นต้นข้อมูลดังกล่าวนับว่ามีความสำคัญต่อการคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารก่อนทำการทดลองได้เช่นกันซึ่งวิธีการดังกล่าวมีการศึกษาในครัสเตเชียน และวัตถุดิบต่าง ๆ (ตารางที่ 2-6) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนคือ ชนิดของครัสเตเชียน และชนิดของวัตถุดิบอาหารซึ่งพบว่าครัสเตเชียนในกลุ่มกุ้งกินพืช และสัตว์สามารถย่อยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นได้ดีที่สุด รองลงมาคือปลาป่น วีตกลูเท่น คอร์นกลูเท่น กุ้งป่น ปลายข้าว รำข้าว ยีสต์โปรตีน และมันสำปะหลังป่นตามลำดับ ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากปลาป่นอาจไม่ดีที่สุดเสมอไป ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ในครัสเตเชียน หรือคุณภาพของวัตถุดิบที่อาจเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล และกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ในขณะที่วัตถุดิบโปรตีนจากพืชหลายชนิดมีประสิทธิภาพการย่อยที่สูงกว่าหรือใกล้เคียงกับปลาป่น ทำให้สามารถคัดเลือกวัตถุดิบโปรตีนดังกล่าวมาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นที่มีราคาสูง

ตารางที่ 2-5 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารของครัสเตเชียนชนิดต่าง ๆ (Lee & Lawrence, 1997)

วัตถุดิบอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%)	ชนิดของครัสเตเชียน
ปลาป่น (Menhaden)	81	*Penaeus vannamei*
	85	*Procambarus clarkii*
	57	*Macrobrachium rosenbergii*
ปลาป่น (เปรู)	87	*Palaemon serratus*
ปูป่น	81	*P. clarkii*
กุ้งป่น	75	*P. vannamei*
	81	*P. clarkii*
	67	*M. rosenbergii*
ถั่วเหลืองป่น	90	*P. vannamei*
	90	*P. monodon*
	99	*P. clarkii*
รำข้าว	76	*P. vannamei*
	48	*P. monodon*
	94	*P. clarkii*
ปลายข้าว	88	*P. clarkii*
มันสำปะหลังป่น	47	*P. japonicus*
	32	*P. monodon*
	44	*P. semisulcatus*
วีตกลูเท่น	98	*P. vannamei*
	95	*P. clarkii*
คอร์นกลูเท่น	93	*P. serratus*
ยีสต์โปรตีน	85	*P. japonicus*
	87	*P. monodon*
	70	*P. clarkii*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ข้อมูลข้างต้นบ่งบอกถึงคุณประโยชน์ของการศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการออกแบบสูตรอาหารสำหรับเลี้ยง หรือเพื่อศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายต่อไป

10.3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (*In vitro* protein digestibility)

ในปัจจุบันมีวิธีการประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำอยู่หลายวิธี แต่ยังขาดความละเอียด ถูกต้อง และใช้เวลาค่อนข้างนานทำให้มีการพัฒนาวิธีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ในหลอดทดลองด้วยเอนไซม์สกัดจากสิ่งมีชีวิตที่จะทำการศึกษา โดยการพัฒนาในช่วงแรกเป็นการประเมินผลผลิตขั้นสุดท้ายของเอนไซม์เปปซินในสัตว์บกจากนั้นมีความแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์กลุ่มโปรติเนสค่อนข้างดีกว่าเอนไซม์ชนิดอื่นอีกทั้งเอนไซม์สังเคราะห์ของสัตว์บกหาซื้อได้ง่ายในทางการค้า ทำให้วิธีดังกล่าวมีความนิยมที่จะนำมาใช้ในวิจัยการผลิตสูตรอาหารซึ่งเหมาะสมต่อประสิทธิภาพการย่อยของสัตว์มากขึ้น ส่วนในสัตว์น้ำก็ได้นำเอาวิธีดังกล่าวมาประยุกต์ใช้เช่นกันเช่น การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองของปลากินเนื้อเช่น ปลาแซลมอล (*Salmo gairdneri*) โดยพบว่าการศึกษาดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารภายในตัว (*In vivo* digestibility) และการเจริญเติบโตอีกด้วย จากนั้นจึงเริ่มมีการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารภายในตัว ของปลากินพืชเช่น ปลาไน (*Cyprinus caprio*) โดยเปรียบเทียบกับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารภายในตัวด้วยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์ (Cr_2O_3) พบว่ามีความสัมพันธ์ ($r<0.09$) เช่นกัน หลังจากนั้นจึงมีการศึกษาในครัสเตเชียนที่กินทั้งพืช และสัตว์ตามมาคือกุ้ง *P. monodon* โดยพบว่าเอนไซม์มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลองได้ดีที่สุดคือ เคซีน วีตกลูเท่น ปลาป่น และกากถั่วเหลืองตามลำดับ (Lee & Lawrence, 1997) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลองให้ก้าวหน้ามากขึ้นโดย Ezquerra, Garcia-Carreno, and Carrillo (1998) ได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์โปรติเนสจากเฮปพาโตแพนเครียสของกุ้งขาวแวนนาไม ด้วยวิธี pH-drop method และ pH-stat method โดยพบว่าวิธี pH-stat method เป็นวิธีที่มีความเหมาะสมเนื่องจากมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการย่อยในตัวของสัตว์ทดลอง (*In vivo* digestibility) ด้วย Cr_2O_3 เป็นดัชนีซึ่งเป็นวิธีที่มีความนิยมอย่างมากแต่มีข้อเสียคือต้องทำการเลี้ยงสัตว์ทดลองซึ่งใช้เวลานาน และเกิดความผิดพลาดเรื่องสารอาหารจากมูลของสัตว์น้ำสูญเสียไปกับน้ำ สำหรับวิธี *In vitro* digestibility by pH- stat เป็นวิธีที่รวดเร็ว สามารถควบคุม pH ของปฏิกิริยาให้คงที่ อีกทั้งยังมีความละเอียดมากกว่า ซึ่งสามารถใช้ในการประเมินได้ทั้งประสิทธิภาพการย่อย และคุณค่าทางชีวภาพของวัตถุดิบอาหารได้ ซึ่งดีกว่าวิธี

pH-drop method เนื่องจากค่า pH ตลอดการเกิดปฏิกิริยาของวิธีนี้จะไม่คงที่ ทำให้สภาวะของเพปไทด์โปรตีน และสารตั้งต้นในวัตถุดิบอาหารถูกรบกวนตลอดเวลา กล่าวได้ว่าการประยุกต์ใช้ความรู้เกี่ยวกับประสิทธิภาพการย่อยอาหารในหลอดทดลอง นับว่ามีความสำคัญเนื่องจากสามารถคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหาร เพื่อการผลิตอาหารที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำเบื้องต้นก่อนการเลี้ยงจริง ในระยะเวลาอันสั้น อีกทั้งยังมีความผิดพลาดค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารในตัวของสัตว์ทดลอง

11. วัตถุดิบโปรตีนทางเลือกสำหรับอาหารของครัสเตเชียน

ปลาป่นนับว่าเป็นวัตถุดิบโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสม และสัตว์น้ำยังมีประสิทธิภาพการย่อยที่ดี มีสารกระตุ้นการกินอาหารในปริมาณมากอีกด้วย จึงทำให้อาหารสัตว์น้ำใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบโปรตีนเป็นหลักในส่วนผสม แต่เนื่องจากปริมาณปลาที่ได้จากการประมงลดน้อยลง อีกทั้งยังมีราคาสูงขึ้นทำให้นักเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีแนวความคิดที่จะลดต้นทุนการผลิตด้วยการหาวัตถุดิบทดแทนที่มีราคาถูก หรือหาได้ง่ายกว่า (ตารางที่ 2-6)

ตารางที่ 2-6 วัตถุดิบอาหารที่นิยมใช้ในการทดแทนโปรตีนจากปลาป่น

(Smith, Burford, Tabrett, Irvin, & Ward, 2001)

วัตถุดิบอาหาร	องค์ประกอบของวัตถุดิบอาหาร (% น้ำหนักแห้ง)			พลังงาน
	เถ้า	โปรตีน	ไขมัน	(kcal/kg)
เนื้อสัตว์บก				
เลือดป่น	3.1	94.9	1.0	23.9
เศษไก่ป่น	3.0	84.3	11.2	24.9
เนื้อวัวป่น	36.0	49.2	9.2	16.1
เนื้อแกะป่น	34.5	54.3	7.2	16.2
เนื้อสัตว์ผสมป่น	12.1	60.6	14.5	23.5
ไก่ป่น	15.0	60.3	18.2	22.7
ธัญพืช				
เมล็ดคาโนลา (Canola)	6.3	31.8	12.5	21.8
เมล็ดคาโนลาสกัดน้ำมัน	8.0	36.6	2.6	19.9
เมล็ดฝ้ายป่น	8.3	48.1	4.6	19.9

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 2-6 (ต่อ)

วัตถุดิบอาหาร	องค์ประกอบของวัตถุดิบอาหาร (% น้ำหนักแห้ง)			พลังงาน
	เถ้า	โปรตีน	ไขมัน	(kcal/kg)
ถั่วลิสงป่น	5.2	41.2	1.3	19.7
ถั่วเหลืองป่น	6.3	47.5	6.4	20.9
ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	8.0	47.8	3.7	17.0
กระถินป่น	3.4	20.8	4.7	19.4
Field pea (Dunn)	3.4	25.5	1.1	17.0
ถั่วอานม้า (Lupin)	3.7	37.6	6.2	20.9
ถั่วอานม้าสกัดน้ำมัน	3.5	44.8	7.1	20.6
คอร์นกลูเท่น (Corn gluten)	2.0	62.0	1.0	24.1
วีทกลูเท่น (Wheat gluten)	2.5	76.9	1.0	23.1
ข้าวฟ่าง	2.3	14.5	1.5	18.8
รำสาลี	4.9	22.3	5.0	19.6

11.1 วัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์

โปรตีนจัดเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งของการเจริญเติบโต และการลอกคราบของปู หากปริมาณโปรตีนที่ได้รับไม่เพียงพอจะมีผลทำให้การลอกคราบนานขึ้น ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงด้วย สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนเมื่อได้รับปริมาณอาหารที่มีโปรตีนสูง จะมีระดับของน้ำตาลกลูโคสในเลือดต่ำ รวมทั้งจะมีปริมาณไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ และเฮปพาโตแพนเครียสที่ต่ำด้วย ในกรณีที่ครัสเตเชียนมีการอดอาหารหรือได้รับอาหารในปริมาณน้อยจะพบว่าระดับโปรตีนในเลือดลดลง (Ruppert & Barnes, 1994)

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนจากทะเลที่มีความสำคัญกับครัสเตเชียนมากที่สุด และใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญคือปลาป่น โดยจะมีปริมาณ 30-50% ในสูตรอาหาร ในขณะที่หัวกุ้งที่เหลือจากขบวนการแปรรูปก็มีความนิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารเช่นกัน โดยจะนำหัวกุ้งมาใช้ในสูตรอาหารปริมาณ 5-10% และหากต้นทุนการผลิตสูงขึ้นจะมีการนำเอาหัวกุ้งป่นมาใช้ในการผลิตอาหารมากขึ้นในปริมาณ 15% แต่จากการรายงานพบว่าหัวกุ้งจะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนไม่ดีเท่าปลาป่น ซึ่งจะมีผลต่อการยอมรับอาหาร (Feed palatability) ของครัสเตเชียน (Houser & Akiyama, 1997) เช่นเดียวกับ Smith et al. (2001) ที่รายงานว่าโดยทั่วไปแล้วอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สัตว์น้ำจะมีการใช้ปลาป่น อยู่ระหว่าง 200-300 g/kg นอกจากนั้นจะมีการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยการใส่น้ำมันปลา และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว

Houser and Akiyama (1997) รายงานว่าการผลิตอาหารสำหรับครัสเตเชียนในเอเชียส่วนใหญ่จะมีการใช้เนื้อหมึกเป็นวัตถุดิบอาหารในปริมาณ 5-10% เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนสำหรับทดแทนปลาป่น อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการกินอาหารได้ดี เพราะมีกรดอะมิโน และกรดไขมันบางชนิดแต่การใช้เนื้อหมึกจะมีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้นในกระบวนการผลิตอาหาร จึงนิยมใช้วัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์ชนิดอื่น ๆ ที่มีราคาถูกเพิ่มเติมแทนเช่น เลือดป่น เนื้อกระดูกป่น เศษไก่ป่น และหางนมเป็นต้น แต่พบว่าวัตถุดิบเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในปริมาณต่ำเพียง 2-5% ของอาหารเท่านั้น เพราะคุณภาพของโปรตีนต่ำส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อย และการนำสารอาหารไปใช้

11.2 วัตถุดิบโปรตีนจากพืช

นอกจากแหล่งโปรตีนที่ได้จากสัตว์ และจากทะเลแล้วยังมีการเลือกใช้แหล่งโปรตีนที่ได้จากพืชในการผลิตอาหารครัสเตเชียนเนื่องจากมีราคาที่ถูกกว่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากทะเล เช่น การใช้กากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันถั่วเหลือง ได้แก่ กากถั่วเหลืองที่ได้จากกระบวนการอัดน้ำมันและกากถั่วเหลือง ที่ได้จากกระบวนการสกัดน้ำมันด้วยสารเคมีโดยพบว่าการใช้กากถั่วเหลืองในระดับที่เหมาะสมแทบไม่มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อของครัสเตเชียนแตกต่างไปจากการใช้ปลาป่น (Houser & Akiyama, 1997) แต่การใช้กากถั่วเหลืองก็มีข้อจำกัด เช่นในกระบวนการผลิตที่ให้ความร้อนต่อกากถั่วเหลืองไม่เพียงพอโดยเฉพาะกากถั่วเหลืองอัดน้ำมันจะทำให้มีสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน หลงเหลืออยู่ในระดับสูง มีผลทำให้ประสิทธิภาพการย่อยลดลงโดยเฉพาะในสัตว์น้ำขนาดเล็ก จะแสดงอาการโตช้าลง ในทางตรงกันข้ามหากกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนสูงเกินไป จนมีสีน้ำตาลคล้ำ มีกลิ่นเหม็นไหม้ทำให้กรดอะมิโนไลซีนลดลง จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ นอกจากนี้แล้วยังมีแหล่งโปรตีนที่ได้จากพืชอีกหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารครัสเตเชียน เช่น เมล็ดฝ้าย ถั่วต่าง ๆ ข้าวโพด และรำสาลีเป็นต้น แม้ว่าแหล่งโปรตีนที่ได้จากพืชจะช่วยในการลดต้นทุนการผลิต และสามารถจัดหาง่ายกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนจากทะเล แต่ข้อจำกัดคือต้องใส่สารแต่งกลิ่นอาหาร ด้วยไกลซีน อะลานีน โพรลีน ฮิสติดีน และเบตาอีน เป็นต้น (Houser & Akiyama, 1997)

11.3 โปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein)

โปรตีนเซลล์เดียวเป็นโปรตีนที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ซึ่งหมายถึง การนำจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาใช้เป็นแหล่งผลิตโปรตีน โดยจุลินทรีย์จะมีการเจริญในลักษณะเป็นเซลล์เดียวหรือเส้นใยมากกว่าที่จะเจริญเป็นหลายเซลล์ที่ซับซ้อนเหมือนกับสิ่งมีชีวิตพวกพืชหรือสัตว์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นกระบวนการผลิตทางเทคโนโลยีชีวภาพวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาการ

ขาดแคลนโปรตีนของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่กำลังพัฒนาซึ่งมีภูมิประเทศแห้งแล้งและมีพื้นที่ไม่เหมาะต่อการเพาะปลูก แม้ว่าจะมีการปรับปรุงพันธุ์พืช และสัตว์เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้สูงขึ้น ก็ยังมีสัดส่วนไม่สมดุลต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีความต้องการเพิ่มขึ้นอย่าง รวดเร็ว ดังนั้น โปรตีนเซลล์เดียวจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งอาหาร โดยตรงสำหรับสำหรับมนุษย์ และสัตว์หรือเป็นอาหารสัตว์เพื่อเป็นอาหารมนุษย์ กลุ่มของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวได้แก่ แบคทีเรีย (Bacteria) ยีสต์ (Yeast) รา และสาหร่าย เป็นต้น (Roques & Dussert, 1991) สาเหตุที่นำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน เนื่องจากจุลินทรีย์ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลาสูงกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ มีโปรตีนในเซลล์สูง ต้นทุนการผลิตไม่สูง นอกจากนี้ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด อีกทั้งยังมีวิตามินต่าง ๆ ในปริมาณที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบี 12 ซึ่งเป็นวิตามินที่มีความสำคัญทางโภชนาการ สามารถใช้เป็นอาหารเสริมประเภทโปรตีนได้ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กากมันสำปะหลัง และน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ผลผลิตที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารปลาได้ โดยไม่เกิดอาการเป็นพิษ และยังทำให้ได้น้ำหนักปลามากกว่าเลี้ยงด้วยอาหารปลาอย่างเดียว นอกจากนี้ โปรตีนเซลล์เดียวประเภทยีสต์ที่สังเคราะห์จากอุตสาหกรรมการผลิตสุรา และเบียร์ เป็นต้น ซึ่งมีข้อดีคือ ยีสต์มีสารเบต้ากลูแคน (β-glucan) ที่สามารถช่วยเพิ่มภูมิต้านทานโรคให้กับสัตว์น้ำ อีกทั้งยังมีกลิ่นที่ดีช่วยกระตุ้นการกินอาหาร แต่ข้อเสียก็คือจะมีปริมาณของกรดอะมิโนเมทไทโอนีน (Methionine) มีปริมาณต่ำ (Tacon & Akiyama, 1997) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kanazawa (1997) ศึกษาผลของการทดแทนโปรตีนจากเคซีนในอาหารกุ้ง *P. japonicus* ด้วยยีสต์โปรตีนที่ระดับ 2, 5, 10 และ 20% พบว่ากุ้งมีน้ำหนักสุดท้าย % น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการกินอาหารมีค่าสูงที่สุดในสูตรทดแทน 20% ในขณะที่ Hayashi and Toda (1995) ศึกษาผลของการทดแทนโปรตีนจากเคซีนในอาหารกุ้ง *P. japonicus* ด้วยยูกลีนา (*Euglena gracilis*) 13.25% พบว่ากุ้งมีน้ำหนักสุดท้าย และประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่าสูตรควบคุม เนื่องจากยูกลีนาเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่ไม่มีผนังเซลล์ที่เป็นโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ (Polysacchaide) เหมือนกับคลอเรลลาหรือ สไปรูไรนา จึงค่อนข้างเชื่อมั่นว่าครัสเตเชียนจะสามารถย่อยเซลล์ของยูกลีนาซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 60% ได้ดี อีกทั้งยังอุดมไปด้วยกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ

12. การทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนทางเลือกในอาหารของครัสเตเชียน

เป้าหมายสูงสุดของการผลิตอาหารสำหรับครัสเตเชียนนอกเหนือจากช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยที่สูงขึ้นแล้วยัง

คำนึงถึงการลดต้นทุนการผลิตโดยการทดแทนวัตถุดิบโปรตีนหลักได้แก่ปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนทางเลือกจากพืช หรือสัตว์ซึ่งมีต้นทุนต่ำกว่า และได้มีการศึกษาในครัสเตเชียนชนิดต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

12.1 ปูม้า (*P. pelagicus*)

วารินทร์ ธนาสมหวัง และคณะ (2548) ได้ทดลองเลี้ยงปูม้าระยะแครบด้วยอาหารนึ่งจำนวน 4 สูตรคือ หมึกร่วมกับไข่ไก่ ปลาเป็ดร่วมกับไข่ไก่ หอยแมลงภู่ ร่วมกับไข่ไก่ และนม และหมึกร่วมกับไข่ไก่และนม เปรียบเทียบกับอาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปพบว่าปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปมี % น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และ % โปรตีนในตัวสูงกว่าสูตรอื่น ๆ เนื่องจากอาหารนึ่งดังกล่าวมีปริมาณไขมันสูงซึ่งอาจส่งผลต่อความต้องการอาหารของปูม้าลดลง นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองเลี้ยงปูม้าระยะแครบด้วยอาหารสำเร็จรูป 4 สูตรซึ่งมีแหล่งโปรตีนจากสัตว์แตกต่างกันคือกากถั่วเหลืองร่วมกับปลาป่น กากถั่วเหลืองร่วมกับหอยแมลงภู่ กากถั่วเหลืองร่วมกับหมึก และกากถั่วเหลืองร่วมกับปลาป่น กุ้งป่น และหมึก และเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูป จากผลการศึกษาพบว่า ปูม้าที่เลี้ยงด้วยอาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ความกว้างกระดองด้านนอก จำนวนการลอกคราบสูงสุด สำหรับกลุ่มอาหารที่ใช้วัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์ชนิดอื่นพบว่าสูตรกากถั่วเหลืองร่วมกับหอยแมลงภู่ มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ความกว้างกระดองด้านนอก จำนวนการลอกคราบ และ % โปรตีนสะสมในเนื้อสูงสุด รองลงมาคือสูตรกากถั่วเหลืองร่วมกับปลาป่น กุ้งป่น และหมึก การทดลองดังกล่าวยังชี้ให้เห็นว่าปูม้ามีการยอมรับกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปได้ดี กว่าอาหารนึ่ง และชี้ให้เห็นว่าคุณภาพของอาหารที่ผลิตขึ้นเองยังมีประสิทธิภาพไม่ดีเท่าอาหารกุ้งสำเร็จรูป นอกจากนี้วัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์ที่เหมาะสมกับการทดแทนปลาป่นได้ดีคือหอยแมลงภู่

12.2 ปูทะเล (*S. serrata*)

Catacutan, Eusebio, and Teshima (2003) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปูทะเล ด้วยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์ในวัตถุดิบอาหารพบว่าวัตถุดิบอาหารกลุ่มสัตว์มีค่าอยู่ระหว่าง 94.8-97.6% โดยมีค่าสูงสุดที่ หมึกป่น รองลงมาคือ เนื้อและกระดูกป่น และปลาป่นเปรูตามลำดับ ในขณะที่วัตถุดิบอาหารกลุ่มพืชมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนอยู่ระหว่าง 94.3-96.4% โดยมีค่าสูงสุดที่ ข้าวโพด ถั่วเหลือง และรำข้าวตามลำดับ ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการย่อยวัตถุดิบโปรตีนของปูทะเลอยู่ในช่วงกว้างคือสามารถย่อยวัตถุดิบกลุ่มพืช และสัตว์ได้ดีใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปูทะเลสามารถกินได้ทั้งพืช สัตว์ และซากอินทรียสาร นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลือง และรำข้าวในอาหารเม็ดสำเร็จรูปพบว่าสูตรที่ทดแทนปลาป่น 30% ปูทะเลจะมีน้ำหนักสุดท้ายสูงที่สุด และมี FCR ต่ำที่สุด ในขณะที่สูตรทดแทน

20% และสูตรที่ไม่ทดแทนเป็นลำดับรองลงมา โดยระหว่างการเลี้ยงปูทะเลมีการลอกคราบ 3 ครั้ง ซึ่งพบว่าสูตรทดแทนปลาป่น 20% ใช้ระยะเวลาน้อยที่สุด รองลงมาคือสูตรที่ไม่ทดแทน และสูตรทดแทนปลาป่น 30% ตามลำดับ กล่าวคือแม้ว่าสูตรที่มีการทดแทนปลาป่น 30% จะมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด และอัตราการแลกเนื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ผลผลิตปูที่ได้จะช้ากว่าปูที่เลี้ยงด้วยสูตรอื่น เนื่องจากการทดแทนปลาป่นในปริมาณมากเกินไปจะเป็นการลดองค์ประกอบของฟอสฟอรัสในอาหาร ซึ่งเป็นการลดพลังงานที่ปูจะได้รับเพื่อใช้ในกระบวนการลอกคราบ และสร้างเปลือกต่อไป (Catacutan, 2002)

12.3 ลอบสเตอร์ (Lobster, *H. americanus*)

Floreto, Bayer, and Brown (2000) ศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลืองป่นในอาหารลอบสเตอร์ในอัตรา 25, 50, 75, 87.5 และ 100% เทียบกับสูตรควบคุมพบว่าสูตรทดแทน 50% ลอบสเตอร์จะมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าสูตรควบคุม และสูตรที่ทดแทนมากกว่าเนื่องจากสูตรที่ทดแทนตั้งแต่ 75% ขึ้นไปลอบสเตอร์จะมีระยะเวลาในการลอกคราบนานขึ้น และจากการทดลองพบว่าสูตรอาหารดังกล่าวโดยเฉพาะอย่างยิ่งสูตรที่มีการทดแทน 100% นั้นจะมีอัตราส่วนของกรดไขมัน n-3/n-6 ต่ำมาก เช่นเดียวกับการลดลงของกรดอะมิโนจำเป็นได้แก่ อาร์จินีน ลิวซีน เมทไทโอนีน และทริปโตแฟน ซึ่งล้วนเป็นพลังงาน และสารอาหารที่สำคัญต่อการลอกคราบ และอัตราการเจริญเติบโตทั้งสิ้น

12.3 เครย์ฟิช (*C. quadricarinatus*)

Lopez-Lopez, Nolasco,Villarreal-Colmenares, and Civera-Cerecedo (2005) ศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนทางเลือกในอาหารเครย์ฟิช ด้วยหมึกป่น ปูป่น ปลาซาร์ดีนป่น ข้าวฟ่าง รำสาลี ถั่วเหลืองป่น เปรียบเทียบกับสูตรปลาป่น 100% และสูตรควบคุม พบว่าสูตรที่ทดแทนด้วยรำสาลี เครย์ฟิชจะมีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสูงที่สุด ส่วนกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสมีค่าไม่แตกต่างกันทุกสูตร และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเนสจะมีค่าสูงสุดที่สูตรปลาป่น 100% สูตรที่ทดแทนด้วยถั่วเหลือง และสูตรควบคุม ส่วน Campana-Torres, Matinez-Cordova, Villarreal-Colmenares, and Civera-Cerecedo (2005) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยวิธีโครมิกซ์ออกไซด์ในเครย์ฟิช พบว่าวัตถุดิบโปรตีนแปรรูปจากพืชได้แก่ถั่วเหลือง และข้าวฟ่างมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าวัตถุดิบโปรตีนจากสัตว์เช่นปลาซาร์ดีนป่น และหมึกป่น จากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่าเอนไซม์ย่อยอาหารกลุ่มหลักของเครย์ฟิชมีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบได้หลากหลายโดยเฉพาะวัตถุดิบอาหารในกลุ่มพืชเนื่องจากเครย์ฟิชถือเป็นครัสเตเชียนในกลุ่มกินพืช และสัตว์ แต่มีพฤติกรรมการกินพืชมากกว่าจึงมีความสามารถในการย่อยอาหารกลุ่มพืชได้ดี ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวสอดคล้องกับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษาในปูทะเล (*S. serrata*) (Catacutan, Eusebio, & Teshima, 2003) ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งสำหรับการนำวัตถุดิบโปรตีนจากพืชมาทดแทนปลาป่นเพื่อลดต้นทุนการผลิต

12.4 กุ้งกุลาดำ (*P. monodon*)

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, พิชญา ชัยนาค และทวี จินดามัยกุล (2546) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่าปลาป่น กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน วีตกลูเท่น และหมึกป่นมีประสิทธิภาพการย่อยสูงกว่าข้าวโพดป่น หัวกุ้งป่น และเนื้อกระดูกป่น ส่วนเลือดป่นแม้จะมีโปรตีนสูงแต่ก็พบว่าโปรตีนมีคุณภาพต่ำเนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนเมทไทโอนีนและไอโซลิวซีนต่ำมาก ซึ่งไม่สมดุลกับปริมาณไลซีน และทริปโตเฟนที่มีอยู่สูง นอกจากนี้เลือดป่นยังได้ผ่านขั้นตอนการผลิตที่ใช้ความร้อนสูงจึงทำให้มีโปรตีนที่สัตว์น้ำย่อยได้น้อย ส่วนกากถั่วลิสงถูกย่อยได้ต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกากถั่วลิสงมีสารยับยั้งทริปซินซึ่งจะทำให้คุณภาพโปรตีนของถั่วลิสงลดน้อยลง สำหรับแป้งมันสำปะหลังนั้นจะไม่พบว่ามีการย่อยโปรตีนได้เลยทั้งนี้เนื่องมาจากเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนต่ำ การศึกษาดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกับกุ้งแชบ๊วย (*P. merguiensis*) สอดคล้องกับการศึกษาของ Sudaryono, Tsvetnenko, and Evens (1996) ซึ่งพบว่าสูตรอาหารที่ประกอบด้วยปลาเป็ด (ปลาซาร์ดีน หอยเชลล์ หัวกุ้ง) ร่วมกับวัตถุดิบโปรตีนจากพืช (ถั่วเหลือง รำข้าว และแป้งสาลี) มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนภายในตัวดีกว่าสูตรที่ประกอบด้วยปลาป่นสำเร็จรูปร่วมกับวัตถุดิบโปรตีนจากพืช นอกจากนี้ยังพบว่าการทดแทนวัตุดิบโปรตีนจากพืช ได้แก่ ถั่วเหลือง รำข้าว และแป้งสาลีร่วมกัน มีประสิทธิภาพการย่อยสูงกว่าสูตรที่ทดแทนด้วยถั่วอานม้า (Lupin) เพียงชนิดเดียว เนื่องจากการใช้ถั่วอานม้าในปริมาณมากถึง 70% จะมีปริมาณไฟเบอร์มากและมีกรดอะมิโนต่ำ นอกจากนี้ยังมีสารยับยั้งการย่อยอาหารหลายชนิดได้แก่ Toxic quinolizidine alkaloids, Lupanine และ Sparteine ผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนจากพืชในปริมาณมากเกินไปอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อย และการลดอัตราการเจริญเติบโตลงได้ เนื่องจากวัตถุดิบดังกล่าวมีสารยับยั้งการย่อย และสารพิษที่เป็นอันตรายหรือนอกจากนี้กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งที่มีพฤติกรรมกินเนื้อมากกว่าพืช ซึ่งแตกต่างจากปูทะเล และเคย์ฟิชจากเหตุผลดังกล่าวจึงมีการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยหัวกุ้งป่น และเคยป่นในอาหารกุ้งกุลาดำที่อัตรา 5, 10 และ 15% พบว่าทั้งสูตรที่ทดแทนด้วยหัวกุ้งป่น และเคยป่นในอัตรา 15% มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงกว่าสูตรควบคุม ทั้งนี้เพราะการทดแทนปลาป่นที่ระดับสูงขึ้นทำให้มีการลดปริมาณวีทกลูเท่นลงเพื่อปรับสมดุลพลังงานและสารอาหารให้เท่ากัน กล่าวคือสูตรที่ทดแทน15% จะมีปริมาณกรดอะมิโน และกรดไขมันเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนไลซีน เมทไทโอนีน และซิสทีน นอกจากนี้หัวกุ้งป่นยังมีสารกระตุ้นการกินอาหารสูงมากขึ้น (Williams, Smith, Barclay, Tabrett, & Riding, 2005)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

12.5 กุ้งขาวแวนนาไม (*P. vannamei*)

Ezquerra, Garcia-Carreno, and Carrillo (1998) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยวิธี Degree of hydrolysis ในกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าสูตรอาหารที่มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15% ด้วยถั่วเหลืองป่น ร่วมกับปลาแอนโชวีชิลี (Chilean anchovy) มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงสุด รองลงมาคือทดแทน 15% ด้วยถั่วเหลืองป่น ร่วมกับปลา Langostilla และทดแทน 15% ด้วยถั่วเหลืองป่น ร่วมกับปลา Menhaden ส่วนสูตรที่มีประสิทธิภายการย่อยโปรตีนได้น้อยที่สุดคือสูตรที่ทดแทนโปรตีน 15% ด้วยถั่วเหลืองป่น ร่วมกับใช้ปลาเป็ดเม็กซิกัน และปลา Langostilla ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปลาเป็ดเม็กซิกัน และปลา Langostilla มีอัตราส่วนไลซีนต่ออาร์จินีนต่ำกว่าสูตรอื่น ๆ เนื่องจากวัตถุดิบไม่มีคุณภาพ หรือผ่านกระบวนการที่ใช้ความร้อนสูงทำให้เกิดการทำลาย และสูญเสียโปรตีนและกรดอะมิโนจำเป็น สอดคล้องกับ Lemos, Navarrete del Toro, Cordova-Marueta, and Gracia-Carreno (2004) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในวัตถุดิบอาหารด้วยวิธี SDS-PAGE (Degree of hydrolysis) จากเอนไซม์สกัดจากกุ้ง *F. Paulensis* พบว่าเอนไซม์ของกุ้งมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงสุดที่ เคซีนซึ่งเป็นโปรตีนแปรรูปส่วนในกลุ่มของปลาป่นพบว่ามีประสิทธิภาพการย่อยสูงสุดที่ปลาป่นบราซิล รองลงมาคือปลาป่นแปรรูปชิลี สำหรับวัตถุดิบกลุ่มเนื้อของสัตว์บกที่ย่อยได้ดีที่สุดคือเนื้อป่น และย่อยได้ต่ำที่สุดคือเลือดป่น ซึ่งแม้ว่าจะมีโปรตีนสูงแต่ก็จำกัดในด้านกรดอะมิโนจำเป็นที่มีปริมาณต่ำ เช่นเดียวกับถั่วเหลือง ทั้งเปลือกจะมีสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในปริมาณมากทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนต่ำ ขัดแย้งกับการศึกษาของ (Divakaran, Forster, & Velasco, 2004) พบว่ากุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลืองป่นในปริมาณที่มากขึ้นจะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในหลอดทดลองต่ออาหารนั้นเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากกุ้งมีการปรับกิจกรรมของเอนไซม์ให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยโปรตีนจากอาหารที่มีคุณภาพต่ำได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brito, Chimal, Gabriela, and Rosas (2000) ที่พบว่าอาหารที่มีโปรตีนคุณภาพต่ำจะกระตุ้นให้กุ้ง *L. setiferus* มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเนสสูงขึ้น ในขณะที่ Cordova-Murueta and Garcia-Carreno (2002) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยวิธี *In vitro* protein digestibility ด้วย Degree of hydrolysis ในกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยหมึกไฮโดรไลเสส (Squid hydrolyzed) 9% มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าสูตรที่ทดแทน 15%, 3% และสูตรควบคุมตามลำดับ แต่พบว่าค่า FCR และน้ำหนักสุดท้ายของสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยหมึกไฮโดรไลเสส 3% มีค่าสูงกว่าสูตรที่ทดแทน 15%, 9% และสูตรควบคุมตามลำดับ เนื่องจากกุ้ง *L. vannamei* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทดแทน 3% มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเนสสูงกว่าทุกสูตรจากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่าชนิดของวัตถุดิบ

โปรตีนชนิดเดียวกันซึ่งมาจากแหล่งที่แตกต่างกันรวมถึงขั้นตอนการผลิตที่ใช้ความร้อนหรือการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของกุ้งขาวทั้งสิ้น แต่อย่างไรก็ตามกุ้งขาวซึ่งถือว่าเป็นกุ้งที่กินทั้งพืช และสัตว์มีความสามารถในการปรับตัวต่อการย่อยโปรตีนในอาหารที่มีประสิทธิภาพต่ำได้ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งไม่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Lee and Lawrence (1997); Ezquerra, Garcia-Carreno, and Carrillo (1998)

จากงานวิจัยเบื้องต้นกล่าวได้ว่าการทดแทนวัตถุดิบโปรตีนที่มีราคาสูงด้วยวัตถุดิบโปรตีนทางเลือกนั้นมีปัจจัยหลายประการที่มีความจำเป็นต่อการพิจารณา เช่นครัสเตเชียนแต่ละชนิดมีความสามารถในการยอมรับอาหาร ประสิทธิภาพการย่อย และการนำสารอาหาร และพลังงานไปใช้ได้แตกต่างกัน ขึ้นกับพฤติกรรมการกินของชนิดนั้น ๆ หรืออิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย และยังเกี่ยวข้องกับชนิดของวัตถุดิบอาหารซึ่งมาจากแหล่งที่แตกต่างกันทั้งทางธรรมชาติและกระบวนการแปรรูป เนื่องจากเป็นปัจจัยโดยตรงที่ส่งผลต่อองค์ประกอบของอาหาร เช่นเดียวกับปริมาณการทดแทนที่เหมาะสมไม่มาก หรือน้อยจนเกินไปจนกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และต้นทุนการผลิต เป็นต้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University