คุณลักษณะและประสิทธิภาพของเอนไซม์ย่อยอาหารในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon,* กุ้งขาว *Penaeus vannamei*, และกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*

Characterization and *in vitro* digestibility of digestive enzyme in Giant black tiger shrimp *Penaeus monodon* White shrimp *Penaeus vannamei* and Giant fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii*

ยุทธนา เอียดน้อย[(1)] อรุณี อิงคากุล[(1)] อุทัยวรรณ โกวิทวที[(2)] สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ[(3)]

[(1)] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[(2)] ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[(3)]ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

ศึกษาคุณลักษณะและประสิทธิภาพของเอนไซม์ย่อยอาหารของจาก เฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหารและลำไส้ ของกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกรามตัวเต็มวัย พบว่า เอนไซม์อะไมเลส โปรติเนส ไลเปส และเซลลูเลส ของกุ้งทั้ง 3 ชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมใกล้เคียงกัน คือ เอนไซม์อะไมเลส มีสภาวะเหมาะสมที่พีเอช 8.0 และ 12.0 อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรติเนส มีสภาวะเหมาะสมที่พีเอช 6.0-9.0 และ12.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมของแอซิดโปรติเนสมีช่วงกว้างกว้างคือ 40-70 องศาเซลเซียส ส่วนอัลคาไลน์โปรติเนสอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50-60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไลเปส มีสภาวะเหมาะสมที่พีเอช 4.0, 9.0-10.0 และ 11.0-12.0 อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส เอนไซม์เซลลูเลสมีสภาวะเหมาะสมที่พีเอช 8.0, 11.0และ 12.0 อุณหภูมิ 40 -60 องศาเซลเซียส จากการศึกษา *in vitro* digestibility ในกุ้งกุลาดำพบว่าวัตถุดิบอาหารที่ที่กุ้งย่อยได้ดีคือ ปลายข้าว wheat gluten *Spirulina* sp. และ ยีสต์

Abstract

Characterization and *in vitro* digestibility of digestive enzymes from hepatopancreas, stomach and intestine of adult *Penaeus monodon*, *Penaeus vannamei* and *Macrobranchium rosenbergii* showed that the digestive enzymes: amylase, proteinase, lipase and cellulase had similar characteristics in all 3 species. Amylase had optimum conditions at pH 8.0 and 12.0 temperature 40-50 °C. Proteinases had optimum conditions at pH 6.0-9.0 and 12.0, at 40-70°C for acid proteinase, 50-60 °C for neutral and alkaline proteinases. Lipase had optimum condition at pH 4.0, 9.0-10.0 and 11-12.0 temperature 40-60 °C. Cellulase had optimum condition at pH 8.0, 11.0 and 12.0 temperature 40-60 °C. *In vitro* digestibility study showed that brocken rice, wheat gluten, *Spirulina sp* and yeast were suitable for digestion with enzymes from adult *Penaeus monodon*.

คำนำ

กุ้งเป็นสัตว์เศรษฐกิจและเป็นที่นิยมเลี้ยงกันมากในประเทศไทย โดยกุ้งกุลาดำสามารถส่งเป็นสินค้าส่งออกได้ทั้งในสภาพสดแช่แข็งและแปรรูป ไปยังประเทศสหรัฐอเมริกาญี่ปุ่นและประเทศสหภาพยุโรป สามารถทำรายได้ให้กับประเทศในปี 1999 มีมูลค่ามากถึง 80,000 ล้านบาท มีผลผลิตรวมประมาณ 240,522 เมตริกตัน ส่วนแบ่งทางการตลาด 23 % ของตลาดโลก (Rosenbery, 1997,1999) การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่การเลี้ยงแบบธรรมชาติ แบบกึ่ง-พัฒนา และในปัจจุบันเลี้ยงแบบพัฒนาซึ่งเป็นการเลี้ยงโดยมีการเพาะพันธุ์กุ้งขึ้นมาเอง อย่างไรก็ตามประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับชนิด ปริมาณและความต้องการอาหารของกุ้งอย่างจริงจัง การเลี้ยงกุ้งในปัจจุบันประสบปัญหาต่างๆมากมาย ได้แก่ การปนเปื้อนสารต้องห้าม กุ้งเป็นโรค โรงเพาะฟักและอนุบาลไม่ได้มาตรฐาน ลูกกุ้งที่นำมาเลี้ยงไม่มีคุณภาพ และส่งออกราคากุ้งลดลงเนื่องจากกุ้งไม่ได้ขนาดตลาด ซึ่งเป็นผลจากการที่เกษตรกรเลี้ยงกุ้งอย่างหนาแน่นเกินไป การป้องกันโรคไม่ดี และไม่มีการคัดเลือกกุ้งคุณภาพ

ระยะ 2-3 ปีมานี้มีการเลี้ยงกุ้งขาวแทนกุ้งกุลาดำมากขึ้นโดยสัดส่วนของกุ้งขาวต่อกุ้งกุลาดำอยู่ที่อัตราส่วน 4.5 ต่อ 6.5 ในปี 2546 (สุรศักดิ์, 2546) กุ้งอีกชนิดหนึ่งที่เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจสำคัญ ได้รับความสนใจจากผู้บริโภคและเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศสูงคือกุ้งก้ามกราม ซึ่งเป็นกุ้งที่พบทั่วไปในประเทศไทย มีรสชาติดี และราคาค่อนข้างสูง ทำให้มีเกษตรกรสนใจเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมากขึ้น จากการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตกุ้งกุลาดำและกุ้งขาวในประเทศไทยพบว่าต้นทุนหลักในการผลิตได้แก่อาหาร (สุรศักดิ์, 2546) จึงควรจะมีการศึกษากิจกรรมและคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารและประสิทธิภาพในการย่อยวัตถุดิบอาหารชนิดต่างๆของกุ้งเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดเพื่อคัดเลือกชนิดของอาหารที่เหมาะสมกับประสิทธิภาพการย่อยเพื่อการเลี้ยงกุ้งให้มีอัตราการเติบโตที่ดีขึ้น และส่งผลไปยังอัตรารอดที่เพิ่มสูงขึ้นด้วย การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารสามารถทำได้โดยใช้เทคนิค *in vitro* digestibility ซึ่งมีข้อดีคือมีความสะดวก รวดเร็ว ขั้นตอนไม่ยุ่งยากและประหยัดค่าใช้จ่าย สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง และสัตว์น้ำเศรษฐกิจอื่นๆ เช่น ปลา หอย กุ้งแชบ๊วย เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. ศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหาร 4 ชนิดคือ อะไมเลส โปรติเนส เซลลูเลส และไลเปสในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ตัวเต็มวัย โดยศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช และอุณหภูมิ

2) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหาร 12 ชนิด และอาหารสำเร็จรูป 2 ชนิดโดยเอนไซม์จากกุ้งกุลาดำตัวเต็มวัยโดยการใช้เทคนิค *in vitro* digestibility

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่างกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม

กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ซื้อจากจากฟาร์มเพาะเลี้ยงของเกษตรกรในจังหวัดฉะเชิงเทรา นครปฐม และตลาดนัดกรมประมง(กรุงเทพมหานคร) ตามลำดับ

การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารจาก กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม

ตัดแยก เฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ จากกุ้งทั้ง 3 ชนิด บดละเอียดด้วย homogenizer ขณะที่แช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 x g นาน 10 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส แบ่งเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น crude enzyme extracts สำหรับตรวจสอบกิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร

การศึกษากิจกรรมและคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหาร

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช 2.0-12.0 และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseree *et al.* (2004) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Bernfeld (1957) ใช้สารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 1 % เป็นสับสเตรท วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานมอลโทส

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนส

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช 2.0-12.0 และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseree *et al.* (2004) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Vega-Villasante *et al.* (1995) ใช้สารละลาย azocasein ความเข้มข้น 0.5 % เป็นสับสเตรท วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช 2.0-12.0 และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20 - 80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseree *et al.* (2002) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nirpjit and Kaur. (2002)ใช้สารละลาย para-nitrphenyl palmitate (p-NPP) ใน propanol ความเข้มข้น 0.01 M เป็นสับสเตรท วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช 2.0-12.0 และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseree *et al.* (2002) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Mandels *et al.*, (1976)ใช้สารละลาย carboxy methyl cellulose (CMC) ความเข้มข้น 0.5 % เป็นสับสเตรท วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract โดยใช้วิธีการของ Lowry (Lowry *et al*.,1951)ใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

การศึกษา *in vitro* digestibility

ศึกษาโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Rungruangsak-Torissen *et al*.(2002) ที่ พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสใช้วัตถุดิบอาหาร 12 ชนิดได้แก่ ข้าวฟ่าง รำหยาบ Red balloon กากถั่วเหลือง ข้าวโพดป่น รำละเอียดเปลือกกุ้งป่น Wheat gluten ปลายข้าว ปลาป่น ยีสต์ และ *Spirulina* sp.

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลจากการศึกษา *in vitro* digestibility นำมาหาค่าเฉลี่ย (average) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analisis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการของ SNK (Student-Newman-Keuls)

ผลและวิจารณ์การทดลอง

คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารจากกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว เละกุ้งก้ามกราม จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร 4 ชนิดคือ อะไมเลส โปรติเนส ไลเปส และเซลลูเลส จากเฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ ของกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกรามได้ผลดังนี้

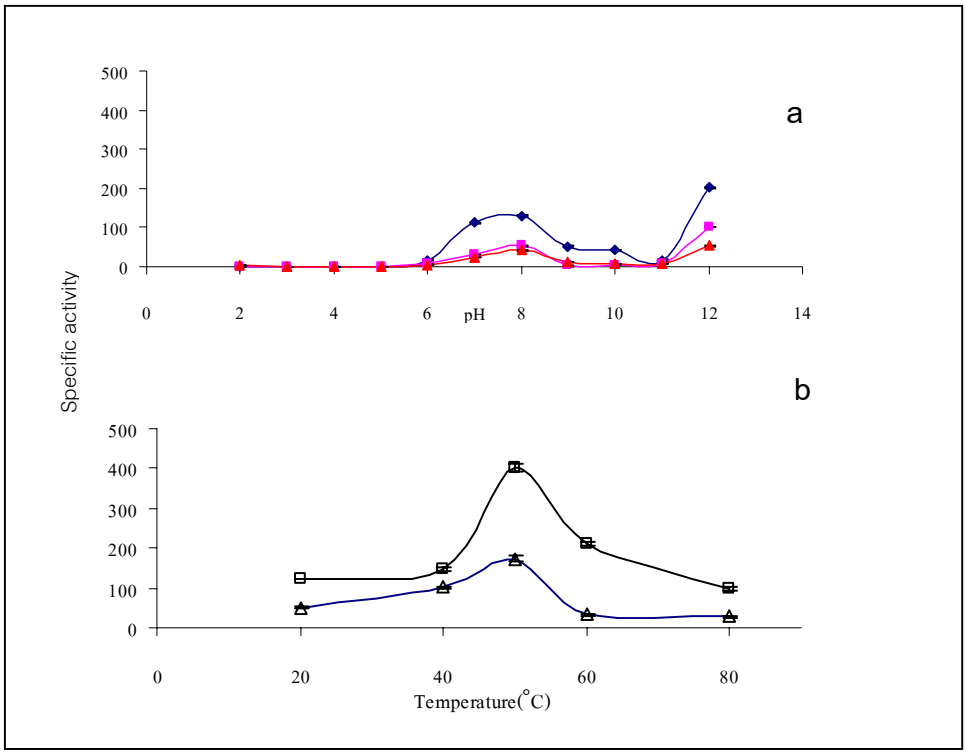

Figure 1 Specific activity (μmol maltose min^{-1}mg protein^{-1}x 10^{-3}) of amylase from hepatopancreas (—◆—) stomach (—■—) and intestine (—▲—) of adult *Penaeus monodon* at pH 2.0-12.0 (a) and at temperature 20-80 °C of *Penaeus monodon* hepatopancreas enzyme at pH 8.0 (—△—)and 12.0 (—□—) (b)

คุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลส

ผลการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ ของกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ในสภาวะเปลี่ยนแปลง พีเอช 2.0-12.0 (Fig.1a) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์มีนิวทรัลอะไมเลสที่พีเอช 7.0 – 8.0 และอัลคาไลน์อะไมเลสที่พีเอช 10.0 และ 12.0 โดยกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสสูงสุดที่พีเอช 8.0 เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียสที่พีเอช 8.0 และ 12.0

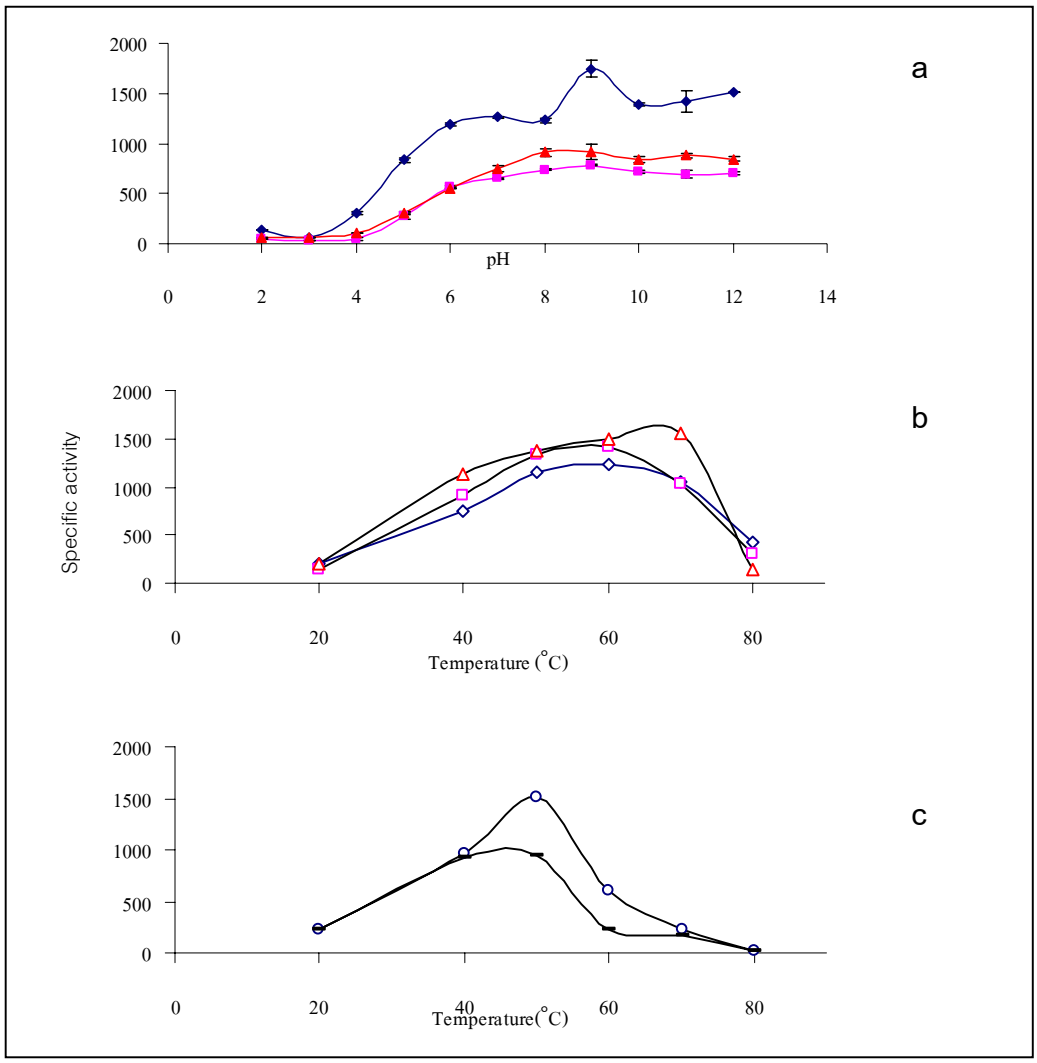

Figure 2 Specific activity (μU mg protein^{-1})of proteinase from hepatopancreas (◆) stomach (■) and intestine (▲) of adult *Penaeus monodon* at pH 2.0-12.0 (a) and at temperature 20-80 °C of *Penaeus monodon* hepatopancreas enzyme at pH 6.0 (◇) 7.0 (□) 8.0(△) (b) 9.0 (▷)and 12.0 (——)(c)

(Fig.1b) เอนไซม์อะไมเลสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 50 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับการศึกษาของ Vega-Villasante *et al*. (1993) ซึ่งศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ amylase ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารของ *Penaeus californiensis* พบว่ามีกิจกรรมสูงในช่วงพีเอช 6.5-8.0 และระดับพีเอชที่เหมาะสมได้แก่ 7.5 ช่วงอุณหภูมิที่ทำงานได้ดีคือ30-40องศาเซลเซียส

คุณลักษณะของเอนไซม์โปรติเนส

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสที่สกัดจากเฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ของ กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ในสภาวะเปลี่ยนแปลง พีเอช 2.0-12.0 (Fig.2a) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์โปรติเนสมีทั้ง แอซิดโปรติเนสที่พีเอช 5.0-6.0 นิวทรัลโปรติเนสที่พีเอช 7.0-8.0 และ อัลคาไลน์โปรติเนสที่พีเอช 9.0-12.0 โดยที่กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงสุดคือ อัลคาไลน์โปรติเนส เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียสที่ พีเอช 6.0-9.0 และ12.0 (Fig 2b,c) แอซิดและอัลคาไลน์โปรติเนสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ช่วงอุณหภูมิกว้างคือ 50-70 องศาเซลเซียส

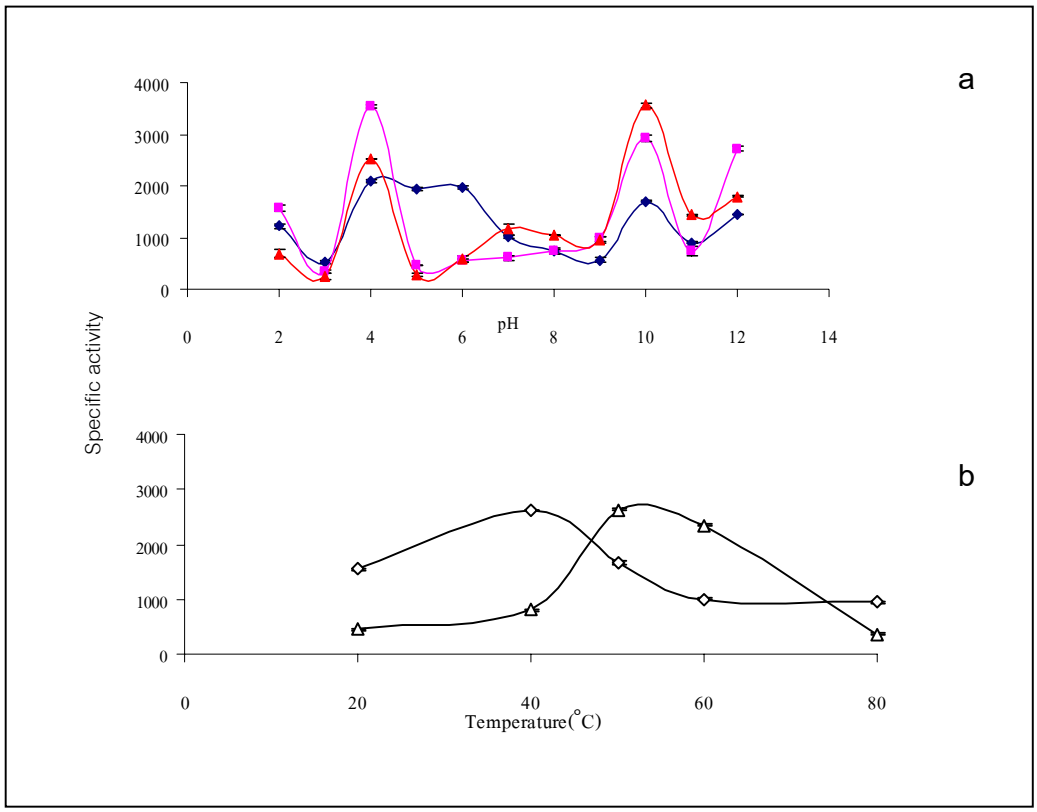

Figure 3 Specific activity (μU mg protein^{-1})of lipase from hepatopancreas (—◆—) stomach (—■—) and intestine (—▲—) of adult *Penaeus monodon* at pH 2.0-12.0 (a) and at temperature 20-80 °C of *Penaeus monodon* hepatopancreas enzyme at pH 4.0 (—◇—)and 10.0 (—△—) (b)

เช่นเดียวกับรายงานของ Galgani et al. (1985) ที่ศึกษาเอนไซม์ trypsin จากทางเดินอาหารของกุ้ง *Penaeus japonicus* พบว่าระดับพีเอชที่เหมาะสมคือ 8-8.3 โดยทำงานได้ดีที่สุดที่พีเอช 8.0 เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สามารถพบได้ในทางเดินอาหารของ *Penaeus califoniensis* ได้แก่ trypsin-like, chymotrypsin-like, carboxypeptidase A, carboxypeptidase B และ leucine-aminopeptidase-like activity (Vega-Villasante *et al.* ,1995)

คุณลักษณะของเอนไซม์ไลเปส

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ของ กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ในสภาวะเปลี่ยนแปลงพีเอช 2.0-12.0 (Fig.3a)พบว่ารูปแบบของเอนไซม์ไลเปสมีทั้ง แอซิดไลเปสที่พีเอช 4.0 ในกระเพาะอาหารและลำไส้ 4.0 และ 6.0 ในเฮพาโตแพนเครียส นิวทรัลไลเปสที่พีเอช 7.0-8.0 และอัลคาไลน์ไลเปส ที่พีเอช 10.0 และ 12.0 ในทั้ง 3 อวัยวะ โดยแอซิดอัลคาไลน์ไลเปส มีกิจกรรมจำเพาะสูงกว่านิวทรัลไลเปส เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำที่สภาวะเปลี่ยนแปลง-

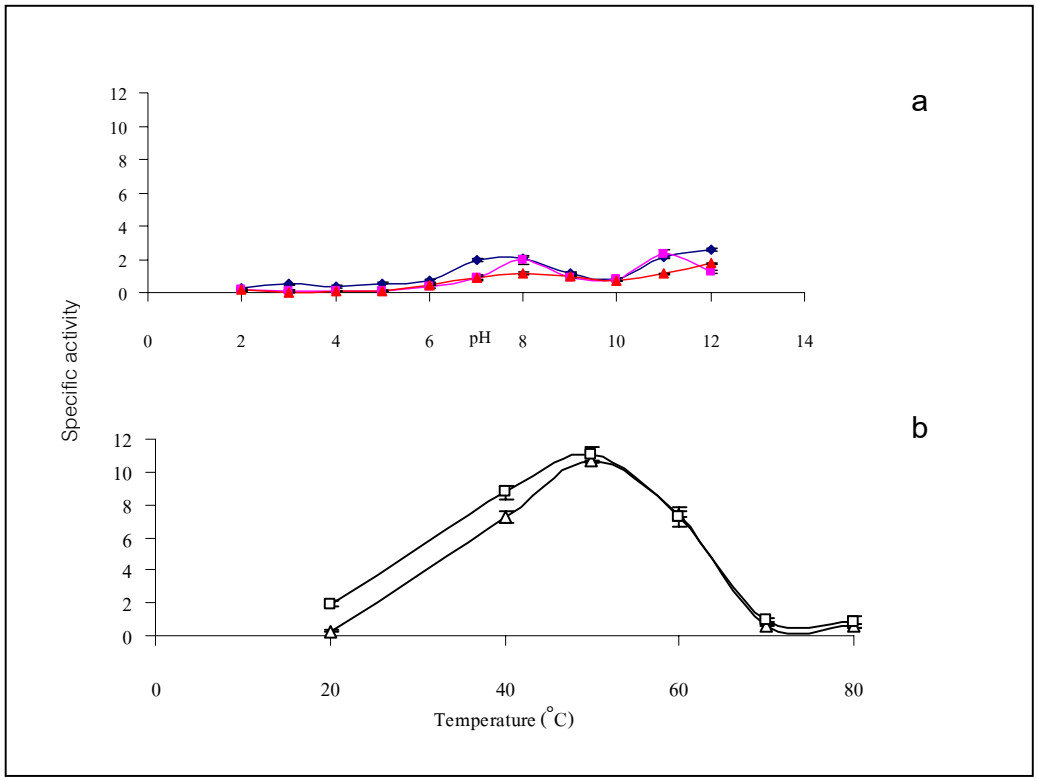

Figure 4 Specific activity (μmol glucose min^{-1} mg $protein^{-1}$ x10^{-3})of cellulase from hepatopancreas (◆) stomach (■) and intestine (▲) of adult *Penaeus monodon* at pH 2.0-12.0 (a) and at temperature 20-80 °C of *Penaeus monodon* hepatopancreas enzyme at pH 8.0 (△)and 12.0 (□) (b)

อุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 และ10.0 (Fig. 3b) พบว่าอัลคาไลน์ไลเปสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่40 และ 55 องศาเซลเซียสตามลำดับ

คุณลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจาก เฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ของกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ในสภาวะเปลี่ยนแปลง พีเอช 2.0-12.0 (Fig. 4a) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์เซลลูเลสพบ นิวทรัลอะไมเลสที่พีเอช 7.0 และอัลคาไลน์เซลลูเลสที่พีเอช 8.0, 11.0 และ12 โดยที่กิจกรรมจำเพาะของนิวทรัลและอัลคาไลน์เซลลูเลสอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำ ที่สภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 8.0 และ 12.0 (Fig. 4b) อัลคาไลน์เซลลูเลสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 50 องศาเซลเซียสซึ่งแตกต่างจากที่ Crawford *et al*.(2005) รายงานว่าเอนไซม์เซลลูเลสในเครย์ฟิช และกุ้งทะเล มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอชประมาณ 5.0 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

Table 1 Optimum conditions of digestive enzymes in 3 species of shrimp: *Penaeus monodon*, *Penaeus vannamei* and *Macrobrachium rosenbergii* :((H)=hepatopancreas, (S)=stomach and (I)=intestine))

Penaeus monodon	Amylase	Cellulase	Proteinase	Lipase
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (H)	7-8,12 50	7,8,12 50-60	8,9,12 50-60	4,6,10,12 40-50
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (S)	7-8,12 50	7,8,11 50-60	8,9,12 50-60	4,6,8,10,12 40-50
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (I)	7-8,12 50	7,8,12 50-60	8,9,12 50-60	4,7,10,12 40-50
Penaeus vannamei	Amylase	Cellulase	Proteinase	Lipase
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (H)	8,12 40-50	7-8,11-12 50	7,9,12 50	10-11 60
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (S)	8,12 40-50	7-8,11-12 50	7,9 50-60	10-11 60
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (I)	8,12 40-50	7-8,11-12 50	7,9,12 50-60	10-11 60
Macrobrachium rosenbergii	Amylase	Cellulase	Proteinases	Lipase
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (H)	8,12 50	8,12 50-60	6,10,12 50-60	9-12 60
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (S)	8,12 50	8,12 50-60	6,7,10-12 50-70	9-12 60
Optimum pH Optimum Temperature(°C) (I)	8,12 50	8,12 50	6,11,12 60-70	9-12 60

<u>หมายเหตุ</u> ในที่นี้แสดงเฉพาะตัวอย่างกราฟกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้งกุลาดำ

ส่วนรายละเอียดขผลการทดลอง โดยใช้เอนไซม์ที่สกัดจาก เฮพาโตแพนเครียส กระเพาะอาหาร เละลำไส้ ของกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม แสดงเปรียบเทียบใน Table 1

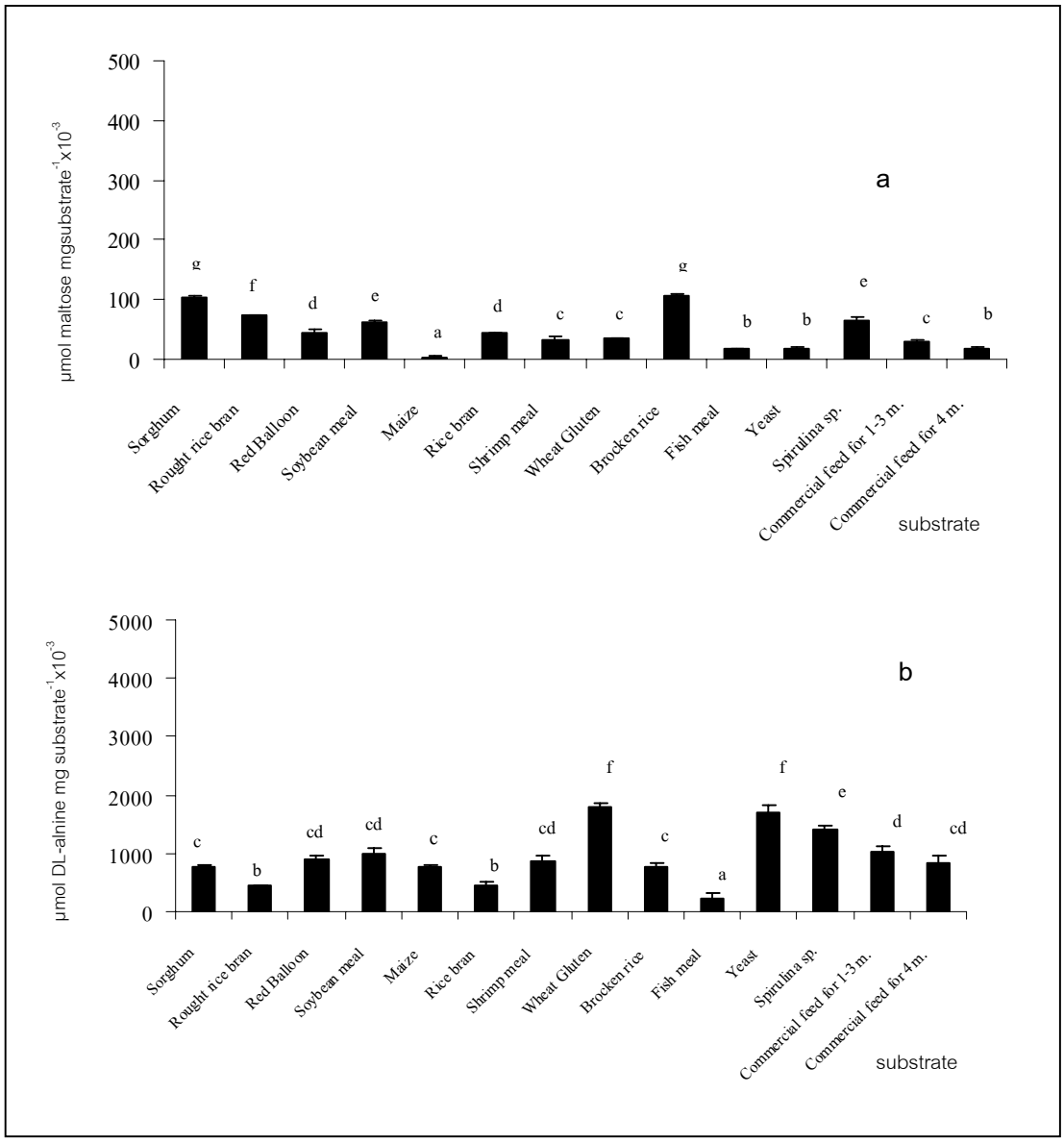

Figure 5 Digested products from *in vitro* digestibility of 12 raw materials and 2 commercial feeds using digestive enzyme from digestive tract of Penaeus monodon.: carbohydrate digestibility (a) protein digestibility (b)

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของเอนไซม์จากทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำตัวเต็มวัย

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์อะไมเลสและโปรติเนสจากทางเดินอาหารรวมของกุ้งกุลาดำ โดยวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยวัตถุดิบอาหาร 12 ชนิดได้แก่ ข้าวฟ่าง รำหยาบ Red ballon กากถั่วเหลือง ข้าวโพดป่น รำละเอียด เปลือกกุ้งป่น Wheat gluten ปลายข้าว ปลาป่น ยีสต์ และ *Spirulina* sp. และอาหารสังเคราะห์ 2 ชนิดปรากฏว่าวัตถุดิบอาหารที่ให้ปริมาณมอลโทสมากที่สุดคือ ปลายข้าว และ ข้าวฟ่าง รองลงมาคือ รำหยาบ กากถั่วเหลือง *Spirulina* sp. (Fig.5a) วัตถุดิบอาหารที่ให้ปริมาณเปปไทด์สายสั้นมากที่สุดคือ wheat gluten และ ยีสต์ รองลงมาคือ *Spirulina* sp. red balloon กากถั่ว-เหลือง เปลือกกุ้งป่น (Fig. 5b) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์ 2 ชนิดแล้ว วัตถุดิบอาหารบางชนิดเอนไซม์จากทางเดินอาหารของกุ้งย่อยได้ดีกว่า โดยวัตถุดิบอาหารที่วัตถุดิบอาหารที่ที่กุ้งย่อยได้ดีคือ ปลายข้าว wheat gluten *Spirulina* sp. และ ยีสต์

สรุปผลการทดลอง

1. คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารของกุ้งทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน แต่ควรศึกษา *in vitro* digestibility ของกุ้งควบคู่ไปด้วย เพราะเอนไซม์ของกุ้งแต่ละชนิดอาจจะมีความจำเพาะที่แตกต่างกัน
2. จากการศึกษา *in vitro* digestibility ของเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารรวมของกุ้งกุลาดำ พบว่าวัตถุดิบอาหารที่เอนไซม์จากทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำย่อยได้ดีคือ ปลายข้าว wheat gluten *Spirulina* sp. และ ยีสต์ ซึ่งควรเสริมลงไปในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้ง

คำขอบคุณ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ขอขอบคุณ Dr.Krisna Rungruangsk-Torrissen.Institue of Marine Research-Matre,N-5984, Matredal, Norway. ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณ สาลิกาฟาร์ม จ.ฉะเชิงเทรา และสาโรจน์ฟาร์ม จ. นครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์กุ้งกุลาดำและกุ้งขาว

เอกสารอ้างอิง

สุรศักดิ์ ดิลกเกียรติ. 2546. “กุ้งโลก-กุ้งไทย” 46-47 . สัมมนาเชิงวิชาการ”เรื่องจะเลี้ยงกุ้งอย่างไรให้ประสบความสำเร็จ”, งานวันกุ้งกระบี่ 22 พฤศจิกายน 2546. ซิทโต้ อะควา นิวส์, 4(1): 25-29.

Areekijseree M., A. Engkagul, U. Kovitvadhi, A. Thongpan, M. Mingmuang and S. Kovitvadhi. 2002. Activity profiles at different pH and temperature of cellulose and lipase in freshwater pearl mussel :*Hyriopsis(Hyriopsis bialatus*, Simpson 1900. Kasetsart J.(Nat. Sci.) 36: 399-407

Areekijseree M., A. Engkagul, U. Kovitvadhi, A. Thongpan, M. Mingmuang, P. Pakkong and K . Rungruangsak-Torrissen 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel :*Hyriopsis(Hyriopsis bialatus*, Simpson 1900. Aquaculture. 234: 575-578

Bernfeld, P. 1951. Enzymes of starch degradation and synthesis. Adv. Enzym. 12: 379.

Crawford, A.C., Richardson, N.R. and Mather, P.B. 2005. A comparative study of cellulase and xylanase activity in freshwater crayfish and marine prawns. Aquaculture Research 36: 586-592.

Galgani, F.G., Y. Benyamin and A. van Wormhoudt. 1985. Purification properties and Immunoassay to trypsin from the shrimp *Penaeus japonicus*. Comp. Biochem. Physiol. 81B: 447-452.

Lowry, H.O., N.J. Rosebrough., A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folinphenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Mandels M., R. Andreotti and C. Roche. 1976. Measurement of saccharifying cellulase, *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 6 : 21–33.

Nirpjit S. D. and J. Kaur. 2002. Immobilization, stability and esterification studies of a lipase from a *Baciilus* sp., Biotechnol. Appl. Biochem. 36: 7-12

Rosenberry, B. 1997. World shrimp farming1997. San Diego, California: Shrimp News International.

_____ . 1999. World shrimp farming1999. San Diego, California: Shrimp News International .

Rungruangsak-Torrissen, K., A. Rustad., J. Sunde., S.A. Eiane., H.B. Jensen., J. Opstvedt., E. Nygard., T.A. Samuelsen., H. Mundheim., U. Luzzana and G. Venturini. 2002. In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trail. J. Sci. Food Agric. 82: 644.654.

Vega-Villasante, F., H. Nilasco and R. Civera. 1993. The digestive enzymes of the pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*. I-Properties of amylase activity in the digestive tract. Comp. Biochem. Physiol. 106B: 547-550.

Vega-Villasante, F., H. Nolasco and R. Civera. 1995. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus califoriensis* PropertiesII of protease activity in the whole digestive tract. J. Comp. Biochem. Physiol. 112 B.: 123-129.