กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลานิล (*Oreochromis niloticus*,L.)ที่ขนาดต่าง ๆ

Digestive enzyme activity in various sizes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*,L.)

รุ่งกานต์ กล้าหาญ[1] นนทวิทย์ อารีย์ชน[1] เรืองวิชญ์ ยุ้นพันธ์[1] และ อรุณี อิงคากุล[2]

Rungkan Klahan[1] , Nontawith Areechon [1] , Ruangvit Yoonpundh [1] and Arunee Engkagul [2]

[1]ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[1]Department of Aquaculture , Faculty of Fishery , Kasetsart University

[2] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2]Department of Biochemistry , Faculty of Science , Kasetsart University

บทคัดย่อ

ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และ ไลเปส ที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 12, 9 และ 9 ตามลำดับ และปลาขนาด 5.7 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุด กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่พบในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 6, 7 และ 2 ตามลำดับ และพบว่าปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมีค่าสูงสุดที่ pH 8, 7 และ 8 ตามลำดับ และปลาขนาด 35.8 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด จากผลการศึกษานี้พบว่าปลาขนาดเล็กมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และไลเปสดีกว่าปลาขนาดใหญ่ และในทางตรงกันข้ามกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะทำงานได้ดีในปลาขนาดใหญ่ ปลาที่ขนาดต่างกัน กิจกรรมและชนิดของเอนไซม์ก็มีความแตกต่างกันด้วย ดังนั้นผลจากการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้าง และปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสมกับปลาแต่ละขนาด ทั้งด้านโภชนาการและราคา

Abstract

Activity of protease, amylase and lipase from stomach, upper intestine, lower intestine and liver 0f 5.7, 35.8 and 92.1 g male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) were studied. Protease activity had optimum pH at 12, 9 and 9 for 5.7, 35.8 and 92.1 g fish respectively and the highest specific activity was found in 5.7 g fish. Amylase activity had optimum pH at 6, 7 and 2 respectively and the highest specific activity was found in 92.1 g fish. Lipase activity had optimum pH at 8, 7 and 8 respectively and the highest specific activity was found in 35.8 g fish. This study indicated that various sizes of fish had different level of enzymatic activities. Small fish appeared to have higher activity of protease and lipase than the large one while large fish had higher activity of amylase than the small one. These result can be used as a basis for suitable feed formulation for various sizes of Nile tilapia which has optimum nutrition value and are cost – effective.

คำนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*, L.) เป็นปลาน้ำจืดที่เจริญเติบโตเร็ว ทนต่อโรค สามารถสืบพันธุ์ได้ง่ายแม้อยู่ในสภาพถูกกักขัง และมีความทนต่อสภาพแวดล้อมที่มีความผันแปรสูง มีการเลี้ยงปลานิลกันอย่างแพร่หลายในบริเวณเขตร้อนชื้น และบริเวณเขตร้อน ซึ่งมีผลทำให้ปลานิลเป็นปลาที่มีการเลี้ยงกันมากเป็นลำดับที่สามของฟาร์มปลาในโลก ความนิยมในการเลี้ยงปลานิลมีเพิ่มขึ้นซึ่งสังเกตได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้น 11.5% ต่อปี (El – Sayed, 1999) การเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันเป็นการเลี้ยงแบบ intensive คือเลี้ยงที่อัตราการปล่อยที่หนาแน่นมีผลให้อาหารที่ใช้ต้องมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิม รวมถึงประสิทธิภาพของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาเองด้วย ซึ่งได้แก่เอนไซม์ โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส เนื่องจากเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยอาหาร มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของอาหารที่ปลาได้รับอย่างเต็มที่ ปลานิลเป็นปลาที่มีกระเพาะเทียม หรือกระเพาะดัดแปลง จะมีเอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์ที่ทำงานที่ pH ต่ำ น้อย (Moyle and Cech, 2000) อาจทำให้การย่อยโปรตีนของเอนไซม์เปปซิน มีประสิทธิภาพลดลง และอาจส่งผลต่อการย่อยโปรตีนโดยรวมของปลานิลลดลงด้วย สำหรับเอนไซม์อะไมเลสทำหน้าที่ในการย่อยคาร์โบไฮเดรต ซึ่งปลาส่วนใหญ่สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้น้อยมาก การพิสูจน์ และการศึกษาความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปลามีค่อนข้างน้อย มีรายงานเพียงการใช้ประโยชน์จากแป้งสูงกว่าการใช้ประโยชน์จากกลูโคสในปลานิล (Shiau and Lung,1993) ดังนั้นการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร จึงเป็นสิ่งจำเป็น และสำคัญ ในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารซึ่งได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส ในปลา 3 ขนาด เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้าง และปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสม สำหรับปลาชนิดต่างๆ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตปลานิลต่อไป

<u>อุปกรณ์และวิธีการ</u>

<u>สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่าง</u>

ในการทดลองใช้ปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7 $\pm$ 0.5, 35.8 $\pm$ 2.5 และ 92.1 $\pm$ 5.9 กรัม ขนาดละ 200 ตัว จากคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และศูนย์วิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำปทุมธานี นำสัตว์ทดลองเลี้ยงปรับสภาพเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยใช้อาหารเม็ดจมน้ำที่เปอร์เซ็นต์โปรตีน 35, 30 และ 28 % สำหรับปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ทำการเก็บตัวอย่างตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย หลังจากให้อาหารเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง

<u>วิธีสกัดเอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส จากกระเพาะ ลำไส้ และตับของปลานิล</u>

ชั่งน้ำหนักกระเพาะ ลำไส้ ตับ ของปลา จากนั้นแบ่งลำไส้เป็น 2 ส่วน นำตัวอย่างทั้งหมดมาบดให้ละเอียดโดยใช้ homogenizer โดยบดตัวอย่างใน Tris – HCl buffer ความเข้มข้น 50 mM pH 7.5 จากนั้น

นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g นาน 5 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนที่เป็นของเหลวด้านบน (supernatant) ไว้ที่ – 20 องศาเซลเซียส (Gimenez *et al.*, 1999) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

<u>ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส</u>

เอนไซม์โปรติเอสวิเคราะห์ตัวอย่างตามวิธีของ Bezerra *et al.*(2005) โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ pH 2 – 13 ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และ azocasein 1% ในบัฟเฟอร์ ที่ pH 2 – 13 ปริมาณ 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C เป็นระยะเวลา 60 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วย trichloroacetic acid TCA 20 % ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างส่วนใสด้านบนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม 1M NaOH ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้วัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 440 nm

<u>ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส</u>

เอนไซม์ไลเปสวิเคราะห์ตัวอย่างตามวิธีของ Markweg *et al.*(1995) โดยนำตัวอย่างเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับsubstrate p – nitrophenylpalmitate (pNNP) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และบัฟเฟอร์ pH 2 – 13 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37^{0}C นาน 60 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างเติม Na_2CO_3 0.1M ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำตัวอย่างที่ได้เข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 g นาน 15 นาที และวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm

<u>ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส</u>

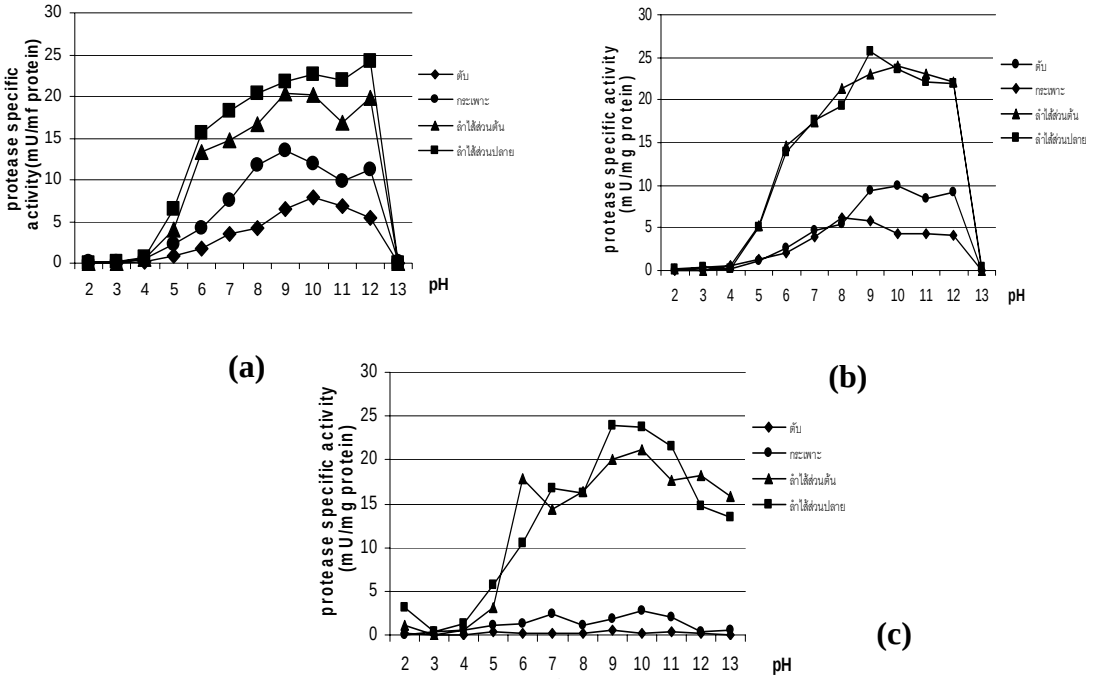
เอนไซม์อะไมเลสวิเคราะห์ตามวิธีของ Harshini *et al.*(2003) โดยนำเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับบัฟเฟอร์ที่ pH 2 – 13 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และ starch solution 1% ซึ่งเป็น substrate ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37^{0}C องศาเซลเซียส นาน 60 นาที จากนั้นเติม dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 1.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาเติมนำกลั่นปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 550 nm วิเคราะห์โปรตีนตามวิธีของ Lowry's method (Roe, 2001) ใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน

<u>การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ Analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้วิธี Duncant's New Multiple Range Test อนันต์ชัย (2539)

ผลและวิจารณ์การทดลอง

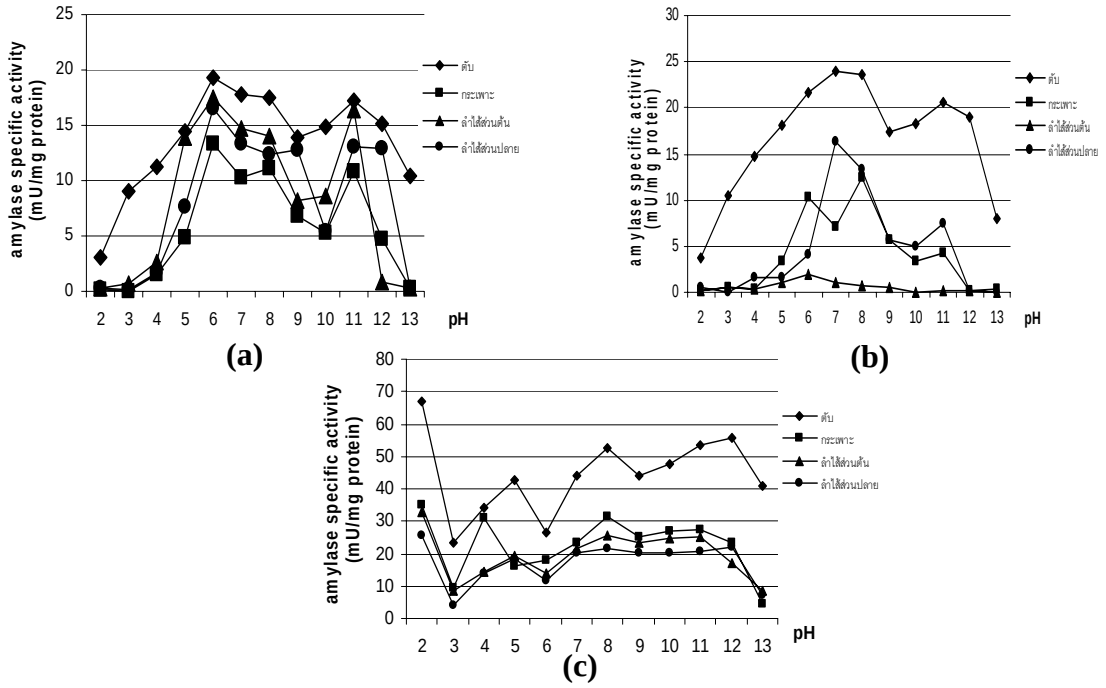
ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารได้แก่เอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และไลเปส ที่สกัดได้จากอวัยวะในระบบย่อยอาหารได้แก่ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม ที่ pH 2 – 13 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลาขนาด 5 กรัม มีค่าสูงสุด ที่ pH 9, 9, 12 และ 10 ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับของปลาขนาด 35.8 กรัม มีค่าสูงสุด ที่ pH 8, 10, 9 และ 10 ตามลำดับ และกิจกรรมของเอนไซม์ โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงสุด ที่ pH 10, 10, 9 และ 9 ตามลำดับ และพบว่าปลาขนาด 5.7 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงที่สุด (ภาพที่1) จะเห็นได้ว่าเอนไซม์โปรติเอสที่พบเป็นเอนไซม์ในกลุ่มซีรีนโปรติเอส (serine protease หรือ alkaline protease) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพ pH 6.7 – 9 และ 7 – 11 เอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็นเอนไซม์จำพวกทริปซิน และ ไคโมทริปซิน (ปราณี, 2547) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตมาจากตับอ่อนแล้วส่งมาที่ลำไส้เล็กเพื่อย่อยอาหารจำพวกโปรตีน (สุนีย์, 2543) ซึ่งจะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ โปรติเอสที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลายมีค่าสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดได้จากอวัยวะอื่น



ภาพที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (specific activity) ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ pH 2 – 13 จากปลาขนาด 5.7(a), 35.8(b) และ 92.1 กรัม (c)

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่พบในปลาขนาด 5.7 กรัม มีค่าสูงสุด ที่ pH 6 ในทุกอวัยวะ กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจาก ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายจากปลาขนาด 35.8 กรัม มี

ค่าสูงสุดที่ pH 7, 8, 6 และ 7 ตามลำดับ และกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ที่สกัดได้จากปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 2 ในทุกอวัยวะ และพบในปลาขนาด 92.1 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูงที่สุด (ภาพที่ 2) เอนไซม์อะไมเลสที่พบในการศึกษาครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่ม แอลฟา – อะไมเอลส (α - amylase) เป็นเอนไซม์ประเภทไฮโดรเลส พบได้ทั้งในพืชและในสัตว์ ซึ่งสามารถทำงานได้ดีที่ pH 6 – 7 สำหรับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และที่ pH 4.8 – 7 สำหรับแบคทีเรีย (Wong, 1995) ตับอ่อน (porcine pancreas) เป็นอวัยวะที่ผลิตและหลั่งเอนไซม์อะไมเลส ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งเป็น oligo และ disaccharide ซึ่งจะถูกย่อยต่อในลำไส้ ก่อนที่จะซึมผ่านผนังลำไส้เข้าสู่ร่างกาย (ปราณี, 2547) (แสดงในภาพที่ 2)

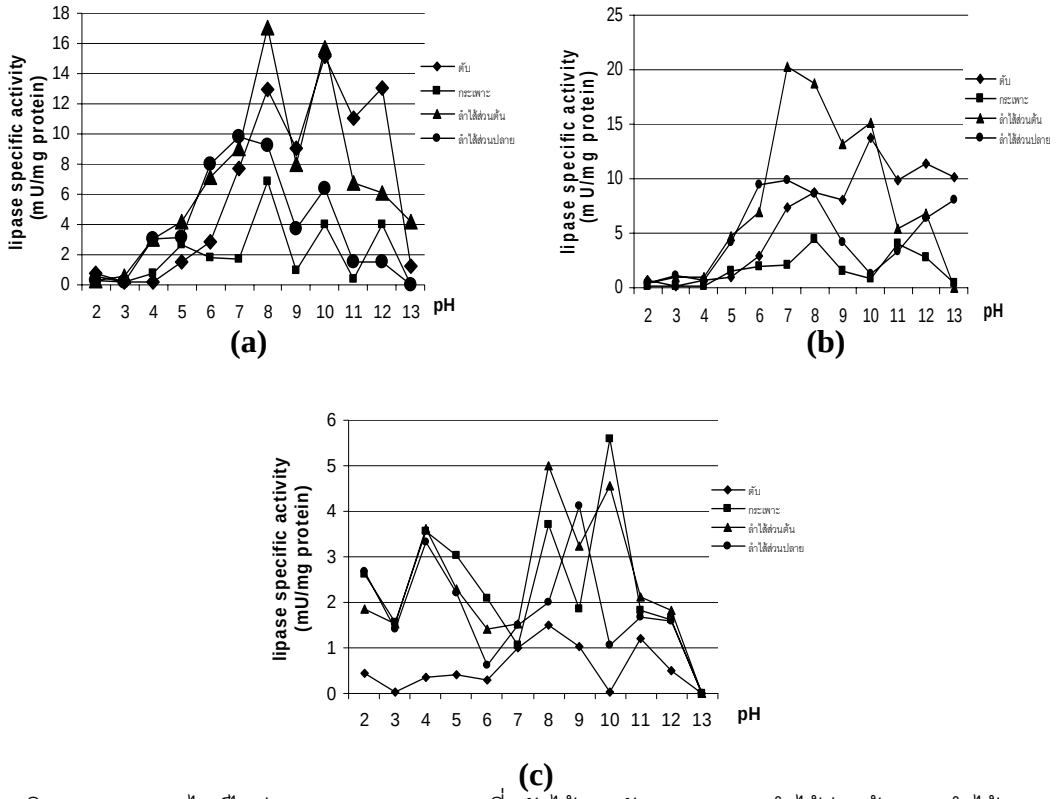


ภาพที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (specific activity) ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ pH 2 – 13 จากปลาขนาด 5.7(a), 35.8(b) และ 92.1 กรัม (c)

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายจากปลา 5.7 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 10, 8, 8 และ 7 ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายจากปลา 35.8 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 10, 8, 7 และ 7 ตามลำดับ และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายจากปลา 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 8, 10, 8 และ 9 ตามลำดับ และพบว่าปลาขนาด 35.8 กรัม มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด

(ภาพที่ 3) เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์กลุ่มเอสเทอร์เรส (esterase) ช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ ตับอ่อนเป็นอวัยวะที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส แต่ก็พบบ้างในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric lipase) (สุนีย์, 2543; Gisbert *et al.*, 1999)) เอนไซม์ไลเปสทำหน้าที่ได้ดีที่ pH 7 – 8.8 (จันทกานต์ และคณะ, 2549) ในปลาทั่วไปการย่อยไขมันเกิดบริเวณ pyloric ceca และลำไส้ส่วนต้น เมื่อไขมันถูกย่อยแล้วจะ

ได้กรดไขมันเป็นสายสั้น (Halver and Hardy, 2002) ซึ่งสารเหล่านี้จะถูกดูดซึมโดยตรงไปยัง brush border ของ enterocyte



ภาพที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์ไลปส (specific activity) ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ pH 2 – 13 จากปลาขนาด 5.7(a), 35.8(b) และ 92.1 กรัม (c)

ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารได้แก่เอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และเอนไซม์ไลเปส ที่สกัดได้จากอวัยวะระบบย่อยอาหารได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7 กรัม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7 กรัม

อวัยวะในระบบย่อยอาหาร	กิจกรรมของเอนไซม์ (specific activity)		
	เอนไซม์โปรติเอส mU/mg protein	เอนไซม์อะไมเลส mU/mg protein	เอนไซม์ไลเปส mU/mg protein
ตับ	7.894 ± 0.301 [d]	19.252 ± 0.109 [a]	15.100 ± 0.923 [a]
กระเพาะ	13.515 ± 0.134 [c]	13.284 ± 0.675 [c]	6.831 ± 1.318 [c]
ลำไส้ส่วนต้น	20.410 ± 0.070 [b]	8.209 ± 1.095 [d]	17.033 ± 0.492 [a]
ลำไส้ส่วนปลาย	24.260 ± 0.183 [a]	16.545 ± 0.023 [b]	9.767 ± 0.938 [b]
P - value	0.0001	0.0003	0.0014

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าสูงสุดในลำไส้ส่วนปลายเนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่พบในปลานิลเป็นเอนไซม์กลุ่ม alkaline protease ซึ่งทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง (สุนีย์, 2543) เอนไซม์อะไมเลสมีกิจกรรมสูงสุดในตับเนื่องจากตับจะมีตับอ่อนอยู่ล้อมรอบ ซึ่งตับอ่อนเป็นอวัยวะที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส (Halver and Hardy, 2002) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสพบว่ามีค่าสูงสุดในลำไส้ส่วนต้น ทั้งนี้เนื่องจากในปลาทั่วไปการย่อยไขมันเกิดบริเวณ pyloric ceca และลำไส้ส่วนต้น จึงทำให้พบกิจกรรมของเอนไซม์ในอวัยวะนี้สูงด้วย (Halver and Hardy, 2002)

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และเอนไซม์ไลเปสในปลาขนาด 35.8 กรัม ที่สกัดจากอวัยวะต่างๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าสูงสุดในลำไส้ส่วนปลาย กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสมีค่าสูงในตับ และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมีค่าสูงในลำไส้ส่วนต้นเช่นเดียวกับที่พบในปลาขนาด 5.7 กรัม

ตารางที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารที่อวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 35.8 กรัม

อวัยวะในระบบย่อยอาหาร	กิจกรรมของเอนไซม์ (specific activity)		
	เอนไซม์โปรติเอส mU/mg protein	เอนไซม์อะไมเลส mU/mg protein	เอนไซม์ไลเปส mU/mg protein
ตับ	9.921 ± 1.308 [c]	23.971 ± 1.058 [a]	13.684 ± 0.111 [b]
กระเพาะ	6.225 ± 0.644 [d]	12.433 ± 0.583 [c]	4.383 ± 0.238 [d]
ลำไส้ส่วนต้น	22.918 ± 0.745 [b]	1.878 ± 0.012 [d]	20.248 ± 0.421 [a]
ลำไส้ส่วนปลาย	25.694 ± 0.977 [a]	16.363 ± 0.138 [b]	9.872 ± 1.123 [c]
P - value	0.0001	0.0001	0.0001

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ปลาขนาด 92.1 กรัม พบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส และเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้ในแต่ละอวัยวะมีค่าแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 3

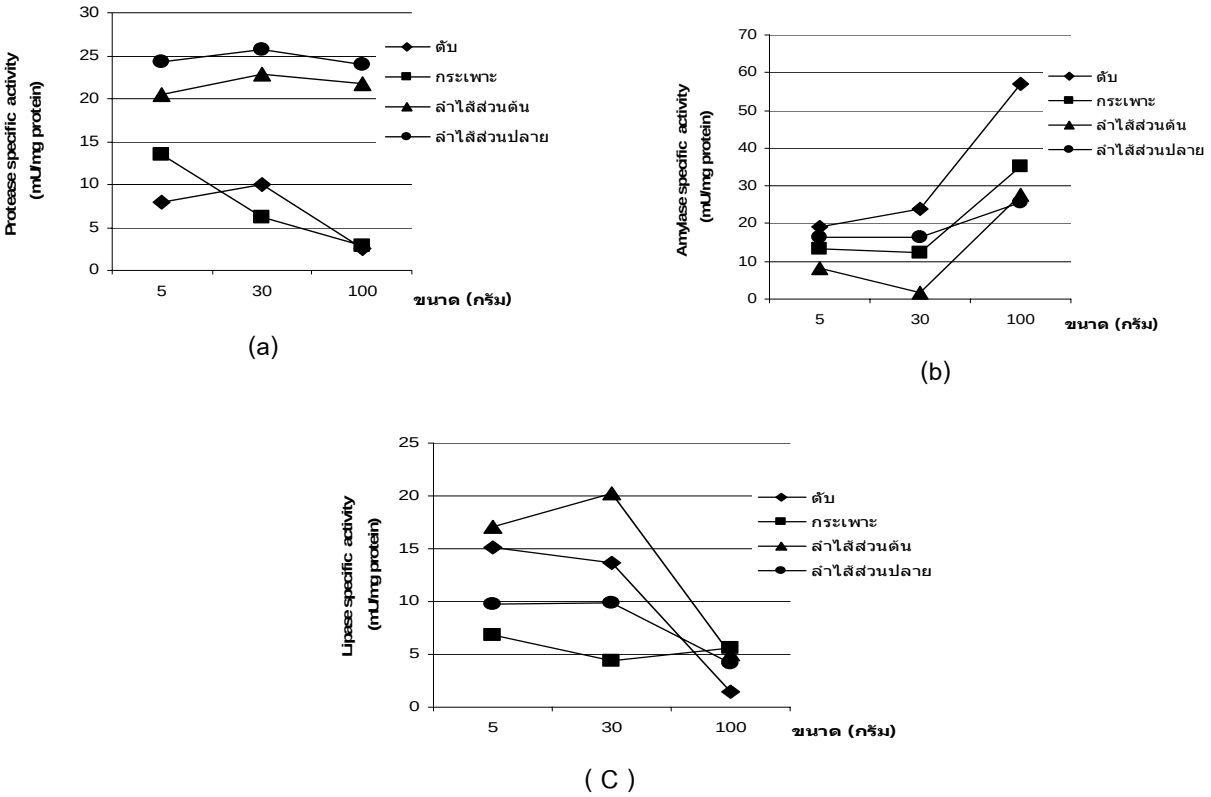
ตารางที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารที่อวัยวะต่างๆ ในปลานิลเพศผู้ขนาด 92.1 กรัม

อวัยวะในระบบย่อยอาหาร	กิจกรรมของเอนไซม์ (specific activity)		
	เอนไซม์โปรติเอส mU/mg protein	เอนไซม์อะไมเลส mU/mg protein	เอนไซม์ไลเปส mU/mg protein
ตับ	2.509 ± 0.108 [b]	57.153 ± 3.786 [a]	1.501 ± 0.125 [c]
กระเพาะ	2.852 ± 0.270 [b]	35.149 ± 5.106 [b]	5.598 ± 0.066 [a]
ลำไส้ส่วนต้น	21.752 ± 1.904 [a]	27.655 ± 0.668 [b]	5.010 ± 0.342 [ab]
ลำไส้ส่วนปลาย	23.923 ± 1.406 [a]	25.497 ± 4.242 [b]	4.107 ± 0.962 [b]
P - value	0.0001	0.0037	0.0049

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าสูงสุดในส่วนของลำไส้ส่วนปลาย เอนไซม์อะไมเลสมีกิจกรรมสูงสุดในตับ เช่นเดียวกับผลที่พบในปลาขนาด 5.7 และ 35.8 กรัม สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมีค่าสูงสุดในกระเพาะ ปลาขนาด 92.1 กรัม เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ทำให้กระเพาะมีการพัฒนาอย่างเต็มที่ สามารถสร้าง gastric lipase สำหรับย่อยสลายไขมันได้ เช่นเดียวกับที่พบในการศึกษาในปลา Siberian sturgeon ของ(Gisbert *et al.*, 1999) จึงทำให้พบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสมีค่าสูงในกระเพาะ

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ขนาดต่างกันมีค่าดังแสดงในภาพที่ 4(a) กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากตับและกระเพาะในปลาขนาด 5.7 กรัมมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายของปลาทั้ง 3 ขนาดมีค่าไม่แตกต่างกัน



ภาพที่4 กิจกรรมของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส(a) เอนไซม์อะไมเลส(b) และเอนไซม์ไลเปส(c) ที่สกัดได้จากตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดได้จากอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ขนาดต่างกันมีค่าดังแสดงในภาพที่ 4(b) กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดได้จากตับ

กระเพาะ และลำไส้ส่วนต้นในปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดได้จากลำไส้ส่วนปลายของปลาทั้ง 3 ชนิด มีค่าไม่แตกต่างกัน

กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ กระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย ในปลาที่ขนาดต่างกันมีค่าดังแสดงในภาพที่ 4(c) กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดได้จากตับ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายในปลาขนาด 5.7 และ 35.8 กรัม มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดได้จากกระเพาะของปลาทั้ง 3 ชนิด มีค่าไม่แตกต่างกัน

จากการศึกษาดังกล่าวพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และไลเปสมีค่าสูงในปลาขนาดเล็ก และจะมีค่าลดลงเมื่อปลามีขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่มีค่าต่ำในปลาขนาดเล็กและจะเพิ่มขึ้นในปลาขนาดใหญ่เนื่องจาก เมื่อปลาฟักออกจากไข่ และเจริญเติบโตอาหารธรรมชาติที่ปลาได้รับเป็นแพลงค์ตอนทั้งแพลงค์ตอนพืช และแพลงค์ตอนสัตว์ ซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีน และไขมันสูง (Halver and Hardy, 2002; Moyle and Joseph, 2000) นอกจากนี้ปลาขนาดเล็กเป็นปลาที่อัตราการเจริญเติบโตสูง มีการสังเคราะห์โปรตีน และมีความต้องการโปรตีน และพลังงานสูง ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และไลเปสจึงมีมากเพื่อตอบสนองต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีน และไขมันที่ได้รับจากอาหาร(วีรพงศ์, 2536; Shiau, 2002) สำหรับเอนไซม์อะไมเลสเป็นเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตจำพวกแป้ง ซึ่งพบได้ในอาหารจำพวกพืช การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสามารถเกิดได้จากอาหารที่ได้รับ คือชนิดและปริมาณอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตสามารถกระตุ้นให้เอนไซม์อะไมเสมีการทำงานเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งปลานิลที่ได้รับอาหารที่ระดับแป้งสูงกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะสูงขึ้นด้วย (De silva and Anderson, 1995)

สรุปผลการทดลอง

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และตับในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 12, 9 และ 9 และกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากปลาขนาด 5 กรัม มีค่ากิจกรรมสูงที่สุด กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่พบในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 6, 7 และ 2 และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากปลาขนาด 92.1 กรัม มีค่าสูงสุด สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่พบในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีค่าสูงสุดที่ pH 8, 7 และ 8 และกิจกรรมของเอนไซม์ที่สกัดจากปลาขนาด 35.8 กรัม มีค่าสูงที่สุด กล่าวได้ว่าปลาขนาดเล็กกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และไลเปสจะทำงานดีกว่าปลาขนาดใหญ่ และในทางตรงกันข้าม กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะทำงานได้ดีในปลาขนาดใหญ่ ปลาที่ขนาดต่างกัน กิจกรรมและชนิดของเอนไซม์ก็มีความแตกต่างกันด้วย ดังนั้นจากผลการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้าง และปรับปรุงสูตรอาหาร รวมถึงเลือกวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมในปลาแต่ละขนาด ทั้งด้านโภชนาการและราคา เพื่อผลิตปลานิลให้ได้คุณภาพ และเป็นการลดต้นทุนในการผลิตด้วย

เอกสารอ้างอิง

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

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2545. เอนไซม์ทางอาหาร. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพมหานคร.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์.

สุนีย์ สหัสโพธิ์. 2543. ชีวเคมีทางโภชนาการ. โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์.

อนันตชัย เขื่อนธรรม. 2539. หลักการวางแผนการทดลอง. ภาควิชาสถิติ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

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

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

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

Gimenez, A.V.F., I. Fernandez, R.M. Preciado, M. Oliva, D. Tova and H. Nolasco. 1999. The activity of digestive enzyme during the molting stage of the arched swimming *Callinectes Arcautus* orday, 1863. (Crustacea : decapoda: portunidae). Bull. Mar. Sci. 65 (1): 1 – 9.

Gisbert, E., M.C. Sarasquete, P. Williot and F. Castello – Orvay. 1999. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. J. Fish Biol. 55: 596 – 616.

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

Hashini, S., V. Reshmi and S. Sreekumar. 2003. A brain peptide stimulates release of amylase from the midgut tissue of larvae of *Opisina arenosella* Walk. (Lipidoptera : Cryptopsasidae). Neuropeptides 37: 133 – 139.

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.

Moyle, P.B. and J.J. Cech, Jr. 2000. Fish : An introduction to Ichthyology. Prentice Hall Inc. United States of America.

Roe, S. 2001. Protein Purification Techniques. 2th ed. Oxford University Press.

Shiau Shi – yen. 2002. Nutrient Requirments and Feeding of Finish for Aquaculture. CABI Publishing.

Shiau, S. - Y. and C.Q. Lung. 1993. No dietary vitamin B12 required for juvenile tilapia *Oreochromis niloticus X O. aureus*. Comp. Biochem. Physiol. 105A: 147 – 150.

Wong, Domonic W.S. 1995. Food Enzyme : Structure and Machanism. Chapman and Hall. New York.