KHON KAEN AGR. J. 48 (3): 405-416 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.57.

กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) ระยะโตเต็มวัย

Digestive Enzyme Activity in Adult of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)

ศุภลักษณ์ เกตุตากแดด[1*], นริศรา สุรทิพย์[2], บัณฑิต ยวงสร้อย[2]

Supalug Kattakdad[1*], Narissara Suratip[2], Bundit Yuangsoi[2]

บทคัดย่อ: ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ไลเปส อะไมเลสและเซลลูเลส ที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนปลาย ในปลาสวายเพศเมียขนาด 210±8.5 กรัมต่อตัว พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงสุดที่พีเอช 12, 12, 10 และ 9 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.295±0.02, 0.201±0.00, 0.200±0.01 และ 0.033±0.01 Unit/mg Protein ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 12, 12, 12 และ 4 ตามลำดับ โดยกระเพาะและลำไส้ส่วนปลายมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเท่ากับ 1175.51±50.24 และ 1249.20±55.30 ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 10, 4-5, 7-8 และ 4-5 ตามลำดับ โดยตับมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูงที่สุด ($P< 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.156±0.10 Unit/mg Protein รองลงมาคือ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เท่ากับ 0.153±0.05, 0.092±0.02 และ 0.047±0.00 Unit/mg Protein ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 12, 5, 5 และ 7 ตามลำดับ โดยตับมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด เท่ากับ 0.026±0.01 Unit/mg Protein จากการศึกษาพบว่าปลาสวายแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุด รองลงมาคือ โปรติเอส อะไมเลส และเซลลูเลส ตามลำดับ ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์อาจมีความสัมพันธ์หรือสอดคล้องกับปริมาณสารอาหารที่ได้รับ ดังนั้นสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปปรับใช้ในการเลือกใช้วัตถุดิบอาหารให้มีความเหมาะสมในสูตรอาหารของปลาสวายต่อไป

คำสำคัญ: โปรติเอส ไลเปส อะไมเลส เซลลูเลส ปลาสวาย

ABSTRACT: Study of digestive enzyme activities, protease, lipase, amylase and cellulase in liver, stomach, anterior and posterior intestine of striped catfish with average mean weight of 210±8.5 g/fish. The results of estimated enzyme activities in liver, stomach, anterior and posterior intestine were found that protease to be highest activity at pH 12, 12, 10 and 9 with level 0.295±0.02, 0.201±0.00, 0.200±0.01 and 0.033±0.01 Unit/mg Protein respectively. Lipase was the highest activity at pH 12, 12, 12 and 4 respectively. In a stomach and posterior intestine were no significantly at 1175.51±50.24 and 1249.20±55.30. Amylase showed the highest activity at pH 10, 4-5, 7-8 and 4-5 by liver has performed the highest activity level ($P< 0.05$) at 0.156±0.10 Unit/mg Protein, followed by stomach, anterior and posterior intestine which performed the activity level at 0.153±0.05, 0.092±0.02 and 0.047±0.00 Unit/mg Protein respectively. Cellulase was found that the highest ac-

Received July 25, 2019

Accepted December 11, 2019

[1] สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 32000

[2] ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

*Corresponding author: Supalug.3@gmail.com

tivity at pH 12, 5, 5 and 7 by liver has performed the highest activity level at 0.026±0.01 Unit/mg Protein. The highest lipase activity was observed in striped catfish, followed by protease, amylase and cellulase. The activity of digestive enzymes of striped catfish might interaction with nutrients derivation. This basic information can be used for the selection of raw materials for striped catfish feed formulation.
Keywords: protease, lipase, amylase and cellulase, striped catfish

บทนำ

ปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) หรือ striped catfish เป็นปลาน้ำจืดขนาดใหญ่ อยู่ในสกุลเดียวกับปลาเทโพ เทพา และสังกะวาด (Sauvage, 1878) ปัจจุบันมีแนวโน้มการเลี้ยงที่เพิ่มมากขึ้นทั้งเลี้ยงในกระชัง บ่อดิน และร่องสวน (กรมประมง, 2561) เนื่องจากเจริญเติบโตเร็ว ต้านทานต่อโรค และทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (Paripatananont, 2002) เนื้อปลามีสีขาวนิยมแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อปลาแล่แช่แข็ง (frozen fillet) ซึ่งมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี พ.ศ. 2559 มีผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงปลาสวายปริมาณ 15,500 ตัน คิดเป็น 4.1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณการเลี้ยงปลาน้ำจืดทั้งประเทศ (กรมประมง, 2561) จึงนับเป็นปลาเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอีกชนิดหนึ่ง ในประเทศไทยการพัฒนาระบบการเลี้ยงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต การเจริญเติบโต อัตรารอด ระบบภูมิคุ้มกัน และพัฒนาคุณภาพของผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น เนื้อปลาแล่ ทำเค็มและตากแห้ง (กรมประมง, 2561) ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตและคุณภาพของปลาสวาย ได้แก่ อาหาร การประกอบสูตรอาหารปลานั้นต้องคำนึงถึงประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ความสามารถในการย่อยวัตถุดิบต่างๆ ของปลาแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับการทำงานของเอนไซม์ และสามารถนำข้อมูลการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวมาใช้ประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility) นำไปสู่การคัดเลือกวัตถุดิบอาหารเพื่อใช้ประกอบสูตรอาหารในการเลี้ยงจริง ซึ่งจะช่วยให้ลดต้นทุนด้านอาหารและเพิ่มผลผลิตปลาสวาย อีกทั้งยังไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจากอาหารเหลือที่ปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้หมด (การุณ, 2554) ในปัจจุบันจึงมีความสนใจในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ปลาสวายหนู ปลานิล กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว กุ้งกร้าม กรามหอยมุกน้ำจืด ปลาตะเพียน ปลาสเตอร์เจียน และ ปลาเรนโบเทร้า (จันทกานต์และคณะ, 2550; รุ่งกานต์และคณะ, 2551; Bezerra et al., 2005; ยุทธนาและคณะ, 2550; Areekijseree et al., 2004; Chakrabarti et al., 2006; Furne et al., 2005) เป็นต้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาสวาย เพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อไป

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่าง

นำปลาสวายเพศเมียขนาด 210±8.5 กรัม จำนวน 50 ตัวมาจากฟาร์มเอกชนในพื้นที่ อ.เมือง จ.สุรินทร์ นำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงปรับสภาพเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยใช้อาหารเม็ดชนิดลอยน้ำที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 28 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย หลังจากให้อาหารเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง

วิธีสกัดเอนไซม์จากทางเดินอาหารของปลาสวาย

ชั่งน้ำหนักตับ กระเพาะและ ลำไส้ของปลา จากนั้นแบ่งลำไส้เป็น 3 ส่วน เก็บตัวอย่างลำไส้ปลาส่วนต้นและส่วนปลาย นำตัวอย่างแต่ละส่วนมาบดให้ละเอียดโดยใช้ homogenizer โดยบดตัวอย่างใน Tris – HCl buffer ความเข้มข้น 50 mM พีเอช 7.5 ซึ่งกำหนดสัดส่วนของน้ำหนักตัวอย่างต่อ Tris – HCl buffer เป็น 1:3 (w/v) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g นาน 30 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่เป็นของเหลวด้านบน (supernatant) ไว้ที่ – 20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ (รุ่งกานต์และคณะ, 2551)

การศึกษากิจกรรมของเอนซม์โปรติเอส

เตรียมสารละลาย 1) สับสเตรต casein 2% ที่บัฟเฟอร์พีเอช 2-12 2) trichloroacetic acid TCA 20 % 3) NaOH 1M 4) บัฟเฟอร์พีเอช 2 – 12 จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสับสเตรต casein 2% ในบัฟเฟอร์พีเอช 2 – 12 ปริมตร 250

ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C เป็นระยะเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วย 20% TCA ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนใสด้านบนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม 1M NaOH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 40°C แล้วเติม 50% *Folin* reagent ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในตัวอย่าง บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้วัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่องspectrophotometerที่ความยาวคลื่นแสง 440 nm (Pan et al., 2005) ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry's method (Lowry, 1951) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

เตรียมสารละลาย 1) สับสเตรต p – nitrophenyl-palmitate (pNNP) 2) บัฟเฟอร์พีเอช 2 – 12 3) Na_2CO_3 0.1M จากนั้นนำอย่างเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ substrate p – nitrophenylpalmitate (pNNP) ในบัฟเฟอร์พีเอช 2-12 ปริมาตร 880 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่องincubatorที่อุณหภูมิ (25°C) นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างเติม Na_2CO_3 0.1M ปริมาตร 400 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 15 นาที และนำส่วนใสมาวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm (Markweg et al., 1995) ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry's method (Lowry, 1951) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

เตรียมสารละลาย 1) บัฟเฟอร์ที่พีเอช 2 – 12 2) สับสเตรต starch solution 1% 3) dinitrosalicylic acid (DNS) จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ starch solution 1% ในบัฟเฟอร์ที่พีเอช 2 – 12 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (25°C) นาน 5 นาที จากนั้นเติม dinitrosalicylic acid (DNS) reagent ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาเติมนำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร วัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm (Bernfeld, 1995) ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry's method (Lowry, 1951) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

เตรียมสารละลาย 1) บัฟเฟอร์ที่พีเอช 2 – 12 2) สับสเตรต Carboxyl methyl cellulose (CMC) 1% 3) dinitrosalicylic acid (DNS) จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ CMC 1% ในบัฟเฟอร์ที่พีเอช 2 – 12 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (25°C) นาน 15 นาที จากนั้นเติม dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 250 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาเติมนำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm (Miller, 1959) ปริมาณเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้รายงานเป็น Unit ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน โดยวิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดได้ตามวิธีของ Lowry's method (Lowry, 1951) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำและเปรียบเทียบความแตกต่างความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการทดลองแต่ละชุดทดลอง ด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากอวัยวะในระบบย่อยอาหารของปลาสวายระยะโตเต็มวัย พบว่า เอนไซม์โปรติเอส ที่สกัดจากตับ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดที่พีเอช 12, 10 และ 9 ตามลำดับ โดยลำไส้ส่วนต้นมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุด ($P< 0.05$) คือ มีค่าเท่ากับ 0.295±0.02 Unit/mg Protein รองลงมาคือ ลำไส้ส่วนปลาย กระเพาะ

และ ตับ โดยกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าเท่ากับ 0.201±0.00, 0.200±0.01 และ 0.033±0.01 Unit/mg Protein ตามลำดับ (**Figure 1, Table 1**) และจากผลการศึกษาพบการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสในกระเพาะต่ำที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกันในทุกช่วงพีเอช

ปลาสวายมีลักษณะนิสัยการกินอาหารที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสที่พบมากในลำไส้ส่วนต้นของปลาสวายคล้ายคลึงกับการทำงานของเอนไซม์ โปรติเอสที่พบใน ปลาลิ่น (*Hypophthalmichthys* molitrix) และ ปลาไน (*Cyprinus carpio*) (Chakrabarti et al., 1995) การแสดงออกของเอนไซม์โปรติเอสในลำไว้ส่วนต้นอยู่ในสภาวะด่าง คือ พีเอช 9-10 สอดคล้องกับการศึกษาในปลานิล (*Tilapia nilotic)* ปลาไหล *(Anguilla anguilla*) ปลาสเตอร์เจียน (*Acipenser naccarii*), ปลาเรนโบเทร้า (*Oncorhynchus mykiss*), ปลาจาน (*Sparus aurata*), ปลาทอง (*Carassius auratus*) และปลา Tench (*Tinca Tinca*) (El-Beltagy et al., 2004; Hidalgo et al., 1999; Furne et al., 2005; Hidalgo et al., 1999) จากผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าเอนไซม์โปรติเอสสามารถทำงานในสภาวะที่เป็นกรดและด่างภายในอวัยวะย่อยอาหารที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์เปปซิน ในกระเพาะของปลาจะทำหน้าที่ในขั้นตอนแรกของการย่อยสลายโปรตีนซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มอะซิดิกโปรติเอส โดยมีการหลั่งกรดไฮโดรคลอริกส่งผลให้อาหารถูกย่อยในสภาวะที่เป็นกรด (Natalia et al., 2004) รวมถึงการทำงานของเอนไซส์โปรติเอสในกลุ่มที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง (serine protease หรือ alkaline protease) ซึ่งอยู่ในช่วงพีเอช 9 – 10 เอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็นเอนไซม์จำพวก ทริปซิน และ ไคโมทริปซิน ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในสัตว์กลุ่ม carnivorous และ omnivorous (Natalia et al., 2004) กลุ่ม alkaline protease นี้จะพบได้มากในลำไส้ส่วนต้นและส่วนปลายมากกว่าอวัยวะอื่น นอกเหนือจากอวัยวะย่อยอาหารแต่ละส่วนและการเปลี่ยนแปลงพีเอช แล้ว ปัจจัยอื่นก็สามารถมีผลต่อระดับการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้อีกด้วย ไม่ว่าจะเป็นขนาดของปลา อุณหภูมิน้ำและความถี่ของการให้อาหาร (Alarcón et al., 1997)

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ที่สกัดจากตับกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 12, 12, 12 และ 10 ตามลำดับ โดยกระเพาะและลำไส้ส่วนปลายมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงกว่าตับและลำไส้ส่วนต้นอย่ามีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกระเพาะและลำไส้ส่วนปลายมีค่าเท่ากับ 1175.51±50.24 และ 1249.20±55.30 ตามลำดับ รองลงมาคือ ลำไส้ส่วนต้นและตับ มีค่าเท่ากับ 868.45±30.20 และ 843.86±27.18 Unit/mg Protein (**Figure 1, Table 1**) เอนไซม์ไลเปสมีหน้าที่ย่อยไขมัน โดยเกิดขึ้นในลำไส้เป็นส่วนใหญ่ ระดับของพีเอชที่เหมาะต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส อยู่ระหว่าง 7-7.5 โดยตับเป็นอวัยวะที่สร้างน้ำดีและส่งไปเก็บไว้ที่ถุงน้ำดี เมื่ออาหารเคลื่อนตัวมาถึงลำไส้ น้ำดีจะเข้าไปช่วยให้ไขมันในอาหารแตกตัวให้มีขนาดเล็กลง และช่วยให้เอนไซม์ไลเปสเข้าไปย่อยอาหารได้ดียิ่งขึ้น (De silva and Anderson, 1995) ผลของการทดลองพบว่า ระดับของพีเอชที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงอยู่ที่พีเอช 10-12 อาจเกิดจากปลาสวายจากการทดลองนี้ มีการหลังน้ำดีที่มีความเข้มข้นสูงจากตับอ่อน และจากการศึกษาของ Sheng et al. (2006) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในลำไส้ของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus × Oreochromis aureus*) อยู่ที่ระดับพีเอช 6.0-9.0 อีกทั้ง ผลการศึกษาอวัยวะที่เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมีความแตกต่างกับผลการศึกษาของ Klahan et al. (2009) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ในปลานิลขนาด 92.1 กรัม พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเกิดขึ้นที่ลำไส้ส่วนต้นได้ดีกว่าในลำไส้ส่วนปลาย

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากตับกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 10, 5, 7 และ 4 ตามลำดับ โดยตับมีค่ากิจกรรมของเอนซม์อะไมเลสสูงที่สุด ($P< 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.156±0.10 Unit/mg Protein รองลงมาคือ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย มีค่ากิจกรรมของเอนซม์อะไมเลส เท่ากับ 0.153±0.05, 0.092±0.02 และ 0.047±0.00 Unit/mg Protein ตามลำดับ (**Figure 1, Table 1**) จะเห็นได้ว่าพีเอชที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสอยู่ในช่วงกลางและค่อนข้างเป็นกรดอ่อนและด่างอ่อน อีกทั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มระดับพีเอช (Moreau et al., 2001) สอดคล้องกับการศึกษาในกุ้ง *L. schmitti* และ กุ้งขาวแวนนาไมระยะวัยรุ่นและโตเต็มวัย (Castro et al., 2012) จากการศึกษาพบ

การทำงานของเอนไซม์อะไมเลสสูงที่สุดในตับ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในปลานิลที่มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสมีค่าสูงในลำไส้ (Sheng et al., 2006) กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะพบในสัตว์กลุ่ม herbivorous และ omnivorous โดยเอนไซม์ amylase ผลิตที่ตับ, ตับอ่อน, enterocyte และ gut microflora ซึ่งเอนไซม์นี้ทำงานบริเวณ membrane liked ใน brush border หรือทำงานร่วมกับ gut flora เอนไซม์อะไมเลสจะทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวต่อไป (Hidalgo et al., 1999; Halver and Hardy, 2002; De Silva and Anderson, 1995) ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่เพิ่มขึ้นอาจมีความสัมพันธ์หรือสอดคล้องกับปริมาณแป้งที่เพิ่มขึ้นในวัตถุดิบหรือสูตรอาหารเช่นกัน (De Silva and Anderson, 1995; Gaxiola et al., 2005)

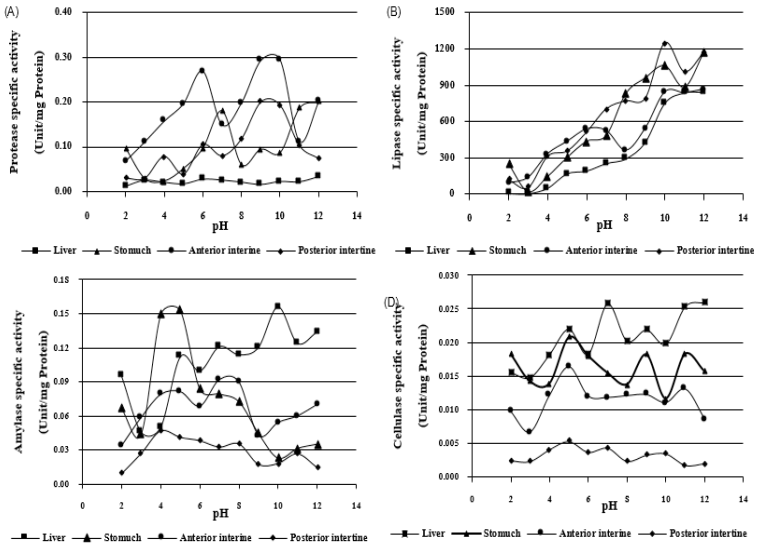

Figure 1 The protease specific activity (a), lipase specific activity (b), amylase specific activity (c) and cellulase specific activity (d) in digestive tract of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) at various pH 2-12

Table 1 The protease specific activity, lipase specific activity, amylase specific activity and cellulase specific activity in digestive tract of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) at optimum pH. Values are shown as mean ± standard deviation (SD) of triplicates of crude extracts obtained from four organs; different superscript letters (in columns) denote statistical difference (P <0.05)

Digestive organs	Enzyme activi (specific activity)			
	Protease	Amylase	Lipase	Cellulase
	U/mg Protein	U/mg Protein	U/mg Protein	U/mg Protein
Liver	0.033±0.01^{a}	0.156±0.10^{c}	843.86±27.18^{a}	0.026±0.01^{c}
Stomach	0.200±0.01^{b}	0.153±0.05^{ab}	1175.51±50.24^{b}	0.021±0.01^{b}
Anterior intestine	0.295±0.02^{c}	0.092±0.02^{bc}	868.45±30.20^{a}	0.010±0.00^{ab}
Posterior intestine	0.201±0.00^{b}	0.047±0.00^{a}	1249.20±55.30^{b}	0.005±0.00^{a}
P-value	<0.001	0.012	0.003	0.008

กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ที่สกัดจากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย มีค่าสูงที่สุดที่พีเอช 12, 5, 5 และ 7 ตามลำดับ โดยตับมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุด (P < 0.05) มีค่าเท่ากับ 0.026±0.01 Unit/mg Protein รองลงมาคือ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนปลาย มีค่าเท่ากับ 0.021±0.01, 0.010±0.00 และ 0.005±0.00 Unit/mg Protein ตามลำดับ (**Figure 1, Table 1**) กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสพบได้ในปลาหลายชนิด ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปลาหลายชนิดมีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสได้ (Chakrabarti et al., 1995) แต่ยังไม่มีข้อสรุปว่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่เกิดขึ้น มาจากแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้หรือเป็นเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจากตัวปลา (Lindsay and Harris 1980; Chiu and Benitez 1981, A. Krogdahl et al., 2005) โดยการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในปลาเฉา พบว่าเกิดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่บริเวณตับและลำไส้ (Das and Tripathi, 1991) อีกทั้งผลการทดลองพบว่า สอดคล้องกับการศึกษาของปลาดุก (*Clarias isheriensis*) ซึ่งเป็นปลาที่มีการกินอาหารแบบทั้งพืชและสัตว์ ที่เลี้ยงในบ่อดิน ซึ่งได้รับอาหารส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอน พบว่าอวัยวะที่เกิดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่บริเวณตับไปจนถึงลำไส้ส่วนกลาง (Fagbenro, 1990)

สรุป

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาสวายที่อวัยวะต่างๆ ในสภาวะการเปลี่ยนแปลงพีเอช แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ต่างกัน แสดงให้เห็นลำดับของกระบวนการเกิดเอนไซม์และกระบวนย่อยอาหารของปลาสวาย โดยในการศึกษานี้พบว่าปลาสวายระยะโตเต็มวัยมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าปลาสวายสามารถย่อยวัตถุดิบอาหารประเภทไขมันได้ดีและนำไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปปรับใช้ในการเลือกใช้วัตถุดิบอาหารให้มีความเหมาะสมในสูตรอาหาร และสามารถนำไปศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้เกิดการพัฒนาสูตรอาหารของปลาสวาย ได้ เพื่อส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นร่วมทั้งเพื่อส่งเสริมด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีการพัฒนามากยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ:

ขอขอบคุณสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการศึกษาวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2561. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2559. กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมงกองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง.กรมประมง, กรุงเทพมหานคร.

การุณ ทองประจุแก้ว. 2554. การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีของเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเจริญเติบโตอย่างมีคุณภาพของปลากัด (*Betta splendens* Regan, 1910). วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

จันทกานต์ นุชสุข, อรุณี อิงคากุล, อุทัยวรรณ โกวิทวที และ อรพินท์ จิ้นตสถาพร. 2549. คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายหนู *Heligophagus leptrorhynchus* Ng&Kottelat, 2000. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 45 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ยุทธนา เอี่ยดน้อย, อรุณี อิงคากุล, อุทัยวรรณ โกวิทวที และ สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ. 2550. คุณลักษณะและประสิทธิภาพของเอนไซม์ย่อยอาหารในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*, กุ้งขาว *Penaeus vannamei*, และกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 1: 248-260.

รุ่งกานต์ กล้าหาญ, นนทวิทย์ อารีย์ชน, เรืองวิชญ์ ยุ้นพันธ์ และ อรุณี อิงคากุล. 2551. กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus*, L.) ที่ขนาดต่างๆ. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 2: 33-43.

Areekijseree, M., A. Engkagulb, U. Kovitvadhic, A. Thongpand, M. Mingmuangd, P. Pakkonge, and K. Rungruangsak-Torrissenf. 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Aquaculture. 234: 575–587.

Alarcon, F.J., M. Díaz-López, and F.J. Moyano. 1997. Studies on Digestive Enzymes in Fish: Characterization and Practical Applicatio. Cah. Opt. Mediterr. 22: 113-121.

Bernfeld, P. 1955. Enzymes of carbohydrate metabolism. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.) Method in Enzymology, vol. 1. Academic Press, New York.

Bezerra, R. S., E. J. F. Lins, R. B. Alencar, P. M. G. Paiva, M. E. C. Chaves, L. C. B. B. Coelho, and L. B. Carvalho Jr. 2005. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Process Biochem. 40: 1829-1834.

Chakrabarti, I., A. Gani Md, K. K. R. Chaki Sur, and K. K. Misra. 1995. Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. Camp. Biochem. Physiol. 1: 167-177.

Chakrabarti, R., R. M. Rathore, P. Mittal, and Kumar, S. 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp (♂) and bighead carp (♀) hybrid, during early ontogeny. Aquaculture. 253: 694–702.

Chiu, Y.N., and L. V. Benitez. 1981. Studies on the carbohydrases in the digestive tract of the milkfish *Chanos chanos*. Mar. Biol. 61: 247–254.

Das, K.M., and S. D. Tripathi. 1991. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). Aquaculture. 92: 21– 32.

De Silva S.S. and T. A. Anderson. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall Aquaculture Series, London.

El-Beltagy, A. E., T. A. El-Adawy, E. H. Rahma, and A. A. El-Bedawey. 2004. Purification and characterization of an acidic protease from the viscera of bolti fish (*Tilapia nilotica*). Food Chem. 86: 33–39.

Fagbenro, O.A. 1990. Food composition and digestive enzymes in the gut of pond-cultured *Clarias isheriensis* (Sydenham 1980), (Siluriformes Clariidae). J. Appl. Ichthyol. 6: 91–98.

Furne, M.,M. C. Hidalgo, A. Lo´pez, M. Garcı´a-Gallego, A. E. Morales, A. Domezain, J. S. Domezaine, and A. Sanz. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus myki-*

ss. A comparative study. Aquaculture. 250: 391– 398.

Gaxiola, G., G. Cuzon, T. García, G. Taboada, R. Brito, M. E. I. Chima, A. Paredes, L. Soto, C. Rosas, and A. V. Wormhoudt. 2005. Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Comp. Biochem. Physiol. A. 140: 29-3.

Halver, J. E. and R. W. Hardy. 2002. Fish Nutrition. Academic Press, United States of America.

De Silva, S.S., and T. A. Anderson. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, UK.

Hidalgo, M.C., E. Urea, and A. Sanz. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture. 170: 267– 283.

Klahan, R., N. Areechon, R. Yoonpundh, and A. Engkagul. 2009. Characterization and Activity of Digestive Enzymes in Different Sizes of Nile Tilapia (Oreochromis niloticus L.). Kasetsart. J. Nat. Sci. 43.

Laura, E., Celis-Guerrero, L. Fernando, Garcia-Carreno, and M. Angeles Navarrete del Toro. 2004. Characterization of Proteases in the Digestive System of Spiny Lobster (Panulirus interruptus). Mar. Biotechnol. 6: 262–269.

Lindsay, G. J . H., and J. E. Harris. 1980. Carboxymethylcellulase activity in the digestive tract of fish. J. Fish Biol. 16: 219–233.

Lowry, H.O., J. N. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. I. Randal. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Markweg, H., M. S. Lang, and F. Wagner. 1995. Dodecanoic acid inhibition of lipase from *Acinetobacter* sp. *OPA 55*. Enz. Microb. Tech. 17: 512 – 516.

Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Anal. Chem. 31: 426–428.

Moreau, Y., V. Desseaux, R. Koukiekolo, G. M. Mouren, and M. Santimone. 2001. Starch digestion in tropical fishes: structural studies and inhibition kinetics of α - amylase from two tilapias *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron*. Comp. Biochem. Physiol. B. 128: 543 – 552.

Natalia, Y., R. Hashim, A. Ali, and A. Chong. 2004. Characterization of digestive enzymes in a canivoous ornamental fish, the Asian bony tongue Scleropages formosus (Osteoglossidae). Aquaculture. 233:305-320.

Pan, L., G. Xiao, H. Zhang, and Z. Luan. 2005. Effects of different dietary Protein content on growth and protease activity of Eriocheir sinensis larvae. Aquaculture. 246: 313-319.

Paripatananont, T. 2002. Snakehead and Pangasius catfish. Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International.

Castro P, F., C. V. Augusto, Jr. Freitas, M. S. Werlayne, M. S. Helane, L. B. Costa, Jr. Carvalho, and Ranilson S. Bezerra. 2012. Comparative Study of Amylases from the Midgut Gland of Three Species of Penaeid Shrimp. J. Crustacen Biol. 32: 607-613.

Sheng, L. J., L. J. Lin, and W. T. Ting. 2006. Ontogeny of protease, amylase and lipase in the alimentary tract of hybrid Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromisaureus*). Fish Physiol. Biochem. 32: 295–303.