บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันปัญหามลพิษจากขยะและเศษวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ ซึ่งมีการปนเปื้อนของมลสารและโลหะหนัก ต้องอาศัยการจัดการขยะมูลฝอยที่ดี และไม่เพียงแต่เป็นการกำจัดขยะอย่างถูกต้องเหมาะสม แต่ยังต้องพยายามหลีกเลี่ยงหรือลดปริมาณขยะที่จะเกิดขึ้น ซึ่งเป็นการลดความเสี่ยงอันเกิดจากมลพิษเหล่านี้ โดยต้องเน้นที่การลดการเกิดขยะจากแหล่งกำเนิดแทนการแก้ปัญหาที่ปลายเหตุ หรือตามแนวเทคโนโลยีสะอาด (clean technology)

อุตสาหกรรมฟอกหนังเป็นอุตสาหกรรมเกษตร (Agro-Industry) ประเภทหนึ่ง ซึ่งมีการนำหนังสัตว์มาใช้ประโยชน์ โดยผ่านกรรมวิธีฟอกหนัง หนังสัตว์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการฟอกหนังนั้นประมาณร้อยละ 90 เป็นหนังโค และกระบือ ซึ่งเป็นหนังจากภายในประเทศและหนังดิบ (Raw hide) ที่นำเข้าจากต่างประเทศ (จรินทร์ เจริญศรีวัฒนกุล, 2537)

ในประเทศไทยมีโรงงานฟอกหนังอยู่ประมาณ 150 โรงงาน อุตสาหกรรมฟอกหนังกว่าร้อยละ 80 นิยมใช้วิธีฟอกโครม ในการฟอกหนังจะมีเศษวัสดุเหลือทิ้ง คือเศษหนัง ปริมาณโดยเฉลี่ยปีละ 18,000 ตัน โดยเป็นเศษหนังจากขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการฟอกหนัง และมีเศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย ซึ่ง Environmental Protection Agency (EPA) จัดให้เป็นกากของเสียอันตรายหมายเลข K053 (EPA hazardous Waste Number K053) ซึ่งทางโรงงานไม่ได้นำไปขายหรือใช้ประโยชน์อื่นๆแต่จะให้เทศบาลนำไปกำจัด ทำให้เพิ่มปัญหากับพื้นที่ทิ้งขยะ และพื้นที่ฝังกลบ (Landfill) เนื่องจากข้อจำกัดเรื่องพื้นที่รองรับขยะ มาตรการทางด้านสิ่งแวดล้อม และค่าใช้จ่ายในการขนย้ายและบำบัดกากของเสียเหล่านี้ ขยะที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบอาจทำให้เกิดปัญหามลพิษจากโครเมียมในสภาพแวดล้อม เช่น ปัญหาน้ำชะขยะ (Leachate) ส่งผลต่อการแพร่กระจายของโลหะหนักลงสู่น้ำผิวดิน น้ำใต้ดิน การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน

ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช และเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิต อันจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพอนามัยของประชาชน จึงได้พยายามคิดค้นวิธีกำจัดและการใช้ประโยชน์เศษหนังดังกล่าว โดยการแก้ปัญหาในระยะแรกมุ่งเน้นที่การกำจัดเศษหนังและการนำโครเมียมกลับมาใช้ประโยชน์เป็นหลัก

อย่างไรก็ตาม มีการนำเศษหนังที่มีโครเมียมนี้ไปใช้ประโยชน์โดยตรง โดยไม่ผ่านกระบวนการกำจัดโครเมียม เช่น นำไปใช้ในการเป็นวัตถุดิบในการผลิตฉนวนไฟฟ้า วัสดุก่อสร้าง และแผ่นไฟเบอร์ (Fiber sheet) หรือผสมกับไวนิลอะซิเตท เพื่อผลิตพื้นรองเท้า รวมทั้งใช้แทนเยื่อกระดาษในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ แต่ท้ายที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเศษหนังดังกล่าวไปใช้เป็นวัตถุดิบ จะกลายเป็นขยะหลากหลายประเภทที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ

การนำโครเมียมกลับมาใช้ใหม่ โดยการเผาเศษหนังที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้ขี้เถ้าของโครเมียมสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเกลือไบโครเมต หรือเป็นแหล่งโครเมียม ในการเผาจะทำให้เกิดก๊าซพิษได้แก่ SO_2 และ NO_2 รวมทั้งเขม่าควัน แม้ว่าจะสามารถกำจัด SO_2ได้ แต่มีต้นทุนการกำจัดสูง การเผาจะใช้ความร้อนสูง สิ้นเปลืองพลังงาน และที่สำคัญไม่สามารถนำโปรตีนมาใช้ประโยชน์ได้

การนำโครเมียมกลับมาใช้ใหม่ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยอากาศ โดยใช้ด้วยออกซิไดซ์ที่แรง เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้คลอรีน ในสภาวะที่เป็นด่างเล็กน้อย สามารถทำได้ไม่สมบูรณ์ เป็นวิธีที่แพงมาก มีโปรตีนละลายผสมอยู่ในสารละลายโครเมียม และยังต้องเพิ่มขั้นตอนการรีดิวซ์โครเมียม(VI) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา ให้เป็นโครเมียม (III) ด้วย

การย่อยสลายเศษหนังด้วยกรด เช่น กรดซัลฟุริก แม้ว่าจะเป็นวิธีที่ไม่แพง แต่มีข้อจำกัดคือมีโครเมียมเพียงบางส่วนเท่านั้นที่ละลายออกมาจากเศษหนัง และยังคงมีโปรตีนอยู่ในสารละลายโครเมียม สารละลายที่ได้สามารถใช้เป็นสารฟอกทับ (Retanning agent) ส่วนกรดอะมิโน

สามารถนำมาใช้เติมในอาหารสัตว์ได้ นอกจากนี้สารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย จะสามารถใช้เป็น fat liquors, surfactants หรือ fillers ในกระบวนการผลิตหนังฟอกได้

การย่อยสลายเศษหนังด้วยด่าง เช่น แคลเซียมหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีประสิทธิภาพมากกว่า จะทำให้เกิดตะกอนโครเมียมไฮดรอกไซด์ ส่วนสารละลายไฮโดรไลเสตโปรตีนจะนำไปกำจัดเกลือโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ หรือใช้เรซิ่นแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange resin)

การบำบัดเศษหนังที่มีโครเมียม โดยการใช้เอนไซม์แอลคาไลน์โปรติเอส มีข้อได้เปรียบคือ ใช้อุณหภูมิไม่สูง ใช้ระยะเวลาสั้นโดยให้ pH ของปฏิกิริยาอยู่ในช่วง 8.3-10.5 เพื่อป้องกันการละลายของโครเมียม โดยจะแยกโครเมียมไฮดรอกไซด์ ออกจากสารละลายโปรตีนโดยการกรอง ทั้งโครเมียมและโปรตีนสามารถนำกลับไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น นำกากตะกอนโครเมียม (chrome cake) ไปใช้ในกระบวนการฟอกหนัง โดยการละลายตะกอนด้วยกรดซัลฟิวริก ส่วนโปรตีนที่ได้สามารถนำไปทำอาหารสัตว์หรือทำปุ๋ยก็ได้

หลักการบำบัดเศษหนังที่มีโครเมียมด้วยเอนไซม์ โดยอาศัยการเตรียมให้คอลลาเจนเสียสภาพทางธรรมชาติ (denature) ในสารละลายด่าง ที่อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสม ด่างที่ใช้ ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือ แมกนีเซียมออกไซด์ ชนิดเดียวหรือรวมกับด่างอื่น เพื่อปรับให้มี pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แล้วจึงเติมเอนไซม์ลงไป ซึ่งเป็นการย่อยสลายเศษหนังขั้นตอนเดียว (one step process) ต่อมาได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาการนำกลับโปรตีนโดยการย่อยสลายแบบ 2 ขั้นตอน (two step process) ในขั้นตอนแรกจะย่อยด้วยด่าง จะได้โปรตีนเจล (gelable protein) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูง แล้วแยกเอาเศษหนังส่วนที่ไม่ถูกย่อย มาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ โปรติเอสในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งจะได้โปรตีนโมเลกุลเล็ก

ปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์ได้ขยายตัวสูงขึ้น วัตถุดิบที่จะนำมาทำอาหารสัตว์ก็จะหายากและไม่เพียงพอ เนื่องจากอาหารโปรตีนบางชนิด เช่น ปลาป่น และกากถั่วเหลืองจะมีน้อยในบางฤดูกาล

ทำให้ราคาอาหารสัตว์สูงขึ้น จึงได้มีความพยายามที่จะหาแหล่งวัตถุดิบใหม่ๆ เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์ เศษหนังจากโรงงานฟอกหนังจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เนื่องจากเศษหนังมีปริมาณมากและสม่ำเสมอตลอดทั้งปี และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากปริมาณการบริโภคเนื้อสัตว์และความต้องการผลิตภัณฑ์เครื่องหนังเพิ่มขึ้น และที่สำคัญคือเศษหนังเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่มีโปรตีนสูง หากสกัดแยกโครเมียมออกไปได้ จะสามารถนำโปรตีนนั้นกลับมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น การนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์

โครเมียม

โครเมียมเป็นโลหะทรานซิชัน มีน้ำหนักโมเลกุล 51.9961 เลขอะตอม 24 จุดหลอมเหลว 1857^{o}c ความหนาแน่น 7.19 g/cm^{3} สัญลักษณ์ Cr สารประกอบโครเมียมมีเลขออกซิเดชั่นหลายค่าตั้งแต่ +2 จนถึง +6 ที่สำคัญได้แก่ Cr^{3+} และ Cr^{6+} สารประกอบของโครเมียมส่วนใหญ่อยู่ในรูปออกไซด์ โครเมียมที่มีอยู่ในแหล่งธรรมชาติเป็น Cr (III) อยู่ในรูปของแร่โครไมต์ (Chromite;CrO_2^{-}) มีการนำสารประกอบโครเมียมไปใช้ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ อย่างกว้างขวาง ได้แก่ อุตสาหกรรมชุบโลหะ อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมก่อสร้าง อุตสาหกรรมสิ่งทอ และอุตสาหกรรมฟอกหนัง เป็นต้น แม้ว่าโครเมียมจะมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมต่างๆอย่างมาก แต่ก็ไม่อาจมองข้ามความเป็นพิษของโครเมียม ซึ่งจะมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม โดยจะมีผลกระทบต่อสุขภาพอนามัย ทั้งแบบเฉียบพลัน แบบเรื้อรัง และการกลายพันธุ์ รวมทั้งยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย

โครเมียม (VI) มีความเป็นพิษสูงกว่าโครเมียม (III) และในรูปอื่นๆ คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ได้กำหนดค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมให้มีปริมาณโครเมียม (VI) ได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอากาศมีฝุ่นของโครเมียม บริเวณที่ทำงานได้ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่ออากาศหนึ่งลูกบาศก์เมตร องค์การอนามัย

โลกได้กำหนดค่าโครเมียมทั่วไปไว้ว่า คนที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์สามารถรับโครเมียมเข้าในร่างกายได้ 50-70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ถ้ารับในปริมาณที่มากเกินกว่านี้ก็จะมีผลกระทบต่อตับ, ไต และต่อระบบเลือด ผลกระทบที่เกิดขึ้นแบบเฉียบพลัน ทำให้เกิดการอาเจียน อุจาระร่วง ตกเลือด และมีเลือดไหลเข้าสู่ระบบลำไส้ ทำให้เกิดการช็อคได้ ถ้าคนไข้ไม่เสียชีวิต คนไข้จะมีการตายของเนื้อเยื่อบริเวณตับและไต และมีระบบเลือดที่เป็นพิษ ส่วนผู้ที่ได้รับโครเมียมปริมาณไม่มากจะได้รับผลกระทบแบบเรื้อรัง บุคคลอาจรับโครเมียมได้ 2 ทาง คือ จากการสัมผัสกับโครเมียมโดยตรง ซึ่งโครเมียมสามารถทำลายผิวหนัง ทำให้เกิดแผลพุพอง และอีกทางหนึ่งก็คือการหายใจเอาไอของโครเมียมเข้าไป จะมีผลต่อปอด, ตับ, ไต, ระบบบลำไส้ และโดยเฉพาะผนังกั้นจมูกซึ่งจะสัมผัสกับโครเมียมโดยตรง อาจทำให้เป็นมะเร็งบริเวณนี้ได้ นอกจากนั้น ยังอาจทำให้เป็นโรคเยื่อจมูกอักเสบ โรคปอดและหลอดลมอักเสบ โครเมียมสามารถทำให้เกิดเป็นมะเร็งได้เฉพาะบริเวณผนังกั้นจมูกและที่ปอดเท่านั้น ส่วนบริเวณเนื้อเยื่ออื่นๆ ยังไม่มีรายงานว่าโครเมียมสามารถทำให้เกิดมะเร็งได้ นอกจากนี้ โครเมียมยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้ เนื่องจากโครเมียมทำปฏิกิริยากับอาร์เอ็นเอ (RNA) ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

องค์ประกอบของหนังสัตว์

หนังสัตว์เป็นผลิตผลพลอยได้จากโรงฆ่าสัตว์ ส่วนใหญ่เป็นหนังของโค กระบือ ซึ่งได้ชำแหละหนังแยกออกจากส่วนที่เป็นเนื้อ และนำไปหมักเกลือเพื่อรักษาสภาพหนังไม่ให้เน่าเปื่อยก่อนส่งไปโรงงานฟอกหนัง โดยทั่วไปหนังสัตว์ประกอบด้วยน้ำ 64% โปรตีน 33% ไขมัน 2% เกลือแร่ 0.5% และสารอื่นๆอีก 0.5% โดยโปรตีนในหนังสัตว์เกือบ 80-90 % เป็นโปรตีนคอลลาเจน (collagen) เคอราติน (keratin) อิลาสติน (elastin) อัลบูมิน (albumin) โกลบูโคลิน (globucolin) และมูโคโปรตีน (mucoprotein) ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสัตว์ด้วย โปรตีนคอลลาเจนในหนังสัตว์เป็นคอลลาเจนชนิด I (type I) ประกอบด้วยโซ่โพลีเปปไทด์ชนิดวนซ้าย 3 โซ่ มาพันกันเป็นโครงสร้าง

เกลียวสาม (triple helix structure) แบบวนขวา (right handed super helix) ซึ่งมีความแข็งแรง ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถดูดน้ำเข้าไว้ในโมเลกุลได้ ทำให้แผ่นหนังพองตัวขึ้น ถ้านำไปต้มให้ความร้อนโมเลกุลคอลลาเจนจะสลายตัวได้เป็น เจลาติน (gelatin)

ความรู้เกี่ยวกับการฟอกหนัง

หลักการของการฟอกหนังคือ การใช้ประโยชน์จากผิวหนังส่วนที่เรียกว่า คอเรี่ยม (corium) โดยใช้เคมีภัณฑ์ไปทำปฏิกิริยากับคอลลาเจน (collagen) ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคอเรี่ยม (connective tissue corium) โปรตีนคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเส้นใย (fiber) สานกันเป็นโครงข่าย (network) เมื่อโปรตีนคอลลาเจนทำปฏิกิริยากับสารเคมีในกระบวนการฟอกหนัง จะสามารถเปลี่ยนหนังดิบ (hide) เป็นหนังฟอก (leather) ซึ่งสามารถเก็บได้นานและมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ดีขึ้น (สุวรงค์ วงษ์ศิริ, 2536) การเก็บรักษาหนังสัตว์ (curing and preservative) เพื่อไม่ให้หนังเน่าเสียในระหว่างการขนส่งมายังโรงงานฟอกหนัง จะใช้วิธีหมักเกลือ (salting curing) โดยการแช่หนังในน้ำเกลือที่มีเกลืออยู่ร้อยละ 30 ของน้ำหนักหนังดิบ

การฟอกหนังมีหลายประเภทโดยสามารถแบ่งตามประเภทของสารที่ใช้ฟอกออกเป็น 4 ประเภทหลักคือ 1) การฟอกด้วยฝาด (vegetable tannage) 2) การฟอกด้วยสารสังเคราะห์ "syntan" (synthetic tannage) 3)การฟอกด้วยแร่ธาตุ (mineral tannage) และ 4) การฟอกด้วยแอลดีไฮด์ (aldehyde tannage) (Sharphouse, 1989) ประเภทที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางคือการฟอกด้วยฝาดและการฟอกด้วยโครม (chrome tannage) ในการฟอกฝาดจะอาศัยสารสกัดแทนนินจากส่วนของพืช เช่น เปลือกไม้ ไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนในหนังสัตว์ การฟอกฝาดจะใช้ในการผลิตหนังที่ใช้ในงานหนัก (heavy leather) เช่น ทำพื้นรองเท้า เข็มขัด เป็นต้น ส่วนการฟอกโครม จัดเป็นการฟอกด้วยแร่ประเภทหนึ่ง ซึ่งจะอาศัยการทำปฏิกิริยาของโปรตีนคอลลาเจนกับสารประกอบของโครเมียม การฟอกโครมจะใช้เวลาสั้นกว่าการฟอกฝาด มักใช้ในการผลิตหนังที่ใช้

กับงานเบาๆ (light leather) เช่น กระเป๋าถือ ถุงมือ ใช้หุ้มเบาะเก้าอี้ หนังที่ฟอกโครมจะนุ่มและให้ความยืดหยุ่นดีกว่า สามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆได้หลายประเภท

กรรมวิธีการฟอกหนังเริ่มจากขั้นตอนเตรียมการฟอก โดยจะนำหนังหมักเกลือมาล้างเกลือและสิ่งสกปรกออก (washing) แล้วคัดแยกหนัง (sorting and trimming) เพื่อคัดแยกเอาหนังส่วนที่ไม่ต้องการ เช่น หาง หู และหนังที่มีตำหนิออก แล้วนำไปล้างและแช่น้ำ (washing and soaking) เพื่อให้คืนสภาพธรรมชาติของหนังดิบ ต่อจากนั้นนำไปกำจัดขน โดยแช่น้ำปูนขาว (liming and unhairing) ในขั้นตอนนี้อาจมีการผสมโซเดียมซัลไฟด์ (Na_2S) ไดเมทิลเอมีน (dimethylamine) เพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยาด้วย หลังจากนั้นนำไปล้างและถากหนังปูน (lime fleshing) เพื่อกำจัดไขมันและพังผืดออก แล้วนำไปผ่าเพื่อให้ได้ความหนาตามต้องการ (lime splitting) และเล็ม (trimming) แล้วจึงนำไปล้างปูนออก และทำให้หนังนุ่มขึ้น (deliming and bating) ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการฟอกหนังประเภทต่างๆต่อไป โดยหนังที่ล้างปูนแล้วจะนำไปดองกรด (pickling) เพื่อทำลายฤทธิ์ด่าง และปรับให้มี pH ตามต้องการ แล้วเติมสารฟอกโครม(chrome) เช่น chromic sulphate ($Cr_2(SO_4)_3$) , potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) เพื่อเปลี่ยนสภาพหนังไม่ให้เน่าเปื่อย หนังที่ฟอกได้ในขั้นนี้จะมีสีฟ้า เรียกว่าหนัง “wet blue” หลังจากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการผ่าหนัง (splitting) และขั้นตอนการขูดบาง (shaving) เพื่อปรับให้หนังมีความหนาตามต้องการ แล้วจึงนำไปฟอกทับ (retanning) ย้อมสี (dyeing) ใส่น้ำมัน (fat liquoring) และนำไปอบแห้ง (drying) แล้วทำให้หนังนุ่ม (stacking) ทำการขัดผิว (buffing) และตกแต่ง (finishing) แล้วจะได้หนังฟอกสำเร็จรูป (leather)

กระบวนการฟอกหนังมีเศษวัสดุเหลือทิ้ง คือ เศษหนัง สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ 1. เศษหนังก่อนผ่านกระบวนการฟอก หรือ “เศษหนังกาว” และ 2. เศษหนังหลังผ่านกระบวนการฟอก ในส่วนของเศษหนังกาวสามารถนำไปผลิตอาหารสัตว์ ซึ่งมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 70

(อำพล เอื้ออารีและโชติ วิมลเฉลา, 2525) นอกจากนี้ยังสามารถนำไปผลิตกาวปุ๋ยหมัก และเจลาตินได้

เศษหนังกาว แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

1. เศษหนังกาวชั้น 1 หมายถึง เศษหนังที่ได้มาจากขั้นตอนการผ่าหนัง (splitting) เป็นหนังท้องที่ถากเอาพังผืด ไขมันออกแล้วเหลือแต่โปรตีนคอลลาเจนเท่านั้นสามารถนำไปผลิตเจลาตินได้ดี
2. เศษหนังกาวชั้น 2 หมายถึง เศษหนังที่ได้จากการเฉือนส่วนหู หัว หาง และเล็บออกก่อนนำเข้าสู่กระบวนการฟอก มักเรียกว่า “เศษหนังกาวดิบ”
3. เศษหนังกาวชั้น 3 หมายถึง เศษหนังที่ได้มาจากการถาก (fleshing) จะเป็นพวก adipose tissue และส่วนที่ติดกับ corium ซึ่งจะมีทั้งไขมันและโปรตีนผสมกันอยู่ เศษหนังกาวชั้นนี้ในต่างประเทศเรียก “glue stock”

สำหรับเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครม ซึ่งมีกว่าร้อยละ 20 ของปริมาณหนังดิบทั้งหมด (Othmer,1981) โดยได้มาจากขั้นตอนต่างๆ หลังการฟอกโครม เช่น การขูดบาง (shaving) การเล็ม (trimming) การขัดผิว (buffing) โดยประมาณครึ่งหนึ่งของเศษหนังที่ผ่านการฟอกโครมนี้จะมาจากขั้นตอนการขูดบาง ที่เรียกว่า “chrome shavings” ซึ่งจัดเป็นขยะอันตราย เนื่องจากมีโครเมียมเป็นส่วนประกอบอยู่ถึง 1-8% ของน้ำหนักแห้ง (Zhuang,1992) ซึ่งไม่สมควรนำไปทิ้งรวมกับขยะทั่วไป หรือนำไปใช้ประโยชน์โดยตรง ดังนั้นจึงควรหาวิธีที่เหมาะสมในการจัดการกับเศษหนังเหล่านี้ เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต (recycling) เช่น ผลิตแผ่นหนังไฟเบอร์ (leather fiberboard) รวมทั้งการนำโครเมียมและโปรตีนกลับมาใช้ประโยชน์ ในการฟอกหนังจะมีเศษหนังเหลือทิ้งจากขั้นตอนต่างๆเป็นจำนวนมาก แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณกากของเสียจากขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการฟอกหนัง

ขั้นตอนในการฟอกหนัง	กากของเสีย (กิโลกรัมต่อ 1,000 กิโลกรัมของวัตถุดิบ)
Trimmings	120
Fleshings	70-230
Chrome shavings	99
Chrome split waste	115
Buffing dust	2
Finished trimmings	32
Solids in treatment sludge	120 (corresponding to 250-1,800 kg wet sludge resulting from 75% removal efficiency)
Total	688-848

ที่มา: Department of Environment, UK (UNEP-IE/PAC,1994)

การใช้ประโยชน์จากเศษหนัง

เนื่องจากมาตรการในการลดผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อม จึงได้พยายามคิดค้นวิธีกำจัดและการใช้ประโยชน์เศษหนังดังกล่าว โดยการกำจัดเศษหนัง การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดจนการนำโครเมียมและโปรตีน กลับมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิต (recycle)

การใช้ประโยชน์จากเศษหนังโดยตรง โดยไม่ผ่านกระบวนการกำจัดโครเมียม เช่น การนำ leather scraps ไปทำปฏิกิริยากับ โพลีไอโซไซยาเนต เพื่อผลิตฉนวนไฟฟ้าและวัสดุก่อสร้าง การนำshaving ไปผสมกับ hydrophilic acrylate เพื่อผลิตแผ่นไฟเบอร์ (fibrous sheet) หรือผสมกับไวนิลอะซิเตทเพื่อผลิตพื้นรองเท้า รวมทั้งใช้แทนกระดาษ ในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ

การเผาเศษหนัง ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้ได้ขี้เถ้าของโครเมียมสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเกลือไบโครเมท หรือเป็นแหล่งโครเมียม

การนำกลับโครเมียมโดยอาศัย ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยอากาศ โดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้คลอรีน ในสภาวะที่เป็นด่างน้อยทำปฏิกิริยากับเศษหนัง เพื่อออกซิไดซ์โครเมียม (III) ในรูปโครเมตไปเป็น โครเมียม (VI) ในรูป peroxochromate แต่ข้อเสียก็คือ โครเมียม (VI) ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา ทำให้ต้องเพิ่มขั้นตอนการรีดิวซ์ (Cot และคณะ, 1991)

การย่อยสลายเศษหนังด้วยกรดซัลฟุริก จะได้สารละลายที่มีโครเมียมอยู่ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นสารฟอกทับ (retanning agent) ส่วนกรดอะมิโนสามารถนำมาใช้เติมในอาหารสัตว์ได้ นอกจากนี้สารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย จะสามารถใช้เป็น fat liquors, surfactants และใช้เป็น fillers ในกระบวนการผลิตหนังฟอก ส่วนการใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะคริลิก (acrylic acid) ในการเตรียม โอลิโกเปปไทด์ (Oligopeptide) โดยจะทำให้ไฮโดรไลเสตโปรตีนเกิดโพลิเมอร์ของไวนิลโพลิเมอร์ เพื่อใช้เป็น fillers สำหรับแผ่นหนัง (leathers)

การย่อยสลายเศษหนังด้วยด่าง เพื่อแยกตะกอนโครเมียมออกจากสารละลายโปรตีนโดยใช้ การต้มกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะได้ตะกอนโครเมียมไฮดรอกไซด์ แต่ถ้าใช้ด่างแอมโมเนีย ตะกอนแอมโมเนียมซัลเฟตที่ได้จะสามารถใช้ทำปุ๋ยได้ เมื่อนำตะกอนโครเมียมไปละลายด้วยกรดซัลฟิวริกจะได้สารละลายโครเมียมซัลเฟต นำไปใช้ในขั้นตอนการดองกรดได้ (pickling) ได้

เศษหนังมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบกว่าร้อยละ 70 หากสามารถนำโปรตีนกลับมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ได้ จะเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญมากแห่งหนึ่ง โดยส่วนมากการผลิตอาหารสัตว์วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนควรมีโปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ20 ในการใช้โปรตีนจากเศษหนังเพื่อเป็นอาหารสัตว์ นอกจากจะต้องคำนึงถึงปริมาณโปรตีนแล้วยังต้องคำนึงถึงกรดอะมิโนที่จำเป็น

สำหรับสัตว์ด้วย กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับสัตว์มีอยู่ทั้งหมด 10 ตัว ซึ่งสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ยกเว้นพวกสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารช่วยสังเคราะห์ (พันทิพา พงษ์เพียจันทร์, 2538) กรดอะมิโนจำเป็นทั้ง 10 ตัวแสดงในตารางที่ 2

การไฮโดรไลซ์โปรตีน (protein hydrolysis) ด้วยกรดหรือด่าง (acid or alkali hydrolysis) หรือ สภาวะที่รุนแรง หรือการใช้ความร้อนสูง จะมีผลทำให้การนำไปใช้ของโปรตีน (protein availability) ลดลง (อภิศักดิ์ จงเจริญใจ, 2538) ดังนั้นการไฮโดรไลซ์โปรตีนในเศษหนังเพื่อนำไปผลิตอาหารสัตว์จึงพิจารณาการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ (enzyme hydrolysis) โดยจะใช้โปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzyme) หรือโปรติเอส (protease) ซึ่งมีความจำเพาะ (specificity) ในการย่อยสลายเพื่อสกัดโครเมียมออกไปโดยไม่ทำให้โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งจะทำให้ได้โปรตีนที่มีความบริสุทธิ์สูง และอาจสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับการผลิตหรือเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ปุ๋ย เครื่องสำอาง เป็นต้น นอกจากการใช้ประโยชน์จากโปรตีนแล้วตะกอนของโครเมียมยังกลับมาใช้ในกระบวนการฟอกหนังได้อีก เช่น ใช้ในการดองหนัง (pickling) หรือการฟอกโครม (tanning)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 กรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acids) สำหรับสัตว์

กรดอะมิโน	ตัวย่อ
Threonine	Thr
Tryptophan	Trp
Valine	Val
Arginine	Arg
Histidine	His
Isoleucine	Ile
Leucine	Leu
Lysine	Lys
Phenylalanine	Phe
Methionine	Met

วัตถุดิบอาหารสัตว์

วัตถุดิบที่เป็นแหล่งของโปรตีนสำหรับการผลิตอาหารสัตว์สามารถแบ่งเป็น5แหล่งใหญ่ๆคือ

1. โปรตีนจากพืช ได้แก่ ธัญพืช เมล็ดพืช ใบพืชตระกูลถั่ว และเศษวัสดุการเกษตร เช่น กากถั่วเหลือง กากเมล็ดฝ้าย กากถั่วลิสง กากเมล็ดทานตะวัน มันสำปะหลัง ใบกระถิน ข้าวโพด
2. โปรตีนจากสัตว์ เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตของสัตว์ที่มนุษย์ไม่บริโภค เช่น หางนม ปลาป่น เลือดป่น กระดูกป่น เปลือกกุ้ง หอย และปู ขนไก่ป่น

3. โปรตีนจากสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว (single cell protein) เช่น ยีสต์

4. Nonprotein nitrogen (NPN) เช่น ยูเรีย

5. Synthetic amino acid (กรดอะมิโนสังเคราะห์) เช่น L-Lysine ,DL-Methionine

การนำเอาโปรตีนจากพืชมาใช้แม้ว่าจะราคาถูก แต่จะมีข้อจำกัด เนื่องจากพืชเหล่านั้นยังคงมีสารที่เป็น Anti-nutritional factors หรือ Toxic substances ซึ่งบางตัวจะยับยั้งการย่อยได้ของสัตว์ ทำให้สัตว์โตช้าแคระแกร็น ให้ผลผลิตลดลง และถ้าได้รับมากเกินไป อาจทำให้สัตว์ตายได้ การใช้ความร้อนอาจทำลายสารพิษเหล่านั้นได้แต่ก็จะมีผลต่อการนำไปใช้ได้ของโปรตีนลดลง นอกจากนี้การใช้โปรตีนจากพืชที่ให้พลังงานต่ำจะทำให้อัตราการแลกเนื้อเลวลง

การใช้เศษหนังเพื่อการผลิตอาหารสัตว์ พิจารณาในแง่แร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับสัตว์ ซึ่งมีประมาณ 15-16 ธาตุ (ทวี แก้วคง, 2527) แร่ธาตุเป็นสารอาหารที่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ แร่ธาตุทั้งหมดจึงต้องได้รับจากอาหาร โดยทั่วไปจะแบ่งแร่ธาตุตามปริมาณที่มีอยู่ในร่างกายสัตว์ออกเป็น 2 พวก คือ

1. Macroelements คือ แร่ธาตุที่มีอยู่มากในร่างกายสัตว์ ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม โซเดียม คลอรีน กำมะถัน และแมกนีเซียม

2. Trace elements คือ แร่ธาตุที่มีอยู่น้อยในร่างกายสัตว์ แต่ก็มีความจำเป็นต่อสัตว์เช่นกัน ได้แก่ ธาตุเหล็ก สังกะสี ทองแดง แมงกานีส ไอโอดีน โคบอลท์ โมลิบดินั่ม ซีลีเนียม และโครเมียม

แม้ว่าโครเมียมจะเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต แต่มีเอกสารรายงานว่า โครเมียมเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับหนู เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์จากกลูโคสเป็นไปตามปกติ เนื่องจากโครเมียมทำหน้าที่เป็น cofactor ของฮอร์โมนอินซูลิน นอกจากนั้นโครเมียมอาจมีหน้าที่ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและไขมันด้วย พบว่าถ้าอาหารหนูมีโครเมียม 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนัก

สด) จะทำให้การเจริญเติบโตปกติ และถ้าเสริมโครเมียมอะซิเตต (chromium acetate) ลงไปอีก จะทำให้การเจริญเติบโตเร็วขึ้น (ศรีสกุล วรจันทรา และรณชัย สิทธิไกรพงษ์, 2539) แต่ถ้าให้โครเมียมในอาหารในระดับ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) จะทำให้การเจริญเติบโตลดลง ตับและไตจะถูกทำลาย ในสัตว์น้ำนั้น โครเมียมเป็นธาตุที่ทำหน้าที่ช่วยฮอร์โมนอินซูลินในการใช้กลูโคส ช่วยลดโคเลสเตอรอล ช่วยในการสร้างโปรตีนและกระตุ้นการสร้างไขมัน ยังไม่มีรายงานอาการขาดในสัตว์น้ำ

เศษหนังที่มีโครเมียมเป็นองค์ประกอบ (chrome-containing leather) สามารถนำไปสกัดโครเมียมออกได้ โดยอาศัยความสามารถในการละลาย (solubility) ของโปรตีน ในสารละลายของเกลืออัลคาไลน์เอิร์ธ (alkaline-earth) และอาศัยคุณสมบัติการตกตะกอนของโครเมียมในสภาวะด่าง เนื่องจากโปรตีนจะละลายได้ดีในสารละลายที่มีเกลือเล็กน้อย ที่เรียกว่าปรากฏการณ์ "salting in" ส่วนโครเมียม (III) สามารถตกตะกอนได้ที่สภาพเป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย และจะละลายได้น้อยที่สุดคือ 0.1มิลลิกรัมต่อลิตร ที่pHประมาณ 8.5 (ศศิธร เจริญวิเศษศิลป์และคณะ, 2536) ในช่วง pH 9-11 โครเมียมจะยังคงสภาพเป็นของแข็งที่ไม่ละลายในรูปของโครเมียมไฮดรอกไซด์ [$Cr(OH)_3$] และที่ pH สูงกว่า 12 จะทำให้โครเมียมเปลี่ยนเป็นโครไมต์ (CrO_2^-) ที่สามารถละลายน้ำได้เช่นกัน (Zhuang,1992)

อำพล เอื้ออารีและโชติ วิมลเฉลา (2525) ศึกษาการบีบอัดเศษหนังกาว 3 ชั้น เพื่อกำจัดโซเดียม (Na_2S) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) ด้วยเครื่อง Thermal Hydraulic Press ภายใต้ความดันไอน้ำ 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (เกจ) จะสามารถนำกลับโปรตีนได้กว่า 70% เศษหนังที่ผ่านการบีบอัดจะนำไปอบแห้งแล้วบดให้ละเอียดสำหรับใช้เป็นอาหารโปรตีนสำหรับสัตว์ได้ ส่วนของเหลวที่ออกจากเครื่องบีบอัดจะมีไขมัน สามารถแยกออกและนำไปใช้ในรูปไขมันดิบ (raw grease)

Taylor และคณะ (1992) ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนในเศษหนังด้วยเอนไซม์แอลคาไลน์โปรติเอส โดยการเตรียมตัวอย่างเศษหนังในปริมาณน้ำที่มากพอ ที่อุณหภูมิ 60-85°ซ และเติมเกลือแอลคาไลน์-เอิร์ธ และหรือเกลือแอลคาไลน์เพื่อปรับสารละลายให้อยู่ในช่วง pH 8-12 และเติม ALKALASE™ 3% โดยน้ำหนัก กวนของผสมเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ หลังจากนั้นแยกโปรตีนไฮโดรไลเสตออกจากตะกอนโครเมียม พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้มีโครเมียมอยู่น้อยกว่า 1 ppm และไม่มีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดอะมิโนเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนของคอลลาเจน

Taylor และคณะ (1993a) แสดงผลการสกัดโปรตีนเจลจากเศษหนังโดยใช้เอนไซม์ ALKALASE™ 0.1% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส โดยการไฮโดรไลซ์ในสารละลายของเกลือ MgO ความเข้มข้น 3% ร่วมกับ NaOH ความเข้มข้น 3% จะสามารถนำโปรตีนกลับคืนมาได้ 47% และ 65% ตามลำดับ

Taylor และคณะ (1994) แสดงผลการสกัดโปรตีนจากเศษหนังแบบ 2 ขั้นตอน (Two step process) โดยเอนไซม์ ALKALASE™ 0.1%โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 70-72 องศาเซลเซียส โดยการไฮโดรไลซ์ในสารละลายของเกลือ MgO ความเข้มข้น 6% และ MgO ความเข้มข้น 4% ร่วมกับ NaOH, KOH, Na_2CO_3 หรือ K_2CO_3 ความเข้มข้น 1% หรือ MgO ความเข้มข้น 3% ร่วมกับ NaOH, KOH, Na_2CO_3 หรือ K_2CO_3 ความเข้มข้น 2% พบว่าโปรตีนเจลที่ได้จากขั้นตอนแรกเมื่อใช้ MgO 6% จะมีโครเมียม 55 ppm และปริมาณโครเมียมจะสูงขึ้นเมื่อใช้ NaOH หรือ KOH คือมีโครเมียมอยู่ในช่วง 67-126 ppm แต่การใช้ Na_2CO_3 หรือ K_2CO_3 ไม่ให้ผลแตกต่างจากการใช้ MgO เพียงอย่างเดียว และปริมาณโครเมียมในส่วนของโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้จากขั้นตอนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เมื่อใช้ MgO 6% มีค่า 5 ppm และเมื่อใช้ MgO 3% ร่วมกับ NaOH หรือ

KOH 2% จะมีโครเมียมอยู่ 14 และ 10 ppm ตามลำดับ และการใช้ MgO เพียงอย่างเดียว ให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้ MgO ร่วมกับ Na_2CO_3 หรือ K_2CO_3

Alves Dos Reis และคณะ (1997) ได้ทำการสกัดโครเมียมออกจากเศษหนังฟอกโดยใช้แคลเซียมออกไซด์ที่อุณหภูมิ 80 ^{o}C พบว่าเหลือโครเมียมในสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสตน้อยกว่า 0.1 ppm ซึ่งในการทดลองนี้ใช้อัตราส่วนของหนังฟอกต่อน้ำกลั่นและแคลเซียมออกไซด์คือ 1:10:0.08 – 0.1 จะได้โปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งประกอบด้วย crude protein 80% และกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) 25% เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเสตไประเหยน้ำออกจนแห้งและนำไปเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงไก่ พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารชนิดนี้จะมีการเจริญเป็นปกติ

Tingda และคณะ (1992) ทำการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนคอลลาเจนผง จากเศษหนังฟอกโครมที่มีส่วนประกอบของ crude protein 500 กรัมต่อกิโลกรัม และกรดอะมิโน 18 ชนิด ซึ่งในโปรตีนผงพบว่ามีโครเมียม (III) 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและพบว่าไม่มีโครเมียม (VI) จากการทดลองได้ค่า total utilisation ratio of actual amino acid (T_{AAA}) ของโปรตีนผงประมาณ 68.7 % เมื่อทดลองเลี้ยงในไก่ตัวผู้จำนวน 6 ตัว โดยใช้วิธี total metabolisable energy (TME) biological evaluation และค่าการย่อยได้ของ dry matter, crude protein, ash และ gross energy (GE) คือ 76.6%, 84.6%, 49.8% และ 77.0% ตามลำดับ เมื่อทำการทดลองในหมูตัวผู้ที่ถูกตอนแล้ว และเมื่อทดลองเลี้ยงไก่อายุ 49 วัน ด้วยอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนผง 20 กรัมต่อกิโลกรัม เปรียบเทียบกับอาหารควบคุม พบว่าได้ค่าน้ำหนักเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 40.2 และ 39.8 กรัมตามลำดับ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าเท่ากันทั้งในอาหารที่มีโปรตีนผงและในอาหารควบคุม

Nogami และคณะ (2000) ได้ทำการทดลองใช้โปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมที่มีโครเมียมเป็นส่วนประกอบในอาหารทดลองเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพื่อดูการสะสมและผล

Nogami และคณะ (2000) ได้ทำการทดลองใช้โปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมที่มีโครเมียมเป็นส่วนประกอบในอาหารทดลองเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพื่อดูการสะสมและผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา โดยวัดจากขนาด, น้ำหนัก, และการสะสมโครเมียมในร่างกายเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีระยะเวลาในการเลี้ยงตั้งแต่ 31 ม.ค. 2540 จนถึง 31 มี.ค. 2542 ทำการวัดผลการทดลองทุก 60 วันของการเลี้ยงปลา โดยดูขนาด น้ำหนัก และวัดการสะสมของโครเมียมในน้ำ อุจจาระ กล้ามเนื้อ และลำไส้ ด้วยวิธี atomic absorption spectroscopy ในอาหารสูตรเริ่มต้นนั้นจะมีความเข้มข้นโครเมียมเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นเพิ่มเป็น 6.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือน และมีความเข้มข้นของโครเมียมสุดท้ายเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเวลาผ่านไป 16 เดือน ซึ่งผลการทดลองนั้นสามารถสังเกตความแตกต่างของขนาดและน้ำหนักของปลาที่เลี้ยงในอาหารทดลองและชุดควบคุมได้อย่างเด่นชัดเมื่อเวลาผ่านไป 16 เดือน และไม่พบความเป็นพิษหรือการตายของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยโครเมียมจะมีการสะสมมากที่สุดในลำไส้ของปลา

ปลาดุกลูกผสม

จากความสำเร็จของกรมประมงในการผสมข้ามสายพันธุ์ปลาดุก ทำให้ได้ปลาดุกลูกผสมชนิดใหม่เกิดขึ้นระหว่างแม่พันธุ์ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) กับพ่อพันธุ์ปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*) ลูกผสมที่ได้เรียกกันทั่วไปว่าปลาดุกลูกผสม ปลาดุกบิ๊กอุย หรือปลาดุกอุยเทศ ปลาดังกล่าวได้รับการยอมรับและเป็นที่นิยมของผู้เลี้ยงเป็นอย่างมากเพราะเลี้ยงง่าย โตเร็ว รสชาดน่ารับประทาน เกษตกรจึงสนใจนำมาเลี้ยงทดแทนปลาดุกด้านและปลาดุกอุยมากขึ้น ด้วยคุณสมบัติพิเศษของปลาดุกลูกผสมที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำและเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่จำกัด ปลาดุกจึงได้ชื่อว่าเป็นปลาชนิดหนึ่งที่สามารถเลี้ยงได้ในความหนาแน่นสูงมาก ใน

พื้นที่ 1 ตารางเมตรสามารถปล่อยลูกปลาดุกขนาด 2-3 เซนติเมตร ได้สูงถึง 60-300 ตัว ขึ้นอยู่กับปริมาณและราคาของลูกปลารวมทั้งผลผลิตที่ตั้งไว้ในการเลี้ยงปลาดุก โดยทั่วไปสามารถเลี้ยงได้ปีละ 2 ครั้งๆละ 3-5 เดือน เพื่อเลี้ยงปลาให้ได้ขนาดตัวละ 120-200 กรัม การตายซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากโรคและคุณภาพของอาหารจะเป็นตัวกำหนดผลผลิตซึ่งแปรผันระหว่าง 3-12 กิโลกรัมต่อตารางเมตรในการเลี้ยงแต่ละครั้ง

เนื่องจากปริมาณและคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาดุกเป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดผลผลิตที่ได้ ผู้เลี้ยงปลาดุกที่ใช้อาหารคุณภาพดีมีสารอาหารครบถ้วนจึงมักประสบความสำเร็จและได้ผลผลิตปลาดุกสูง อย่างไรก็ตามอาหารที่คุณภาพดี เช่น อาหารเม็ดลอยน้ำสำเร็จรูป มักมีราคาแพง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้นราคาปลาดุกและราคาอาหารจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดกำไรหรือขาดทุน แต่เนื่องจากราคาปลาแปรผันขึ้นลงตามกลไกของตลาด การควบคุมราคาจึงทำได้ยาก ในขณะที่ราคาอาหารปรับขึ้นลงได้ตามวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ จึงมีความเป็นไปได้มากกว่าในการลดต้นทุนค่าอาหารลง โดยการปรับวัตถุดิบที่ใช้ในสูตรอาหารให้มีราคาลดลงแต่ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

ลักษณะชีววิทยาบางประการ

ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*, Gunther) เป็นปลาน้ำจืดพื้นบ้านของไทยชนิดไม่มีเกล็ด รูปร่างเรียวยาว มีหนวด 4 คู่ ที่ริมฝีปาก ผิวหนังมีสีน้ำตาล เนื้อมีสีเหลือง รสชาดอร่อยนุ่มนวล ปลาดุกอุยเป็นปลาที่อาศัยอยู่ตามแม่น้ำ ลำคลอง หนองบึง ทั่วทุกภาคของประเทศไทย มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถอยู่ได้ในน้ำกร่อยเล็กน้อย แต่ปกติแล้วชอบอาศัยอยู่ในน้ำจืดสนิทและพื้นดินเป็นโคลนตม มีอวัยวะพิเศษช่วยในการหายใจเรียกว่า dendrite จึงสามารถอาศัยอยู่ได้อย่างหนาแน่นในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำ ชอบหาอาหารตามหน้าดิน มีตาเล็กผิดส่วนกับขนาดของตัว

แต่มีหนวดที่รับความรู้สึกได้ดี ดังนั้นจึงใช้หนวดมากกว่าใช้ตาเพื่อหาอาหารตามพื้นดิน ตามปกติปลาดุกมีนิสัยว่องไว ชอบกินอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ (วิทย์ ธารชลานุกิจและคณะ, 2525)

ปลาดุกเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาเป็นเวลานาน มีผู้เลี้ยงกันมากเนื่องจากทำรายได้ดี ปัจจุบันมีการนำแม่พันธุ์ปลาดุกอุยมาใช้ในการผสมกับพ่อพันธุ์ปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*, Burch 1822) กันมากเพื่อการผลิตปลาดุกลูกผสม หรือปลาดุกบิ๊กอุยหรือปลาดุกอุยเทศ ทำให้แม่พันธุ์ปลาขาดแคลน ราคาแม่ปลาจึงสูงขึ้น (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2533)

ปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*, Burch 1822) นอกจากชื่อวิทยาศาสตร์ที่กล่าวแล้วยังอาจใช้ชื่อ *Clarias lazera*, *C. sengalensis* และ *C. mossmbicus* (Teugels, 1984) จัดเป็นปลาในตระกูลแคทฟิช (catfish) มีชื่อสามัญว่า African Sharptooth Catfish มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปแอฟริกา เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็วมาก สามารถกินอาหารได้แทบทุกชนิด มีความต้านทานโรคและสภาพแวดล้อมสูง มีขนาดใหญ่เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ แต่ปลาดุกชนิดนี้มีเนื้อเหลวและมีสีซีดขาวไม่น่ารับประทาน (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์และคณะ, 2533) ปัจจุบันพบแพร่กระจายไปหลายประเทศ เป็นปลาที่นิยมเลี้ยงอีกชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะในประเทศเนเธอร์แลนด์ ผลผลิตในปี 1986 สูงถึง 1,000 เมตริกตัน (Boon และคณะ, 1987) ปลาดุกเทศถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในราวปี พ.ศ. 2529-2530 โดยเกษตรกรนำมาจากประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

ตารางที่ 3 ข้อแตกต่างระหว่างปลาดุกอุยและปลาดุกเทศ

อวัยวะ	ปลาดุกอุย	ปลาดุกเทศ
หัว	เล็กค่อนข้างรี ไม่แบน กะโหลกลื่น มีรอยบุ๋มตรงกลางเล็กน้อย ท้ายทอยโค้งมน	ใหญ่และแบน กระโหลกเป็นตุ่มๆ ไม่เรียบ มีรอยบุ๋มตรงกลางเล็กน้อย ท้ายทอยหยักแหลม 3 หยัก

ครีบหลัง	ปลายครีบสีเทาปนดำ	ปลายครีบสีแดง
ครีบอก	มีเงี่ยงเล็กสั้น แหลมคมมาก ก้านครีบแข็ง ยาวเกินหรือเท่ากับครีบอ่อน	มีเงี่ยงใหญ่สั้นนิ่ม ไม่แหลมคม และส่วนของครีบอ่อนหุ้มถึงปลายครีบแข็ง
ครีบหาง	กลมไม่ใหญ่มากนัก สีเทาปนดำ	กลมใหญ่ สีเทา ปลายครีบมีสีแดง และมีแถบสีขาวคาดบริเวณโคนครีบ
ลำตัวด้านบน	สีเหลืองอมเทา ขณะที่ยังเล็กจะมีจุดขาวเรียงขวางเป็นแถว	สีเข้มมีลายด่างคล้ายหินอ่อน สีน้ำตาลเข้ม
ลำตัวด้านล่าง	สีเหลือง	สีขาว

รายการอ้างอิง : มานพ ตั้งตรงไพโรจน์และคณะ , 2531 และ 2533

จากการศึกษาลักษณะรูปร่างและชีววิทยาของปลาดุกเทศ กลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด ได้ทำการเพาะพันธุ์จนประสบผลสำเร็จเป็นอย่างมากเมื่อใช้แม่พันธุ์ปลาดุกอุยผสมกับพ่อพันธุ์ปลาดุกเทศ ลูกผสมที่ได้มีลักษณะใกล้เคียงกับปลาดุกอุย มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว อีกทั้งทนทานต่อโรคและสภาพแวดล้อมได้ดี เลี้ยงง่าย เป็นที่นิยมบริโภคของประชาชน เนื่องจากมีรสชาติดี ราคาถูก

ปลาดุกลูกผสม (*C. macrocephalus x C. gariepinus*) มีลักษณะของปลาดุกอุยและปลาดุกเทศรวมกันอยู่ในตัว กล่าวคือเมื่อยังเล็ก มีลายจุดขาวเรียงขวางลำตัว ด้านบนเป็นแถวๆ แต่ละแถวห่างกันมากกว่าของปลาดุกอุย และจำนวนแถวน้อยกว่า เมื่อโตขึ้นลายจุดจะจางลง ลำตัวมีสีเทาอมเหลืองและมีลักษณะด่าง โคนครีบหางมีแถบสีขาวจางๆ ท้ายทอยแหลม ส่วนท้องใต้หัวถึงครีบท้องแนวกลางลำตัวเป็นสีขาว ด้านข้างเป็นสีเหลือง ครีบอกมีก้านครีบใหญ่แข็งแรงหนึ่งอัน ยาวไม่เกินก้านครีบอ่อน การเลี้ยงปลาดุกลูกผสมสามารถเลี้ยงได้ทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์

หัวถึงครีบท้องแนวกลางลำตัวเป็นสีขาว ด้านข้างเป็นสีเหลือง ครีบอกมีก้านครีบใหญ่แข็งแรงหนึ่งอัน ยาวไม่เกินก้านครีบอ่อน การเลี้ยงปลาดุกลูกผสมสามารถเลี้ยงได้ทั้งในบ่อดินและบ่อซีเมนต์ ซึ่งการเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ ควรปล่อยในอัตรา 50-70 ตัวต่อตารางเมตร ปลาจะเจริญเติบโตขนาดประมาณ 100-200 กรัมต่อตัว ในระยะเวลาเลี้ยงประมาณ 90 วัน โดยให้อาหารเม็ดไส้ไก่ หรือปลาเป็ดผสมเศษอาหาร (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์และคณะ, 2533) ส่วน พรรณศรี จริโมภาสและสุจินต์ หนูขวัญ (2535) ได้ศึกษาผลผลิตปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาด 50 ตารางเมตร ปล่อยลูกปลาขนาด 0.02 กรัม ในอัตรา 25, 50 และ 75 ตัวต่อตารางเมตร ให้อาหารเม็ดโปรตีนร้อยละ 30 ในเดือนแรก หลังจากนั้นให้อาหารเม็ดโปรตีนร้อยละ 25 ใช้เวลาเลี้ยงทั้งหมด 4 เดือน พบว่า การปล่อยในอัตรา 50 ตัวต่อตารางเมตร ให้ผลดีที่สุด กล่าวคือ ปลามีอัตราการเจริญโตสูงสุด มีอัตราการแลกเนื้อต่ำสุด มีอัตราการรอดตายสูงสุด ตลอดจนมีกำไรสุทธิสูงสุดอีกด้วย

การเจริญเติบโตของปลาสามารถตรวจสอบได้ด้วยการวัดขนาดและน้ำหนักในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง ซึ่งการเจริญเติบโตที่แท้จริงนั้นเป็นการเพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อโครงสร้าง เช่น กล้ามเนื้อ กระดูก รวมทั้งอวัยวะต่างๆ และเป็นการเพิ่มขึ้นของโปรตีน แร่ธาตุ และน้ำในร่างกาย การเจริญเติบโตตามปกติ ปลาจะต้องได้รับโปรตีน พลังงาน วิตามินและแร่ธาตุอย่างเพียงพอกับความต้องการภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม (Watanabe, 1988)

Lovell (1989) ได้แนะนำว่า อาหารปลาที่มีระดับโปรตีนต่ำสุดนั้นควรมีกรดอะมิโนที่จำเป็นในสัดส่วนที่สมดุลย์ ระดับโปรตีนที่ปลาต้องการเพื่อการเจริญเติบโตตามปกติโดยทั่วไปอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 25-50 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ชนิด ขนาดของปลา อุณหภูมิน้ำ พลังงานที่ไม่ใช่โปรตีนในอาหาร คุณภาพโปรตีนและอาหารธรรมชาติที่สัตว์จะได้รับ ซึ่งในช่วงแรกปลาต้องการอาหารที่มีโปรตีนสูงกว่าช่วงท้ายของการเจริญเติบโต ความต้องการโปรตีนของปลาเพิ่มมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นและจะน้อยลงเมื่ออุณหภูมิต่ำลง

ปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดที่ทำให้สัตว์น้ำที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ระดับโปรตีนที่ต้องการและเหมาะสมเพื่อการเจริญเติบโตของปลาดุกด้าน คือมีระดับโปรตีนร้อยละ 30 บัญญัติ ศิริธนาวงศ์ (2532) ได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 33.6 และมีอัตราส่วนโปรตีนต่อพลังงานเท่ากับ 84.4 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลลอรี่ มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด

Reis และคณะ (1989) ได้รายงานการศึกษาอัตราส่วนโปรตีนต่อพลังงานในอาหารปลาแชนเนลแคทฟิช (channel catfish) โดยให้อาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 26, 31, 35 และ 39 ตามลำดับ และมีระดับพลังงาน 91, 107, 120 และ 127 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลลอรี่ ตามลำดับ เป็นเวลา 123 วัน ผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 120 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลลอรี่ ทำให้ปลาทดลองมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว อัตราการแลกเนื้อต่ำ และมีอัตราส่วนโปรตีนต่อไขมันที่เพิ่มขึ้นในเนื้อปลาสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ส่วนกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนต่อพลังงานที่ระดับ 91 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลลอรี่ พบว่ามีการสะสมของไขมันในตัวปลาสูงที่สุดคือร้อยละ 9.3 และต่ำที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนต่อพลังงาน 120 มิลลิกรัมโปรตีนต่อกิโลแคลลอรี่คือร้อยละ 7.5 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

แร่ธาตุหลักที่ปลามีความต้องการในปริมาณมากได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม ส่วนแร่ธาตุอื่นซึ่งปลาต้องการในปริมาณเพียงเล็กน้อย เช่น ทองแดง ไอโอดีน เหล็ก แมงกานีส ซีลิเนียม และสังกะสี เป็นต้น ปลาแต่ละชนิดมีความต้องการแร่ธาตุในปริมาณแตกต่างกัน หากได้รับไม่เพียงพอกับความต้องการตามปกติ ปลาจะชะงักการเจริญเติบโต หรือแสดงอาการขาดธาตุอาหารให้เห็น Takeshi และคณะ (1988) ได้สรุปให้เห็นว่า ปลามีความต้องการฟอสฟอรัสและแมกนีเซียมในปริมาณค่อนข้างสูงกว่าแร่ธาตุอื่น ซึ่งในปลา commom carp, rainbow trout และ channel catfish ต้องการแร่ธาตุฟอสฟอรัสในปริมาณร้อยละ 0.6-0.7, 0.7-0.8 และ 0.33-

และแมกนีเซียมในปริมาณค่อนข้างสูงกว่าแร่ธาตุอื่น ซึ่งในปลา commom carp, rainbow trout และ channel catfish ต้องการแร่ธาตุฟอสฟอรัสในปริมาณร้อยละ 0.6-0.7, 0.7-0.8 และ 0.33-0.45 ตามลำดับ ส่วนแร่ธาตุแมกนีเซียมต้องการในปริมาณร้อยละ 0.04-0.05, 0.05-0.07 และ 0.04 ตามลำดับ สำหรับแร่ธาตุแคลเซียมนั้นแม้ว่าปลามีความต้องการในปริมาณมาก แต่เป็นการยากที่จะกำหนดได้ถูกต้องในอาหาร เนื่องจากปลาสามารถดูดซึมแคลเซียมจากส่วนที่ละลายอยู่ในน้ำผ่านเหงือกได้โดยตรง แต่ Halver (1989) รายงานว่า ปลาไหล ปลา rainbow trout และปลา catfish ต้องการธาตุในอาหารร้อยละ 0.34 หรือน้อยกว่า

ความสามารถในการใช้ประโยชน์ได้จากแร่ธาตุของปลาแตกต่างกันขึ้นกับ ชนิดของปลา แหล่งของวัตถุดิบ เช่นในปลาป่นที่ทำจากปลาไวท์ (white fish) พบว่าปลา rainbow trout ซึ่งมีกระเพาะ (stomach) ที่สามารถผลิตน้ำย่อยที่เป็นกรด (acidic gastric juice) สามารถใช้ประโยชน์แร่ธาตุฟอสฟอรัสได้ร้อยละ 60-72 ซึ่งดีกว่าปลา commom carp ซึ่งไม่มีกระเพาะ (stomachless) สามารถใช้ประโยชน์ได้ร้อยละ 10-26 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ประโยชน์ได้ของธาตุสังกะสีในปลา rainbow trout จะต่ำลงเมื่อปริมาณไตรแคลเซียมฟอสเฟส (tricalcium phosphate) ในอาหารสูงขึ้น และผลของไตรแคลเซียมฟอสเฟตต่อความสามารถในการใช้ประโยชน์ของธาตุสังกะสีสำหรับปลาที่ไม่มีกระเพาะ มีน้อยกว่าปลาที่มีกระเพาะ ส่วนแมกนีเซียมที่ได้จากปลาป่นที่ทำจากปลาไวท์ (white fish) นั้น ปลานำมาใช้ประโยชน์ได้ต่ำมาก (Takeshi และคณะ,1988) สำหรับในกากถั่วเหลือง ปลาแชนเนลฟิช (channel catfish) สามารถใช้ประโยชน์แร่ธาตุฟอสฟอรัสได้ร้อยละ 29

Jauhari (1989) ทำการเลี้ยงปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus x Clarias gariepinus*) ด้วยอาหารที่มีโปรตีน 2 ระดับคือร้อยละ 28.6 และ 34.9 แต่ละระดับประกอบด้วยพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 303, 340 และ 363 กิโลแคลลอรี่ต่ออาหาร 100 กรัม โดยใช้แป้งมัน

สำปะหลังเป็นแหล่งพลังงาน ผลการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานที่เพิ่มจนถึงระดับพลังงานที่ 340 กิโลแคลลอรี่ต่ออาหาร และถัดจากนั้นจะลดลงทุกระดับโปรตีน ที่ระดับโปรตีนร้อยละ 28.6 และระดับพลังงาน 340 กิโลแคลลอรี่ต่อ 100 กรัม การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มอื่นๆ การสะสมไขมันในซากจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับโปรตีนและไขมันในอาหารเพิ่มขึ้น

วิมล จันทรโรทัย (2538) ได้ศึกษาพบว่า ค่าประเมินของโปรตีนที่ทำให้ปลาเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 41% ในขณะที่ระดับโปรตีนที่ให้ผลตอบแทนทางเศรษฐศาสตร์สูงสุดอยู่ในช่วงระหว่าง 33-36% และโปรตีนที่ 33.2% เป็นจุดที่มีความเหมาะสมทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุด เมื่อคำนวณจากราคาอาหารปลาและราคาปลาในปัจจุบัน

วิมล จันทรโรทัย และคณะ (2538) ได้ศึกษาระดับโปรตีนที่ทำให้ปลาดุกลูกผสมเจริญเติบโตและใช้ประโยชน์จากอาหารสูงสุด โดยการใช้อาหารที่มีปลาป่นและกากถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมหลัก และมีระดับโปรตีนระหว่าง 25-45% มีพลังงานที่ย่อยได้เท่ากัน คือ 280 กิโลแคลอรี/100 กรัม เลี้ยงปลาดุกลูกผสมขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 2.5 กรัม ในตู้กระจกขนาดความจุ 80 ลิตร จำนวน 18 ตู้ โดยให้อาหารอย่างเต็มที่วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 40% มีการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเปลี่ยนเนื้อดีที่สุด ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 35 และ 40% มีค่าประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหารและค่าโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในตัวปลาสูงกว่า ($P<0.05$) ปลาในกลุ่มอื่นๆ และปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 25% มีเถ้าในตัวสูง แต่ปลาในกลุ่มอื่นๆ มีเถ้าในตัวไม่แตกต่างกัน

วิมล จันทรโรทัย และคณะ (2539) ได้นำอาหารทดลอง 4 สูตร ที่มีโปรตีน (35%) และพลังงานที่ย่อยได้ (310 kcal/100 g) คงที่ และใช้โปรตีนข้าวโพด (corn gluten meal) ทดแทนปลาป่นในสูตรด้วยปริมาณ 0%, 3.33%, 6.66% และ 10.00% (สูตรที่ 1-4 ตามลำดับ) ไปเลี้ยงปลาดุกลูก

ผสมเพื่อศึกษาผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตและการปรับสีผิวและเนื้อของปลา โดยการให้อาหารอย่างเต็มที่วันละ 2 ครั้ง แก่ปลาขนาดน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 1.56 ก. ซึ่งเลี้ยงไว้ในตู้กระจกขนาด 120 ลิตร จำนวน 12 ตู้ๆ ละ 15 ตัวเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 4 เจริญเติบโตดีกว่า ($P<0.05$) ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 อย่างไรก็ตามอัตราการกินอาหาร อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพของโปรตีน โปรตีนเพิ่มในตัวปลา อัตรารอด และองค์ประกอบของปลา ในแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 3 และ 4 มีผิวและเนื้อสีเหลืองคล้ายกับสีของปลาดุกอุยและอาหารที่มีโปรตีนข้าวโพดไม่มีผลทำให้สีของอวัยวะภายในของปลาผิดปกติแต่อย่างใด

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้โปรตีนข้าวโพดทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดุกลูกผสมในปริมาณ 3.33-10.00% ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของปลา แต่ปริมาณเหมาะสมที่ทำให้ปลามีผิวและเนื้อสีเหลืองคล้ายปลาดุกอุยเท่ากับ 6.66-10.00%

นอกจากนี้วิมล จันทรโรทัย และคณะ (2539) ยังได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารปลาดุกลูกผสมที่ผลิตโดยอ้างอิงข้อมูลความต้องการโภชนาการของปลากับอาหารปลาดุกสำเร็จรูป (ลอยน้ำ) จากโรงงานได้ดำเนินการเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการคัดเลือกตัวแทนอาหารสำเร็จรูปจากโรงงานจำนวน 4 ชนิด ซึ่งมีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 30% (COM 1- COM4) โดยนำไปเลี้ยงปลาดุกลูกผสมขนาด น.น.เฉลี่ย 15.7 กรัม ในถังศึกษาการย่อยจำนวน 12 ถังๆ ละ 10 ตัว โดยการให้อาหารลอยน้ำแต่ละชนิดแก่ปลาจำนวน 3 ถัง อย่างเต็มที่วันละ 1 ครั้ง ในตอนเช้า เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทุกเช้าของวันถัดไปทำการรวบรวมมูลปลาก่อนการให้อาหาร เพื่อนำไปศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีน ผลปรากฏว่า สัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนของอาหารทั้ง 4 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกันเท่ากับ 95% และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม อาหาร COM 2 ทำให้ปลามีน้ำหนักเพิ่มและอัตราแลกเนื้อดีที่สุด จึงนำไปใช้เปรียบ

เทียบกับอาหารที่ผลิตเองจำนวน 10 ชนิด ในการทดลองครั้งที่ 2 อาหารที่ผลิตประกอบด้วยวัตถุดิบอาหารที่หาง่าย อาหารสูตรที่ 1-4, 5-8, 9 และ 10 ใช้ปลาป่นเดนมาร์ก ปลาป่นไทย หัวไก่สด และปลาเป็ด เป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ตามลำดับ อาหารสูตรที่ 1, 2, 5 และ 6 ถูกกำหนดให้มีโปรตีน 35% สูตรที่ 3, 4, 7, 8, 9 และ 10 ถูกกำหนดให้มีโปรตีน 32% พลังงานที่ย่อยได้ในอาหารมี 2 ระดับ คือ 330 กิโลแคลอรี/100 กรัม (สูตรที่ 1, 2, 5, 6 และ 9) และ 290 กิโลแคลอรี/100 กรัม (สูตรที่ 3, 4, 7, 8 และ 10) นำอาหารแต่ละชนิดไปเลี้ยงปลาดุกลูกผสมขนาด 5-6 กรัม ที่เลี้ยงไว้ในตู้กระจก จำนวน 33 ตู้ๆ ละ 15 ตัว โดยให้อาหารอย่างเต็มที่ วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองสรุปได้ว่า อาหารทั้ง 10 สูตรที่ผลิตขึ้นเองทำให้ปลาเจริญเติบโตดีกว่าอาหารสำเร็จรูปจากโรงงาน (COM 2) ปลาดุกลูกผสมใช้ประโยชน์จากอาหารที่ผลิตขึ้นเองได้ดีกว่าหรือเทียบเท่าอาหารจากโรงงาน หากเปรียบเทียบระหว่างอาหารที่ผลิตเองทั้ง 10 สูตร พบว่า อาหารที่ใช้หัวไก่เป็นแหล่งโปรตีน (สูตรที่ 9) มีพลังงานสูงเกินไปทำให้ปลากินอาหารได้น้อยและเจริญเติบโตช้า ปลาดุกลูกผสมใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีปลาป่นไทยเป็นแหล่งโปรตีน (สูตรที่ 5-8) ได้น้อยกว่าอาหารที่มีปลาป่นนอกหรือปลาเป็ดเป็นส่วนผสม (สูตรที่ 1, 2, 3 และ 10) อาหารที่ใช้โปรตีนคุณภาพดีที่ระดับ 35% (สูตรที่ 1 และ 2) ทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ดีกว่าอาหารที่มีโปรตีน 32% (สูตรที่ 3 และ 4) ที่ระดับพลังงานเดียวกัน ส่วนที่ระดับโปรตีนเดียวกัน การเพิ่มพลังงานจาก 290 เป็น 330 กิโลแคลอรี/100 กรัม ไม่มีผลช่วยให้ปลาเจริญเติบโตมากขึ้น อย่างไรก็ตามอาหารที่มีโปรตีน 32% และพลังงาน 330 กิโลแคลอรี/100 กรัม (สูตรที่ 3) ทำให้ปลาเจริญเติบโตและใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดีเท่ากับอาหารที่มีโปรตีน 35% และพลังงาน 290 กิโลแคลอรี/100 กรัม (สูตรที่ 2) ดังนั้นหากคำนึงถึงผลของอาหารต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์อาหารของปลา อาหารสูตรที่ 1, 2, 3 และ 10 มีความเหมาะสมสำหรับปลาดุกลูกผสม เมื่อพิจารณาคุณภาพของตัวปลาร่วมด้วยอีกปัจจัยหนึ่ง อาหารสูตรที่ 2 และ 10 มีความเหมาะสมมากกว่า เพราะ

อาหารสูตรที่ 1 และ 3 ทำให้ไขมันในตัวปลาสูง แต่สำหรับผู้เลี้ยงปลาแล้วต้นทุนการผลิตเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดต่อการกำไรหรือขาดทุน และอาหารที่มีต้นทุนการผลิตต่ำ ได้แก่ อาหารสูตรที่ 1, 3 และ 10

เฉลียว บุญมั่น (2536) ได้ศึกษาการเติมมูลไก่ไข่แห้งลงในอาหารหลักที่ประกอบด้วยเคซีน เจลลาติน ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลายข้าวในอัตราร้อยละ 0, 12, 24 และ 36 สำหรับเลี้ยงปลาดุกลูกผสมขนาดน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 2.33 กรัม ในถังไฟเบอร์ที่จัดให้มีระบบน้ำไหลผ่านในอัตรา 1 ลิตรต่อนาที ให้อาหารที่มีระดับโปรตีนและพลังงานเท่ากันเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าปลาในกลุ่มควบคุมมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาได้แก่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีมูลไก่ไข่แห้งเพิ่มขึ้น โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 19.15, 18.75, 15.23 และ 11.93 กรัม ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีมูลไก่ไข่แห้งในอัตราร้อยละ 0, 12 และ 24 มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ซึ่งให้ผลในลักษณะเดียวกับอิทธิพลของอาหารที่มีต่ออัตราแลกเนื้อและประสิทธิภาพโปรตีนในอาหาร ส่วนอัตรารอด ปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน และโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในตัวปลา พบว่าทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) สำหรับปริมาณไขมันที่สะสมในตัวปลาและพลังงานที่เพิ่มขึ้นในตัวปลา ปรากฏว่ามีปริมาณลดลงตามปริมาณมูลไก่ไข่แห้งที่เติมลงไปในอาหารหลักและมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าสามารถนำมูลไก่ไข่แห้งมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาดุกลูกผสมได้ในอัตราไม่เกินร้อยละ 24 เพื่อทดแทนสัดส่วนโปรตีนและพลังงานในปลายข้าวและกากถั่วเหลือง โดยไม่มีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อและอัตรารอดแตกต่างกัน

ไพรัตน์ กอสุธารักษ์ (2542) ได้นำปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) น้ำหนักเฉลี่ย 2.60 ก. มาเลี้ยงในตู้กระจกขนาดความจุ 120 ลิตร จำนวน 15 ตู้ๆ ละ 20 ตัว โดยสุ่มออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำ เพื่อทดลองกับอาหารจำนวน 5 สูตร คือ 1) อาหารสูตร

ควบคุม (อาหารผสมปลาสด 20%) 2) อาหารผสมหัวไก่สด 25% 3) อาหารผสมหัวไก่หมัก 25% 4) อาหารผสมหัวไก่สด 25% + น้ำมันปลา 1.3% และ 5) อาหารผสมหัวไก่หมัก 25% + น้ำมันปลา 1.3% โดยให้อาหารอย่างเต็มที่วันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลอง พบว่า ปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร 3 (หัวไก่หมัก 25%) มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวปลาที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าเท่ากับ 19.03% , 597% และ 4.08% ต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งค่าดัชนีดังกล่าวมีค่าสูงกว่า ($p<0.05$) ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นๆ ทั้งหมด ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารควบคุม มีค่าดัชนีต่ำที่สุด คือ 11.82 %., 327% และ 3.09% ต่อวัน ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่าทั้งสามของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร 2, 4 และ 5 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) อัตราการกินอาหาร อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทุกสูตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 4.51 – 5.32% ต่อวัน, 1.50-2.04 และ 97-100% ตามลำดับ

โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการช่วยเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์สับสเตรตที่เป็นโพลีเปปไทด์สายใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็กลง ซึ่งผลิตได้จาก พืช สัตว์ และจุลชีพ โดยประมาณ 50% เป็นโปรติเอสจากจุลชีพ ซึ่งมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง ผลิตผงซักฟอก เนื่องจากโปรติเอสที่ได้จากจุลชีพ เป็นเอนไซม์ที่สร้างและขับออกสู่นอกเซลล์ (extracellular enzyme) จึงง่ายต่อการแยกสกัดและสามารถผลิตได้ในปริมาณสูง โปรติเอสจากจุลชีพที่มีการใช้กันมากในอุตสาหกรรม ได้แก่ แอลคาไลน์โปรติเอสจากเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะ *Bacillus* spp. เช่น *B. subtilis* , *B. licheniformis* และ Alkalophilic *Bacillus*

ชนิดและสมบัติของโปรติเอส

เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนอาจแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามตำแหน่งของพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลส์ คือ เอกโซเปปติเดส (Exopeptidase) จะย่อยพันธะเปปไทด์จากด้านนอกเข้ามา และเอนโดเปปติเดส (Endopeptidase) จะย่อยภายในสายโพลีเปปไทด์ เอนไซม์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มเอนโดเปปติเดส โปรติเอสที่ผลิตได้จากจุลชีพสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ตามกลไกพื้นฐานของภาวะในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

1. Acid Protease EC. 3.4.23

จุลชีพที่ผลิตส่วนใหญ่เป็นพวกเชื้อรา ในแบคทีเรียพบบ้างแต่น้อย โมเลกุลของเอนไซม์มี aspartate อยู่ที่บริเวณ active site ที่ pH 3-4 เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ แบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามลักษณะโครงสร้าง ได้ดังนี้

1.1 Rennin – like Acid Protease จุลชีพที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตโปรติเอสในเชิงการค้าได้แก่ *Mucor pusillus* , *Mucor miehei* และ *Endothai parasitica* นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมทำเนยแข็ง

1.2 Pepsin – like Acid Protease ใช้ย่อยโปรตีนของถั่วเหลืองในอุตสาหกรรมทำซีอิ๊ว (Soy sauce) และปรับปรุงคุณภาพของแป้งที่ใช้ทำขนมปัง *Aspergillus oryzae* เป็นจุลชีพที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์ในอุตสาหกรรม เอนไซม์ชนิดนี้เป็น Endopeptidase มีช่วงการทำงานที่เหมาะสมคือ ที่ pH 4-4.5

2. Thiol Protease EC. 3.4.22

เป็นโปรติเอสที่ผลิตได้จากพืช ได้แก่ papain , ficin , และ bromelain มีจุลชีพบางชนิดที่ผลิตเอนไซม์ ได้แก่ *Clostidium spp.* และ *Streptococcus spp.* ทำงานได้ดีช่วง pH เท่ากับ 7.0 เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะมีหมู่ของ cysteine อยู่ที่บริเวณ active site

3. Metallo Protease EC.3.4.24

เอนไซม์ชนิดนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Neutral Protease พบทั่วไปในแบคทีเรียและเชื้อรา โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส เช่น *Bacillus megaterium* , *Bacillus cereus* และ *Bacillus thermoproteolyticus* ซึ่งจะผลิตเฉพาะนิวทรัลโปรติเอสเท่านั้น แต่ใน *Bacillus subtilis* พบว่ามีการผลิตทั้งนิวทรัลโปรติเอสและแอลคาไลน์โปรติเอส นอกจากนี้ยังมี *Bacillus thuringenesis* , *Bacillus pumilus* และ *Bacillus polymyxa* เป็นต้น นิวทรัลโปรติเอสจัดเป็นเอนไซม์ Metallo-endoprotease ที่มีอะตอมของโลหะเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลและมีความสำคัญต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ โลหะที่พบคือ สังกะสี (Zn^{2+}) นอกจากนี้ยังพบว่าแคลเซียม (Ca^{2+}) มีผลทำให้เอนไซม์ชนิดนี้มีความเสถียรมากขึ้น เอนไซม์ชนิดนี้สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับกรดอะมิโนไลซีนและถูกยับยั้งปฏิกิริยาโดยสารประเภท chelating agents เช่น Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) , Dithizone , 1,1-phenanthroline ซึ่งจะยับยั้งเอนไซม์โดยการดึงอะตอมของสังกะสีออก แต่ไม่ถูกยับยั้งโดย Di-isopropylfluorphosphate (DFP) , Sulfhydryl reagent , Soybean trypsin inhibitor และ potato protease inhibitor เอนไซม์ชนิดนี้มีความสามารถสูงสุดในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนที่ช่วง pH 7-8 โดยใช้เคซีนเป็นสับสเตรท มีความเสถียรในช่วง pH 5-10 เอนไซม์ชนิดนี้มีความเสถียรน้อยมากเมื่อเทียบกับโปรติเอสชนิดอื่นๆ

4. Alkaline Protease EC.3.4.21.14

เอนไซม์ชนิดนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Serine Protease เนื่องจากมีหมู่กรดอะมิโนเซรีนอยู่ที่ Active site ถูกยับยั้งโดยสาร Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride (PMSF) และ Di-isopropryl Fluorophosphate (DFP) แคลเซียมไอออนช่วยทำให้เอนไซม์เสถียร ส่วน EDTA ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ได้ pH ที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 7-11 และมีลักษณะการไฮโดรไลส์โปรตีนแบบตัดพันธะในสาย แอลคาไลน์โปรติเอสผลิตได้จากเชื้อราและแบคทีเรีย ยีสต์ แบคทีเรีย โดยเฉพาะพบในแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus spp.* เป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ *Bacillus licheniformis* , *Bacillus subtilis* และ Alkalophilic *Bacillus* ซึ่งเอนไซม์จะถูกสร้างและปล่อยออกมาเป็นอิสระในน้ำเลี้ยงเชื้อ (Extracellular enzyme) และอาจจะสร้างนิวทรัลโปรติเอสไปพร้อมๆ กัน หรืออาจจะมีการสร้างนิวทรัลโปรติเอสก่อนการสร้างแอลคาไลน์โปรติเอสก็ได้

การสร้างโปรติเอสและความสำคัญ

การสร้างเอนไซม์ในกลุ่ม *Bacillus* spp. จะเกิดขึ้นในช่วงปลายการเจริญของเชื้อแบบทวีคูณ (Log phase) หรือในระยะแรกของการเจริญแบบคงที่ (Stationary phase) ใน complex media พบว่าการสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นกับปริมาณกรดนิวคลีอิก ในขณะที่เซลล์มีการเจริญ จะนำเอากรดนิวคลีอิกจำนวนมากไปใช้ในการสังเคราะห์ไรโบโซม และเมื่อเซลล์หยุดการเจริญการสร้างไรโบโซมก็จะหยุดลงไปด้วย ทำให้กรดนิวคลีอิกที่เหลือพอที่จะนำไปสังเคราะห์เอนไซม์ในช่วง stationary phase จึงพบว่าระยะนี้มีปริมาณเอนไซม์สูง เอนไซม์ที่สังเคราะห์จากไรโบโซมด้านปลายอะมิโนจะมี Leading sequence ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนไฮโดรโฟบิค ซึ่งทำให้เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นผ่านออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ได้ จากนั้น Leading sequence ซึ่งถือ

ว่าเป็น signal sequence จะถูกตัดออกโดยเอนไซม์เปปติเดสซึ่งอยู่ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อถูกตัดออกแล้วส่วนที่เป็นเอนไซม์ก็จะพับอยู่ในรูปที่เสถียร

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตแอลคาไลน์โปรติเอส

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักจะต้องมีปริมาณมากและราคาถูก เช่น ของเหลือใช้จากอุตสาหกรรมอื่นๆ ซึ่งยังประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ ที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ในการเจริญและให้ผลผลิตได้เป็นอย่างดี เช่น กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน แป้งมัน สำปะหลัง อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการอาจไม่เหมาะสมกับเมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาดใหญ่ การพิจารณาหาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจะเริ่มโดยพิจารณาจากสมการเคมีเพื่อการเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์

แหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน + แหล่งไนโตรเจน + สารอื่นๆ ⟶ เซลล์ + ผลิตภัณฑ์ + CO_2 +H_2O + ความร้อน

แหล่งคาร์บอน

สารที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่างๆ เช่นแป้งและกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ง่าย กลูโคสในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยให้เชื้อเจริญเติบโตที่พอเหมาะ การสร้างเอนไซม์ของเชื้อก็จะดำเนินไปตามปกติ เมื่อแหล่งอาหารและพลังงานเริ่มลดน้อยลง การสร้างสปอร์ของเชื้อก็จะเกิดขึ้นพร้อมๆ กับการสร้างเอนไซม์ แต่เมื่อมีปริมาณของกลูโคสมากเกินไป จะทำให้เกิด catabolite repression โดยกลูโคส จะกดการทำงานของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ไม่ให้มีการสร้างเอนไซม์ออกมา หรือทำให้การสร้างช้าลง

แหล่งไนโตรเจน

สารประกอบไนโตรเจนจะถูกย่อยสลายเพื่อผลิตกรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก โปรตีนและส่วนประกอบของผนังเซลล์ แอลคาไลน์โปรติเอสจะประกอบด้วยไนโตรเจน 15.6% การผลิตโปรติเอสจะขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ การสร้างโปรตีเอสจะถูกกดดัน เมื่อมีกรดอะมิโนหรือเปปไทด์ในอาหารมากเกินไป โดยที่กรดอะมิโนแต่ละชนิดมีความสามารถในการกดดันการสร้างเอนไซม์ต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของเชื้อด้วย ใน*Bacillus spp.* กรดอะมิโนชนิดเดียวกันจะมีผลต่อการสร้างเอนไซม์ได้ต่างกัน บางครั้งกรดอะมิโนหรือเปปไทด์หลายชนิดอยู่ร่วมกันก็จะมีผลต่อการกดดันการสร้างเอนไซม์มากกว่ากรดอะมิโนชนิดเดียว (สนธยา ศรีเมฆ ,2533) ได้ทำการศึกษาผลของกรดอะมิโนผสมระหว่างกลูตาเมต แอสปาเทต และแอสปาราจีน พบว่ามีผลต่อการเจริญและการผลิตแอลคาไลน์โปรตีเอสของ *Bacillus subtilis* TISTR25 ทำให้มีการผลิตแอลคาไลน์โปรติเอสได้สูงกว่ามีกรดอะมิโนชนิดเดียวผสมลงในอาหาร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะมิโนการเจริญของเชื้อจะสูงขึ้นแต่การผลิตแอลคาไลน์โปรตีเอสจะต่ำลง แสดงว่าชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ นอกจากนี้ (Fujiwara และคณะ ,1987) ได้ศึกษาการผลิตแอลคาไลน์โปรติเอส *Bacillus spp.* B21-2 โดยใช้วัตถุดิบราคาถูกหลายชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า Bonito extract และกากถั่วเหลือง สามารถเพิ่มการผลิตแอลคาไลน์โปรตีเอสได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วัตถุดิบชนิดอื่นๆ

อิทธิพลของฟอสเฟต

ฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์สารพันธุกรรม (DNA, RNA) และโปรตีน การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรท, การหายใจของเซลล์ รวมทั้งควบคุมระดับ ATP ในขบวนการสังเคราะห์เอนไซม์โปรตีเอส ฟอสเฟตจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มความเสถียรของ mRNA โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RNase และช่วยให้เอนไซม์ที่สร้างขึ้นถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ได้

ดีขึ้น แต่ถ้าเริ่มต้นเลี้ยงเซลล์ด้วยปริมาณฟอสเฟตที่มากเกินไป จะมีผลยับยั้งการเจริญและกดดันการสร้างโปรติเอสได้

อิทธิพลของไอออนโลหะ

ไอออนของโลหะมีส่วนสำคัญในการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อสกุล*Bacillus* เช่น แมกนีเซียมไอออนมีความสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญ การแบ่งตัว ขนาดและรูปร่างของเชื้อ มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแมกนีเซียมมากเกินไปจะมีผลไปยับยั้งการเจริญและกดดันการสร้างเอนไซม์ (Webb , 1949)

ส่วนไอออนชนิดอื่นๆ เช่น แมงกานีสและเหล็ก พบว่าเป็น cofactor สำหรับเอนไซม์หลายชนิดในกระบวนการเมตาโบลิสมของไนโตรเจนโดยมีกลูตามีนซินทีเตสเป็นเอนไซม์สำคัญในการใช้ไนโตรเจนจากอนินทรีย์ไนโตรเจน

อิทธิพลของภาวะแวดล้อมในการหมัก

ภาวะแวดล้อมในระหว่างการเลี้ยงเชื้อหรือเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ได้แก่

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อแอกติวิตีของเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้น มีผลต่อการขนสารผ่านเซลล์เมมเบรน

อุณหภูมิ อุณหภูมิในการเลี้ยงต้องเหมาะสมเชื้อจึงจะผลิตเอนไซม์ออกมา อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงการละลายของออกซิเจนจะต่ำ

อัตราเร็วในการกวนและการให้อากาศ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อที่เลี้ยง ขนาดของถังหมัก และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะขึ้นอยู่กับอัตราการกวนและการให้อากาศในถังหมัก ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่พอเหมาะจะมีผลให้

จุลินทรีย์เจริญและสร้างเอนไซม์ได้ ถ้าปริมาณออกซิเจนต่ำจะทำให้เชื้อใช้กลูโคสไม่สมบูรณ์ทำให้อัตราการเจริญของเชื้อลดลง

ประโยชน์และความสำคัญของแอลคาไลน์โปรติเอสในด้านอุตสาหกรรม

โปรติเอสเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมหลายชนิด เราสามารถจำแนกประโยชน์ของโปรตีเอสในการนำไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมได้ดังนี้

1. การไฮโดรไลส์โปรตีน (Protein Hydrolysis) โดยทำให้โปรตีนมีขนาดเล็กลงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายและสะดวกขึ้น ตัวอย่างได้แก่

-เจลาติน นำมาใช้ผสมในเครื่องดื่ม เครื่องสำอาง

-กรดอะมิโนจากกากถั่วเหลืองนำไปใช้ผสมในอาหารลดความอ้วน เครื่องดื่ม

-โปรตีนจากถั่วเหลือง นำไปใช้ในการหมักซอส

-โปรตีนจากเนื้อสัตว์ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง ซุป ช่วยทำให้เนื้อสัตว์นุ่มขึ้น

2.การทำขนมปัง ทำให้แป้งโด (Dough) มีความเหนียวนุ่มและฟูขึ้น

3.อุตสาหกรรมนม ทำให้นมจับตัวเป็นก้อนในกระบวนการทำเนยแข็ง

4.อุตสาหกรรมเบียร์และเครื่องดื่ม ช่วยย่อยโปรตีนทำให้เครื่องดื่มใส น่ารับประทาน

5.อุตสาหกรรมสารซักฟอก โดยเอนไซม์ที่นำไปผสมในสารซักฟอกจะช่วยย่อยสลายคราบโปรตีนต่างๆ ที่เกาะบนเนื้อผ้า อีกทั้งยังช่วยลดปัญหามลพิษของสภาวะแวดล้อม เนื่องจากเอนไซม์สามารถสลายได้เองตามธรรมชาติ

6.อุตสาหกรรมฟอกหนัง โดยเอนไซม์จะช่วยกำจัดขนออกจากหนังสัตว์ทำให้หนังสัตว์นุ่มและมีความยืดหยุ่นดี

7.ประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ใช้ในการทำความสะอาดเยื่อหุ้มผ่านเครื่องมือต่างๆ เป็นต้น

ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ (2532) ศึกษาคุณสมบัติและการทำให้บริสุทธิ์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25 สายพันธุ์ที่แยกได้จากดินในประเทศไทย ที่สามารถผลิตได้ทั้งนิวทรัลโปรติเอสและแอลคาไลน์โปรติเอสโดยเปรียบเทียบกับ *Bacillus licheniformis* ATCC 21415 ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานพบว่าเชื้อทั้งสองสามารถผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสได้ไม่แตกต่างกัน และจากการศึกษาสมบัติทางกายภาพ เคมีจลศาสตร์ ความจำเพาะในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์เปรียบเทียบกับเอนไซม์มาตรฐานคือ Subtilisin Carlberg และ Subtilisin BPN พบว่ามีความจำเพาะในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์เหมือนกัน อัลคาไลน์โปรติเอสที่ได้สามารถทำงานได้ในช่วง pH 7-11 และมีแอคติวิตีสูงสุดที่ pH 10.5

เกษม พงษ์มณี (2536) ศึกษาการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสจาก *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในระดับขวดเขย่า โดยใช้แหล่งวัตถุดิบจากธรรมชาติเป็นแหล่งอาหาร พบว่ากากถั่วเหลืองผสมกากเมล็ดทานตะวันเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตแอลคาไลน์โปรติเอสได้ และ pH ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดการทำงานของแอลคาไลน์โปรติเอส คือ pH 10.5 ที่อุณหภูมิ 45°c

วรรณวิมล ทรัพย์ดี (2540) ศึกษาการขยายส่วนการผลิตแอลคาไลน์โปรติเอสที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* TISTR 25 ในระดับถังหมัก 5 ลิตร เพื่อพัฒนาสู่การผลิตในเชิงการค้า พบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25 สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 159,215 หน่วยต่อปริมาตรทั้งหมด 3.5ลิตร ในชั่วโมงที่84

นภา ศิวรังสรรค์ (2542) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโครเมียมออกจากเศษหนังฟอกโครม โดยใช้แอลคาไลน์โปรติเอสที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* TISTR25 เริ่มต้นโดยทำการต้มเศษหนังในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 71 °C ในสารละลายที่มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 6.5% (w/v) เพื่อปรับให้มี pH 10.5 ตามด้วยการย่อยสลายด้วยแอลคาไลน์โปรติเอส

ปริมาณน้อยกว่า 1.0 % (w/v) ที่ระดับอุณหภูมิที่เหมาะสม 45 ^{o}C เมื่อปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้น pH ของของผสมจะลดลงเหลือประมาณ 8.5 โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้สามารถแยกออกจากตะกอนโครเมียมโดยวิธีการกรองแล้วนำไประเหิดแห้ง เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของโปรตีนผงที่นำกลับมาได้โดยเฉลี่ยประมาณ 60.9 % โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ได้ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับสัตว์อยู่ 9 ชนิดจากทั้งหมด 10 ชนิด และมีโครเมียมอยู่เพียง 13 ppm ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้

ดังนั้นในการย่อยสลายโปรตีนในเศษหนัง จึงพิจารณาวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่เป็นด่าง โดยจะใช้โปรติเอส ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ TISTR 25 โดยใช้วิธีการผลิตตามวิธีของเกษม พงษ์มณี (2536) แต่มีการปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเพิ่มการผลิตโปรตีนจากเศษหนังฟอกโครมเพื่อที่จะทำให้ได้โปรตีนที่มีปริมาณเพียงพอต่อการนำไปทดลองใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงปลาดุกลูกผสม ซึ่งจะเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากเศษหนังฟอกที่มีอยู่ในประเทศไทยเป็นจำนวนมากและเป็นการช่วยลดปัญหาการขาดแคลนโปรตีนที่ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์และยังมีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงจากพิษภัยของโครเมียมที่มีอยู่ในหนังฟอก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.เพื่อผลิตโปรตีนจากเศษหนังวัวที่ผ่านการฟอกโครมโดยวิธีการย่อยสลายด้วยแอลคาไลน์โปรติเอสที่ทำงานร่วมกับด่าง ให้มีปริมาณเพียงพอสำหรับใช้ในระดับอุตสาหกรรม

2.เพื่อศึกษาความเป็นได้ในการนำโปรตีนจากเศษหนังวัวที่สกัดโครเมียมออกไปแล้วไปใช้เป็นอาหารปลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย