



วิทยานิพนธ์

การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลา

สวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000

FEED DEVELOPMENT USING DIGESTIVE ENZYME TECHNOLOGY

FOR CULTURE OF SHARK CATFISH,

Helicophagus leptorhynchus Ng & Kottelat, 2000

นางสาวจันทกานต์ นุชสูง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

ปริญญา

ชีวเคมี

สาขา

ชีวเคมี

ภาควิชา

เรื่อง การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลา
สวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000

Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of Shark Catfish,
Helicophagus leptorhynchus Ng & Kottelat, 2000

นามผู้วิจัย นางสาวจันทกานต์ นุชสุข

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณี อิงคากุล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, ดร.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สุนันทา รัตนาโก, ปร.ศ.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วันัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาสูตรอาหาร โดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลาทรายหนู
Helicophagus leptorhynchus Ng & Kottelat, 2000

Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of Shark Catfish,
Helicophagus leptorhynchus Ng & Kottelat, 2000

โดย

นางสาวจันทกานต์ นุชสุข

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
พ.ศ. 2550

จันทกานต์ นุชสุข 2550: การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลาสวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี) สาขาชีวเคมี ภาควิชาชีวเคมี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรุณี อิงคากุล, Ph.D. 146 หน้า

ปลาสวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* เป็นปลาน้ำจืด ปัจจุบันผลผลิตของปลาชนิดนี้ทั้งหมดได้จากการทำประมงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยยังไม่มีมีการเพาะเลี้ยง การศึกษาคุณลักษณะและประสิทธิภาพการย่อยอาหารของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายหนูจึงนับว่ามีบทบาทสำคัญ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาสวายหนูในเชิงพาณิชย์ต่อไป งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหาร 6 ชนิด คือ อะไมเลส โปรติเนส ไลเปส เซลลูเลส ทริปซินและไคโมทริปซิน ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีตส กระเพาะอาหาร และลำไส้ของปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัยในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส และศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โดยวิธี *in vitro* digestibility ผลจากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ย่อยอาหารทุกชนิดมีกิจกรรมจำเพาะต่ำในวัยอ่อนและเพิ่มขึ้นเป็นลำดับจนถึงตัวเต็มวัย เอนไซม์อะไมเลสในปลาสวายหนูทุกระยะปลาสวายหนูทุกระยะสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุด ที่ pH 6-7 อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ทริปซินและไคโมทริปซิน แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอสิดและแอลคาไลน์โปรติเนสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 4 และ 9-10 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แอลคาไลน์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7-8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยเอนไซม์ทุกชนิดแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพนแครีตส รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างอาหารธรรมชาติ วัตถุดิบอาหารสัตว์ และอาหารสำเร็จรูป 22 ชนิด ของเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย พบว่าแหล่งอาหาร โปรตีนที่เอนไซม์จากปลาสวายหนูย่อยได้ดีที่สุด คือ โปรตีนข้าวสาลีและเนื้อหอย *Corbicula* sp. ส่วนแหล่งอาหารคาร์โบไฮเดรตที่เอนไซม์จากปลาสวายหนูย่อยได้ดีที่สุด คือ ปลาข้าวเจ้าหนึ่ง เนื้อหอย *Corbicula* sp. และรำละเอียด

จันทกานต์ นุชสุข
ลายมือชื่อนิสิต

อรุณี อิงคากุล
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

24 / พ.ค. / 2550

Chanthakan Nuchsuk 2007: Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of Shark Catfish, *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000. Master of Science (Biochemistry), Major Field: Biochemistry, Department of Biochemistry. Thesis Advisor: Assistant Professor Arunee Engkagul, Ph.D. 146 pages.

Shark catfish, *Helicophagus leptorhynchus* is a freshwater fish. At present, the yield of shark catfish is from riparian fisheries only because attempts to culture the species have not yet successful. Characterization of digestive enzymes and feed digestibility should provide critical information prerequisite for the development of artificial feed formulation for commercial culture. The aim of this study was to determine specific activities of six digestive enzymes, amylase, proteinases, lipase, cellulase, trypsin and chymotrypsin collected from hepatopancreas, stomach, and intestine in juvenile and adult shark catfish under various pH 2-12 and temperature 20-80 °C conditions. The degree of hydrolysis of feedstuffs with crude enzyme extracts was determined through the *in vitro* digestibility technique. The results indicated progressive increase of all digestive enzymes tested during development. Characterization of digestive activities from hepatopancreas, intestine, and stomach revealed the presence of the 6 main digestive enzymes with the following optimum conditions at every stage of development. Amylase pH 6-7, 30-40 °C; trypsin and chymotrypsin pH 7, 60 °C; acid proteinase pH 4 , 50 °C, alkali proteinase pH 9-10, 50 °C; alkali lipase pH 7-8, 50 °C; acid cellulase pH 6, 50 °C. All enzymes showed higher specific activities in hepatopancreas than in stomach and intestine.

In vitro digestibility test was performed on 22 samples including natural feed, feedstuffs and commercial feed using crude enzyme extracts from all sample groups. The two most efficiently digested protein sources were wheat gluten and *Corbicula* sp. For carbohydrate sources, broken rice, rice bran and *Corbicula* sp. were the three most efficiently digested samples.

Chanthakan Nuchsuk
Student's signature

Arunee Engkagul
Thesis Advisor's signature

24 / May / 2007

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. อรุณี อิงคากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักเป็น
อย่างสูงที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้ และให้คำปรึกษาในด้านการทดลองตลอดจนการเรียบเรียง
และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อุทัยวรรณ โกวิทวาทิ และ
ผศ. ดร. อรพินท์ จินตสถาพร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจ
แก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ ดร.ดวงพร วรสุนทรโรสด ประธานการสอบ
และ ดร.สิทธิรักษ์ รอยตระกูล ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไข
วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ Dr. Krisna Rungruangsak-Torrissen Institute of Marine Research,
Norway ที่กรุณาให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะเกี่ยวกับเทคนิค *in vitro* digestibility รศ.กรรณิการ์
ัชชาวลวานิช ที่กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับเรื่องกายวิภาคของอวัยวะย่อยอาหารในปลาสวายหนุ
และ ดร. จินตนา สและน้อย ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับเรื่องการศึกษาความคง
ตัวของเอนไซม์ย่อยอาหาร คุณชัชวาลิ กรุดพันธ์ โครงการจัดตั้งภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รวมถึงชาวประมงในพื้นที่เก็บตัวอย่างทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ใน
การเก็บตัวอย่าง คุณกมลทิพย์ ประสมเพชร และคุณบุษกร ขวงจอหอ เจ้าหน้าที่ประจำ
ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร และคุณกมลพร มาแสวง
เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ทดลองและให้คำแนะนำ
ในการวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง และที่สำคัญขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ
ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และคำปรึกษา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ที่ให้การอบรม สั่งสอน ให้การ
สนับสนุนในด้านการศึกษแก่ลูกคน ถึงแม้จะทำงานหนักก็เพียงเพื่อให้ลูกทุกคนได้รับการศึกษา
อย่างเต็มความสามารถ และให้กำลังใจลูกเสมอมา ขอขอบคุณน้องชายที่ให้กำลังใจเสมอมาเช่นเดียวกัน
ท้ายที่สุดนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า ทั้งหมดนี้
เพื่อให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จครั้งนี้

จันทกานต์ นุชสุข

พฤษภาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	33
อุปกรณ์	33
วิธีการ	34
ผลและวิจารณ์	48
ผล	48
วิจารณ์	91
สรุปและข้อเสนอแนะ	105
สรุป	105
ข้อเสนอแนะ	107
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	108
ภาคผนวก	120
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	146

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สภาวะที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ	73
2	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่างๆ ที่ pH 7 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	79
3	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 และ 5-20 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	85
4	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	87
5	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	88
6	คุณค่าทางโภชนาของอาหารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัยโดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	90
7	สับสเตรทจำเพาะของเอนไซม์โปรติเนส	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	อาหารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนุระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	128
2	คุณค่าทางโภชนาของวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิด	129
3	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนุช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	137
4	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนุช่วงขนาด 5-20 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	138
5	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนุช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	140
6	ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนุช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี <i>in vitro</i> digestibility	143

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปลาสวายหนู <i>Helicophagus leptorhynchus</i> ระยะตัวเต็มวัย	4
2	ตับของปลาสวายหนู	49
3	กระเพาะอาหารของปลาสวายหนู	49
4	ท่อทางเดินอาหารของปลาสวายหนู	49
5	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12	51
6	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH	54
7	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12	57
8	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH	60
9	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12	62
10	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH	65
11	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12	67
12	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซิน ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีสปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ pH 7	71
14	ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โคโมทริปซิน ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีสปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตรในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ pH 7	72
15	การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition	75
16	การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเนส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition	76
17	การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition	77
18	การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition	78
19	ความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7	80
20	ความคงตัวของเอนไซม์โปรติเนสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7	81
21	ความคงตัวของเอนไซม์ไลเปสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7	82
22	ความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BSA (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร	122
2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร	123
3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร	124
4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน DL-alanine (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร	125
5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร	126
6 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน <i>p</i> -nitroaniline (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร	127
7 ตับของปลาบึกอายุ 3½ ปี ตัดหนาประมาณ 1 ไมครอน	136

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

<	=	ช่วงขนาดน้อยกว่า
>	=	ช่วงขนาดมากกว่า
°C	=	องศาเซลเซียส

การพัฒนาสูตรอาหารโดยใช้เทคโนโลยีทางเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงปลา
สวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000

Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of
Shark Catfish, *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000

คำนำ

ปลาสวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* จัดอยู่ในวงศ์ปลาสวาย เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีรสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาด และมีคุณค่าทางอาหารสูง นอกจากนี้ปลาน้ำจืดยังมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นปลาสวยงามพื้นเมืองเพื่อส่งออกตลาดต่างประเทศ อย่างไรก็ตามผลผลิตของปลาชนิดนี้ทั้งหมดได้จากการทำประมงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยยังไม่มีมีการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ พบว่าในประเทศไทยมีการกระจายพันธุ์บริเวณลุ่มแม่น้ำโขงและแม่น้ำเจ้าพระยา (Ng and Kottelat, 2000) โดยพบชุกชุมในแม่น้ำมูล โดยเฉพาะอย่างยิ่งลุ่มแม่น้ำมูลตอนล่าง ในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของปลาน้ำจืดมากที่สุดในลุ่มแม่น้ำมูล เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่เฉพาะตัว นอกจากนี้พื้นที่ของแม่น้ำมูลหลายพื้นที่มีลักษณะเป็นทรายหรือดินปนทราย ซึ่งพบหอยฝาเดียว (univale) และหอยสองฝา (bivalve) อยู่อย่างชุกชุมถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของปลาสวายหนู

การพัฒนาความรู้พื้นฐานทางชีวเคมีของการย่อยอาหาร โดยศึกษาสมบัติและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนและการเจริญเติบโตของสัตว์จึงเป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะสัตว์ขนาดเล็กหรือสัตว์ระยะวัยอ่อนซึ่งมีพัฒนาการของระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ ความสามารถในการย่อยและการดูดซึมอาหารที่ย่อยแล้วเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตยังทำได้ไม่เต็มที่ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคทางห้องปฏิบัติการซึ่งสามารถใช้เป็นวิธีการเบื้องต้นสำหรับประเมินคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์ ประสิทธิภาพการย่อย รวมถึงประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารและการเจริญเติบโตของสัตว์ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวมีข้อดีหลายประการ คือ สะดวก ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ที่สำคัญใช้เวลาสั้น ค่าใช้จ่ายไม่แพง และข้อมูลที่ได้ทำให้สามารถเลือกใช้วัตถุดิบที่สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับศักยภาพการย่อยอาหารของสัตว์

ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งประเด็นไปที่การศึกษาคูณลักษณะและประสิทธิภาพของ เอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากระบบทางเดินอาหารของปลาสวายหนูแต่ละระยะ โดยใช้ความรู้และเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปสู่การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอย่างมีคุณภาพ อันเป็นการพัฒนาเพื่อให้เกิดความยั่งยืนในการเลี้ยงปลาชนิดนี้ในเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลส โปรตีนเอส ไลเปส เซลลูเลส ทริปซิน และไคโมทริปซิน จากระบบทางเดินอาหารของปลาสวายหนู *Helicophagus leptorhynchus* ระยะเวลาอ่อนจนถึงระยะตัวเต็มวัย

2. ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในอาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหาร อาหารเม็ดสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนู ตั้งแต่ระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro* digestibility

การตรวจเอกสาร

1. อนุกรมวิธานและชีววิทยา

ปลาสาวยหนู *Helicophagus leptorhynchus* Ng and Kottelat, 2000 (ภาพที่ 1) เป็นปลาน้ำจืดสามารถจัดลำดับอนุกรมวิธานตาม Ng and Kottelat (2000) ได้ดังนี้

Phylum Chordata

Class Actinopterygii

Order Siluriformes

Family Pangasiidae

Genus *Helicophagus*

Species *Helicophagus leptorhynchus*



ภาพที่ 1 ปลาสาวยหนู *Helicophagus leptorhynchus* ระยะตัวเต็มวัย

ปลาสาวยหนู *H. leptorhynchus* เป็นปลาเศรษฐกิจชนิดหนึ่งซึ่งจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับปลาสาวยและปลาบึก มีรสชาติดีและเป็นที่ต้องการของตลาด ปลาขนาดเล็กมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นปลาสาวยงามเพื่อส่งออกต่างประเทศ แต่ผลผลิตของปลาชนิดนี้ทั้งหมดได้จากการทำประมงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยยังไม่มีกรเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ในปัจจุบันปริมาณปลาสาวยหนูที่จับได้มีจำนวนลดลง สถานีประมงน้ำจืดหนองคายจึงได้ดำเนินการศึกษาและทดลองเพาะพันธุ์ปลาสาวยหนูขึ้น แต่ยังไม่ประสบความสำเร็จ (สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดหนองคาย, 2528) มีการกระจาย

พันธุ์ในเขตอินโดจีน บริเวณลุ่มแม่น้ำโขงและแม่น้ำเจ้าพระยา (Ng and Kottelat, 2000) โดยพบชุกชุมในแม่น้ำมูล โดยเฉพาะอย่างยิ่งลุ่มแม่น้ำมูลตอนล่าง ในเขตจังหวัดอุบลราชธานีซึ่งเป็นพื้นที่ทางตอนกลางของลุ่มแม่น้ำโขงที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของปลาน้ำจืดมากที่สุด เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่เฉพาะตัว โดยบริเวณที่เชื่อมต่อกับแม่น้ำโขง ในเขตอำเภอโขงเจียม จนถึงบริเวณแก่งสะพือ อำเภอพิบูลย์รักษ์ จังหวัดอุบลราชธานี มีลักษณะเป็นแก่งหินสลับกับร่องน้ำลึก ซึ่งมีลักษณะแตกต่างไปตามฤดูกาล นอกจากนี้บริเวณริมฝั่งแม่น้ำมูลในเขตอำเภอเมืองและอำเภวารินชำราบลักษณะเป็นที่ราบลุ่มและมีหนองน้ำจำนวนมากที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทิศทางการไหลของแม่น้ำมูลในอดีต โดยแหล่งน้ำเหล่านี้จะถูกน้ำจากแม่น้ำมูลท่วมหลากในช่วงฤดูฝน เป็นแหล่งสืบพันธุ์วางไข่และเจริญเติบโตของลูกปลาวัยอ่อนหลายชนิด ยกเว้นในช่วงฤดูแล้งที่สามารถพบปลาสร้อยได้ทั้งในแม่น้ำและบริเวณน้ำท่วมถึงของลุ่มน้ำสงครามตอนล่าง (Boonyaratpalin *et al.*, 2002) นอกจากนี้พื้นที่ท้องน้ำของแม่น้ำมูลหลายพื้นที่มีลักษณะเป็นทรายหรือดินปนทราย ซึ่งพบหอยอยู่อย่างชุกชุมทั้งหอยฝาเดียว (univale) และหอยสองฝา (bivalve) ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของปลาสร้อย จึงมีชื่อท้องถิ่นในเขตจังหวัดอุบลราชธานีว่า “ปลาหอย” เนื่องจากพบหอยจำนวนมากในท้องทางเดินอาหารของปลาชนิดนี้

2. อาหารและระบบการย่อยอาหาร

อาหารของปลาสร้อย

อาหารและโภชนาการมีความสำคัญต่อชีวิตสัตว์น้ำเช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่น สัตว์น้ำจำเป็นต้องกินอาหารและอาหารที่สัตว์น้ำกินจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นโครงสร้างร่างกายของสัตว์น้ำ การกินและการเปลี่ยนแปลงอาหารในร่างกายสัตว์น้ำเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างมีระบบแต่สลับซับซ้อนและเชื่อมโยงเกี่ยวพันกับปัจจัยหลายด้าน (เวียง, 2540) อาหารประกอบด้วยสารอาหาร ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย สารอาหารมี 6 ประเภท คือ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และน้ำ

จากการศึกษาชนิดของอาหารที่พบในปริมาณมากในกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาสร้อยที่จับได้จากลุ่มน้ำสงครามตอนล่าง พบว่ามีลักษณะพิเศษกว่าปลาชนิดอื่น คือ 76 เปอร์เซ็นต์ เป็นหอย (Baird *et al.*, 1999) ทั้งหอยฝาเดียว (Smith, 1945) และหอยสองฝา (Roberts and Vidthayanon, 1991) และอีก 24 เปอร์เซ็นต์ เป็นสัตว์หน้าดิน (Boonyaratpalin *et al.*, 2002)

เช่นเดียวกับที่พบในกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาสวายหนูที่จับได้จากประเทศลาวตอนใต้ จากรายงานของ Ng and Kottelat (2000) พบว่า *H. leptorhynchus* จะกินหอยสองฝา *Corbicula* sp. และ *Physunio* sp. เป็นหลัก การที่ร่างกายของปลาจะสามารถนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ อาหารต้องถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของปลาก่อนจึงจะถูกดูดซึมไปใช้ในการเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และสืบพันธุ์ต่อไป

ระบบการย่อยอาหาร

ระบบย่อยอาหาร เป็นระบบหนึ่งที่มีความสำคัญโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา โดยอาหารจะถูกย่อยจากสารอาหารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่และซับซ้อนให้เป็นสารอาหารที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก เพื่อที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดแล้วถูกเผาผลาญในระดับเซลล์ได้เป็นพลังงานออกมาเพื่อใช้ในการชีวิตประจำวัน

ระบบการย่อยอาหารของปลาแต่ละชนิดอาจมีความแตกต่างกันทางกายวิภาคหรือทางสรีรวิทยา แต่อย่างไรก็ตามระบบการย่อยอาหารของปลาโดยทั่วไปจะประกอบด้วยส่วนสำคัญ ได้แก่ ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract) อวัยวะช่วยย่อยอาหาร (accessory gland) ซึ่งได้แก่ ตับ ตับอ่อน และถุงน้ำดี และเอนไซม์ย่อยอาหาร (digestive enzymes) การศึกษาระบบการย่อยอาหารของปลาทำให้ทราบถึงพฤติกรรมการกินอาหารของปลา ระยะเวลาที่อาหารหมดจากกระเพาะอาหาร และประสิทธิภาพการย่อยอาหาร ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการผลิตอาหาร และการให้อาหารปลา (วีรพงศ์, 2536)

2.1 ท่อทางเดินอาหาร (digestive tract)

ท่อทางเดินอาหารของปลาประกอบด้วย ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร และลำไส้ ซึ่งอาจมีรูปร่างลักษณะหลากหลายเนื่องจากพฤติกรรมการกินอาหารที่แตกต่างกัน ปลาว่ายอ่อนที่เพิ่งฟักออกจากไข่จะมีระบบทางเดินอาหารที่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ แต่เมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้นจะมีการพัฒนาของระบบทางเดินอาหารและเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อทำหน้าที่ย่อยอาหารได้อย่างสมบูรณ์

เนื่องจากยังไม่มีเอกสารทางวิชาการที่ให้รายละเอียดเกี่ยวกับข้อมูลทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนู จึงได้เทียบกับข้อมูลของปลาสวายและปลาบึกซึ่งจัดอยู่ในวงศ์เดียวกัน อวัยวะในระบบย่อยอาหารของปลาบึกและปลาสวายประกอบด้วย ปาก ช่องปาก คอหอย หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ ทวารหนัก ตับ ตับอ่อน ถุงน้ำดี และถุงลม (ลำพอง, 2534; เวียง, 2540)

2.1.1. ปาก (mouth)

ปากเป็นอวัยวะที่ใช้ในการกินอาหาร ซึ่งจะผ่านต่อไปยังหลอดอาหารและกระเพาะอาหาร ตำแหน่งและขนาดของปากของปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับลักษณะการกินอาหาร (วีรพงษ์, 2536) ปากของปลาบึกอยู่ทางด้านหน้าสุดของหัว (terminal mouth) (ลำพอง, 2534) ปลาสวายมีปากต่ำและกว้าง (เวียง, 2540) ส่วนปากของปลาสวายหนูอยู่ทางด้านล่าง (inferior mouth) ประกอบด้วยอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารดังนี้

2.1.1.1 ฟัน (teeth)

ฟันมีหน้าที่บดหรือกัดอาหารขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงก่อนถูกนำไปย่อยในกระเพาะอาหารหรือลำไส้ (วีรพงษ์, 2536) ฟันของปลาบึกพบอยู่ที่บริเวณขากรรไกรของปลาบึกอายุ 6 เดือนเท่านั้น โดยจะฝังอยู่ในกระดูกขากรรไกร ไม่มีรากฟัน (ลำพอง, 2534) ปลาสวายมีฟันที่ขากรรไกรบนและล่างเป็นซี่เล็กๆ เรียงกันเป็นแถว และมีฟันที่เพดานปากเรียงเป็นสองแถว (เวียง, 2540) ส่วนปลาสวายหนูพบฟันอยู่ที่บริเวณขากรรไกรบน ได้แก่ ปริแม็กซิลลารี ทิช (premaxillary teeth) (Ng and Kottelat, 2000) และบนเพดานปาก ได้แก่ โวมอริน ทิช (vomerine teeth) แต่ไม่มีฟันชนิด พาลาทีน ทิช (palatine teeth)

2.1.1.2 ซี่กรอง (gill raker)

ซี่กรองมีลักษณะคล้ายซี่หวีเรียงกันเป็นแถวอยู่บนแกนเหงือก (gill arch) มีหน้าที่ป้องกันไม่ให้อาหารหรือวัสดุชิ้นใหญ่ที่มากับน้ำติดอยู่ในช่องคอ

2.1.2. ช่องปากและคอหอย (pharynx)

ช่องปากและคอหอยเป็นบริเวณที่อยู่ถัดจากอู่ปากลงไปก่อนถึงหลอดคอ เป็นช่องแคบเหมือนกรวยก่อนจะนำไปสู่หลอดคอ ช่วงนี้จะสั้นและมีซี่กรองยื่นล้ำเข้ามา ทำหน้าที่สกัดกั้นหรือกรองอาหารแล้วส่งผ่านไปยังหลอดคอ

2.1.3. หลอดอาหาร (esophagus)

หลอดอาหารเป็นส่วนที่อยู่ระหว่างปากและกระเพาะอาหาร เป็นหลอดหรือท่อที่แท้จริง แต่สั้นมาก เนื่องจากปลาไม่มีคอ หลอดคอจะแคบกว่าช่องคอเล็กน้อย ทำหน้าที่เป็นทางผ่านของอาหารจากปากลงสู่กระเพาะอาหาร

2.1.4. กระเพาะอาหาร (stomach)

กระเพาะอาหารเป็นส่วนหนึ่งของระบบทางเดินอาหารมีหน้าที่ในการย่อยและดูดซึมสารอาหาร ปลาแต่ละชนิดจะมีขนาดและรูปร่างของกระเพาะอาหารแตกต่างกันขึ้นกับพฤติกรรมการกินอาหาร ระยะเวลาในการพัฒนาของกระเพาะอาหารจนทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์แตกต่างกันไปในปลาแต่ละชนิด กระเพาะอาหารแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ กระเพาะอาหารส่วนต้น (cardiac portion) และกระเพาะอาหารส่วนปลาย (pyloric portion) ทั้งส่วนต้นและส่วนปลายไม่มีเส้นแบ่งเขตให้เห็นชัดเจน แต่พิจารณาจากที่ตั้งและลักษณะบางประการ คือ ส่วนต้นอยู่ติดกับหลอดคอ และยื่นเข้ามาในช่องท้องเล็กน้อย ลักษณะเป็นท่อตรง เนื้อบางกว่า มีขนาดเกือบเท่าหลอดคอ แต่อาจขยายใหญ่กว่าหลอดคอ ผิวพื้นยื่นขรุขระเป็นคลื่นวิ่งไปตามส่วนกว้าง ทำให้เกิดสันเล็กๆ จำนวนมากในบริเวณนั้น เมื่อมาถึงกระเพาะอาหารส่วนปลายจะมีขนาดใหญ่ขึ้น กล้ามเนื้อหนาขึ้น ผิวภายในเป็นรอยย่นถี่ถี่ลงและไม่สม่ำเสมอ ผิวด้านนอกเรียบเช่นเดียวกับส่วนต้น และมีต่อมเล็กๆ ทำหน้าที่ขับน้ำย่อย เซลล์บุผนังกระเพาะอาหารประกอบด้วยเซลล์ที่เรียกว่า ออกซินติค เซลล์ (oxyntic cell) ซึ่งสามารถผลิตเปปซิน (pepsin) และกรดเกลือ (HCl) ออกมาทำหน้าที่ย่อยอาหาร และมีผลทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรด แม้ว่ากระเพาะอาหารจะมีสภาพเป็นกรดเมื่อมีการย่อยอาหาร แต่ผนังกระเพาะอาหารก็มีเซลล์ผลิตเมือก (mucous cell) ซึ่งผลิตสารพวกไซอาโลมิวซิน (sialomucins) หรือซัลโฟมิวซิน (sulfomucins) ออกมาทำหน้าที่เคลือบผนังกระเพาะอาหารเพื่อป้องกันการย่อยโดยน้ำย่อย (Smith, 1989) กระเพาะอาหารของปลาบึกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

กระเพาะส่วนต้นมีต่อมสร้างน้ำย่อยและกระเพาะส่วนท้ายไม่มีต่อมสร้างน้ำย่อย (ลำพอง, 2534) จากการศึกษาลูกตาของกระเพาะอาหารในปลาแซนเนล แคทฟิช *Ictalurus punctatus* พบว่ามีลักษณะเป็นรูปตัวอักษร ง หรือ ตัวอักษร เจ (J-shaped หรือ caccal type) (Sis et al., 1979) มีเยื่อบุผิวเป็นชนิด simple columnar epithelium กระเพาะอาหารของปลานี้ก็มีลักษณะเป็นถุง ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ กระเพาะส่วนต้นมีต่อมสร้างน้ำย่อย (gastric gland) และกระเพาะส่วนปลายไม่มีต่อมสร้างน้ำย่อย (ลำพอง, 2534) กระเพาะอาหารของปลาสาวยเป็นรูปตัวยู (เวียง, 2540)

2.1.5. ลำไส้ (intestine)

ลำไส้ของปลาแบ่งออกเป็นสองส่วน ได้แก่ มิดกัท (midgut) และฮายกัท (hindgut) ซึ่งมีลักษณะทางกายวิภาคใกล้เคียงกัน โดยเป็นท่อยาวไปตลอดความยาวของช่องท้องไปเปิดออกบริเวณช่องทวาร มิดกัทจะมีทั้งเซลล์หลั่งน้ำย่อย (secretory cell) และเซลล์ผลิตเมือก ในขณะที่ฮายกัทมีเฉพาะเซลล์ผลิตเมือก โดยเซลล์หลั่งน้ำย่อยสามารถหลั่งน้ำย่อยหรือเอนไซม์ออกมาย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมัน ส่วนเซลล์ผลิตเมือกจะผลิตสารจำพวก มิวโคโพลีแซคคาไรด์ (mucopolysaccharide) ออกมาเคลือบลำไส้เพื่อป้องกันการย่อยโดยน้ำย่อย รอยต่อของมิดกัทและฮายกัทเมื่อดูด้วยสายตาไม่สามารถแยกกันได้อย่างชัดเจน แต่ปลาบางชนิด เช่น ปลาแซนเนล แคทฟิช อาจมี อิลิโอซีคาล วาล์ว (ileocecal valve) ที่สามารถใช้แยกความแตกต่างได้ จากการศึกษานี้ของระบบย่อยอาหารในปลาแซนเนล แคทฟิช พบว่าลำไส้ไม่มีไส้ติ่ง (pyloric caeca) ส่วนท้ายของลำไส้มีหูรูด (intestinal sphincter) (Grizzle and Rogers, 1976) ลำไส้ของปลานี้ก็แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย (ลำพอง, 2534) ลำไส้ของปลาสาวยมีความยาวประมาณ 3.5 เท่าของความยาวลำตัว (เวียง, 2540)

2.2 อวัยวะช่วยย่อยอาหารหรือต่อมสมทบ (accessory gland)

ในการย่อยอาหารของปลาก็เช่นเดียวกับสัตว์อื่น ๆ ทั่วไป คือ ต้องอาศัยน้ำย่อยจากต่อมต่างๆ ที่อยู่ใกล้กับกระเพาะอาหารและลำไส้มาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารให้ดียิ่งขึ้น (วิมล, 2540) ได้แก่

2.2.1 ตับ (liver) และ ตับอ่อน (pancreas)

ตับมีขนาดใหญ่เกือบเต็มพื้นที่ของช่องท้องซึ่งมากกว่าอวัยวะอื่น ๆ รูปร่างและขนาดแตกต่างกันไป และแตกแขนงออกเป็นหลายพู (lobe) มีความสั้นยาวต่าง ๆ กัน เนื้อเยื่อตับของปลาแซลมอน แอทฟิช แบ่งเป็นพูไม่ชัดเจน ประกอบด้วย lamina หนา (Anderson and Mitchum, 1974; Hinton and Pool, 1976) เป็นอวัยวะที่ช่วยในการย่อยอาหาร ตับอ่อนมีต้นกำเนิดจากบางส่วนของลำไส้ โดยมีท่อขนาดเล็กมากติดต่อกับลำไส้เล็กตอนต้น บริเวณถุงน้ำดี ตำแหน่งของตับอ่อนอยู่ท้ายกระเพาะอาหารตรงบริเวณไส้ติ่งใกล้เคียงกับม้าม และมีบางส่วนแนบอยู่ในตับ มีหน้าที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ทริปซิน และอินซูลิน ปลาบางชนิด เช่น ปลาแซลมอน แอทฟิช ปลาคาร์พ พบว่าเนื้อเยื่อของตับอ่อนบางส่วนแทรกเข้าไปภายในเนื้อเยื่อตับตามแขนงของเส้นเลือด hepatic portal vein รวมเรียกว่า เฮพาโตแพนแครีซ (hepatopancreas) (Takashima and Hibiya, 1995; Kendall and Hawkins, 1975) ตับอ่อนของปลาบึกจะแยกกันอยู่ไม่รวมกันเป็นก้อน มีบางส่วนกระจายอยู่ตาม mesentery และเส้นเลือดขนาดใหญ่ของทางเดินอาหาร บางส่วนแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อตับเป็นชนิดเฮพาโตแพนแครีซ สำหรับ exocrine pancreatic cells พบอยู่ภายในเนื้อเยื่อตับ ซึ่งเซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ตับ (ภาพผนวกที่ 7A และ 7B) (ลำพอง, 2534)

2.2.2 ถุงน้ำดี (gall bladder หรือ bile sac)

มีลักษณะเป็นรูปรี เป็นถุงบางใสขนาดเล็กมีสีเขียวแก่หรือน้ำเงินเข้ม ตำแหน่งของถุงน้ำดีจะอยู่ในตับ ระหว่างง่ามของกลีบตับก่อนมาทางท้าย ภายในถุงจะมีน้ำดีซึ่งผลิตมาจากตับอยู่เต็ม โดยส่งผ่านทางซิสติค ดักท์ และถุงน้ำดีจะติดต่อกับลำไส้เล็กส่วนต้นทางคอมมอน บายล์ ดักท์ (common bile duct) น้ำดีทำหน้าที่ย่อยไขมันให้มีโมเลกุลเล็กลง เพื่อสะดวกแก่การดูดซึมของผนังลำไส้ นอกจากนี้ยังทำให้น้ำย่อยมี pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยอาหารภายในลำไส้

2.2.3 ม้าม (spleen)

มีสีแดงเข้ม ตั้งอยู่ใกล้กับส่วนต้นของกระเพาะอาหาร เป็นส่วนหนึ่งของระบบท่อน้ำเหลือง (lymphatic system)

3. เอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร

การย่อยอาหารเป็นกระบวนการที่อาหารในท่อทางเดินอาหารถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงเพื่อถูกซึมผ่านเซลล์เยื่อทางเดินอาหารเข้าไปในกระแสโลหิต โดยโปรตีนจะถูกย่อยเป็นกรดอะมิโน ส่วนไขมันจะถูกย่อยเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล และคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยเป็นน้ำตาล กระบวนการเหล่านี้จำเป็นต้องมีเอนไซม์ย่อยอาหารหรือน้ำย่อยมาทำหน้าที่ย่อยอาหารก่อนเพื่อนำไปเผาผลาญให้ได้พลังงานต่อไป การย่อยอาหารของปลาจะเกิดขึ้นที่กระเพาะอาหารหรือลำไส้เท่านั้นเนื่องจากมีเอนไซม์อยู่หลายชนิด (วีรพงศ์, 2536)

3.1 อะไมเลส (amylase)

อะไมเลสเป็น extracellular enzyme ในปลากินพืช และปลากินพืชและเนื้อ ส่วนใหญ่จะได้มาจากการหลั่งของผนังลำไส้ กระเพาะอาหาร ตับ ตับอ่อน และไส้ติ่ง ในขณะที่ปลากินเนื้อส่วนใหญ่ เช่น ปลากะพงขาว ปลาเรนโบว์ เทร้า เป็นต้น มักจะหลั่งออกมาจากตับอ่อน แผลงเดียวเท่านั้นจึงทำให้ปลากินเนื้อมีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่ดี เพราะหลังเอนไซม์ออกมาในปริมาณที่น้อยกว่า (วีรพงศ์, 2536) อะไมเลสทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะ α -D-1,4-glycosidic ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง (starch) ซึ่งประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกติน (amylopectin) อะไมเลสสามารถย่อยสลาย อะไมโลสได้เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ และส่วนใหญ่ได้เป็นไดแซ็กคาไรด์ คือ มอลโทส อะไมเลสมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 ดาลตัน ถูกกระตุ้นด้วยคลอไรด์ โบรไมด์ และฟลูออไรด์ไอออน และถูกยับยั้งปฏิกิริยาโดยโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท มี pH ที่เหมาะสมในช่วง 6.5-8.0 เอนไซม์อะไมเลสแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามตำแหน่งของการย่อยแป้ง คือ

3.1.1 เอนโดอะไมเลส (endoamylase) เป็นอะไมเลสที่สามารถย่อยสลายพันธะ α -D-1,4-glycosidic แบบสุ่มบริเวณกลางๆ หรือส่วนในของโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์ ถ้าการย่อยไม่สมบูรณ์จะมีการปลดปล่อยน้ำตาลออกมาหลายชนิด เช่น น้ำตาลกลูโคส มอลโทส และเด็ทซ์ทริน แต่ถ้าการย่อยสมบูรณ์จะได้น้ำตาลมอลโทสและกลูโคสเท่านั้น เอนโดอะไมเลสมีอยู่ประเภทเดียวคือ α -amylase (EC 3.2.1.1) หรือ α -D-1,4-glucan glucanohydrolase พบได้ในพืช สัตว์ จุลินทรีย์ เช่น อะไมเลสในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อนซึ่งย่อยสลายแป้งเป็นมอลโทส

3.1.2 เอกโซอะไมเลส (exoamylase) เป็นอะไมเลสที่ย่อยสลายพันธะ α -D-1,4-glycosidic เริ่มจากปลายด้านนอกสุด (non-reducing end) ของโมเลกุลพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น แป้ง เอกโซอะไมเลสแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

ก. β -amylase หรือ α -D-1,4-glucan maltohydrolase (EC 3.2.1.2) พบในพืชชั้นสูง เช่น พืชตระกูลเบอร์รี่ มันฝรั่งหวาน และมอลต์ แต่ไม่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อะไมเลสชนิดนี้สามารถย่อยสลายพันธะ α -D-1,4-glycosidic เข้าไปที่ละสองหน่วยของกลูโคสจากปลายด้าน non-reducing แต่ไม่สามารถย่อยพันธะที่ต่อแบบ α -D-1,6-glycosidic ผลที่ได้จากการย่อย คือน้ำตาลมอลโทส และเด็กซทรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

ข. Glucoamylase หรือ α -D-1,4-glucan glucohydrolase (EC 3.2.1.3) พบในจุลินทรีย์ประเภท รา ยีสต์ และแบคทีเรีย อะไมเลสชนิดนี้สามารถย่อยสลายแป้งได้อย่างสมบูรณ์จากปลายด้าน non-reducing ที่ตำแหน่ง α -D-1,4- และ α -D-1,6-glycosidic เข้าไปที่ละหนึ่งหน่วยกลูโคส ดังนั้นการย่อยที่สมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว

3.2 โปรตีนเอส (proteinase)

โปรตีนเอสเป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ใน class EC 3.4.- หรือที่รู้จักกันในชื่อของ peptidyl-peptide hydrolase มีคุณสมบัติเร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเพปไทด์ของสายพอลิเพปไทด์ในอาหารประเภทโปรตีน มีชื่อสามัญหลายชื่อ คือ เอนไซม์เพปติเดส โปรติเอส เพปไทด์ไฮโดรเลส และโปรติโอไลติก เอนไซม์ โปรตีนเอสนอกจากจะย่อยสลายสารอาหารโปรตีน ยังสามารถย่อยทำลายเซลล์ที่ตายเพื่อนำกรดอะมิโนมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โปรตีนเอสผลิตจากหลายแหล่ง เช่น ภาวะอาหาร ได้แก่ เปปซิน แกสตริกซิน และไลโมซิน ถูกกระตุ้นโดยไซโตคัลลอมไนด์ โปรตีนเอสในลำไส้สร้างจากตับ เช่น ทริปซิน ไคโมทริปซิน คอลลาจีเนส อิลาสเตส และคาร์บอกซีเพปติเดส เฮฟาโตแพนแครีเอสซึ่งเป็นต่อมสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น กุ้ง ปู และหอยซึ่งจะเกิดการย่อยตัวเองหลังถูกนำขึ้นจากทะเล โดยโปรตีนเอสแต่ละชนิดมีความจำเพาะในการตัดสายพอลิเพปไทด์ที่ตำแหน่งแตกต่างกัน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามตำแหน่งที่ตัดสายพอลิเพปไทด์ คือ

3.2.1 เอกโซเพปติเดส (exopeptidase) ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากด้านปลายของสายพอลิเปปไทด์ เช่น คาร์บอกซีเพปติเดส (EC 3.4.2.X) อะมิโนเพปติเดส (EC 3.4.1.X) ไดเพปติเดส (EC 3.4.3.X) และไตรเพปติเดส

3.2.2 เอนโดเพปติเดส (endopeptidase) ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ภายในสายพอลิเปปไทด์ แบ่งได้หลายกลุ่มตามชนิดของกรดอะมิโนสำคัญในบริเวณเร่งโดยแบ่งเป็น

ก. ซีรีน โปรติเนส (EC 3.4.21.-) แสดงกิจกรรมในสภาพแวดล้อมที่เป็นเบสเล็กน้อย (alkaline proteinase) มีหมู่ imidazole ที่บริเวณเร่ง pH ที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมอยู่ในช่วง 7-10 สารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ คือ diisopropyl-phospho-fluoridate (DPF) และ phenylmethylsulphonylfluoride (PMSF) เอนไซม์ในกลุ่มซีรีน โปรติเนส ได้แก่

1) ทริปซิน (EC 3.4.21.4) ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อกรดอะมิโน อาร์จินีนและไลซีน สารยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ คือ tosyl-lysine chlormethyl ketone (TLCK), leupeptin และสารยับยั้งตามธรรมชาติ เช่น soybean trypsin inhibitor (SBTI) มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วง 7-9 ถูกหลั่งออกมาจากตับไปยังลำไส้เล็กในรูปที่ยังไม่สามารถทำงานได้ เรียกว่า ทริปซิโนเจน ถูกเปลี่ยนเป็นทริปซิน โดยเอนไซม์เอนเทอโรโคเนสและเอนไซม์ทริปซินเอง การกระตุ้นโดยเอนเทอโรโคเนสเกิดขึ้นที่ pH ประมาณ 6-9 และทริปซินที่เกิดขึ้นนี้สามารถกระตุ้นทริปซิโนเจนที่เหลือไปเป็นทริปซินได้ที่ pH ประมาณ 7-8

2) ไคโมทริปซิน (EC 3.4.21.1) ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนไทโรซีน ทริปโตเฟน และเฟนิลอะลานีน สารยับยั้งการทำงาน คือ tosyl-phenylalanine chlormethyl ketone (TPCK) และ chymostatin ถูกหลั่งออกมาจากตับไปยังลำไส้เล็กในรูปที่ยังไม่สามารถทำงานได้ เรียกว่า ไคโมทริปซิโนเจน ถูกเปลี่ยนเป็นไคโมทริปซิน โดยเอนไซม์ทริปซิน

3) อีลาสเตส (EC 3.4.21.37) ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนอะลานีน ลิวซีน ไกลซีนและไอโซลิวซีน

ข. ซัลโฟไดรติโปรตีนเอส (EC 3.4.22.-) แสดงกิจกรรมในสภาพแวดล้อมที่เป็นกลาง (neutral proteinase) pH ที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมอยู่ในช่วง pH 6.0-7.5 บริเวณเร่งปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนซิสเทอีน และฮิสทีดีน ถูกยับยั้งโดย sulfhydryl reagents ส่วนมากสกัดได้จากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ เช่น ปาเปน (EC 3.4.22.2) จากมะละกอ โบรมิเลน (EC 3.4.22.4) จากสับปะรด และไฟซิน (EC 3.4.22.3) จากมะเดื่อ

ค. เอสติโปรตีนเอส (EC 3.4.23.-) ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยาจำเพาะต่อกรดอะมิโนไทโรซีน ฟีนิลอะลานีน และลิวซีน ทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรด (pH 2-4) เช่น เปปซิน (EC 3.4.23.1) ซึ่งพบได้ทั่วไปในน้ำย่อยของสัตว์มีกระดูกสันหลังและกระเพาะอาหารของปลา แต่ไม่สามารถตัดพันธะเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโนวาเลอีน อะลานีนและไกลซีน เปปซินถูกสร้างขึ้นในรูปที่ยังไม่สามารถทำงานได้ เรียกว่า เปปซิโนเจน กระเพาะอาหารจะหลั่งกรดเกลือออกมาทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรด pH ประมาณ 1-3 เพื่อเปลี่ยนเปปซิโนเจนเป็นเอนไซม์เปปซิน ซึ่งมีประสิทธิภาพการทำงานมากกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมประมาณ 150 เท่า (Ananichev, 1959) และเมื่อเสร็จสิ้นการย่อยอาหารกระเพาะอาหารก็จะมีสภาพเป็นกลางดั้งเดิม นอกจากนี้ยังมีเรนิน (EC 3.4.23.4) สารยับยั้งการทำงาน คือ pepstatin

ง. เมทัลโลโปรตีนเอส (EC 3.4.24.-) ทำงานได้ดีในสภาพเป็นกลาง (pH 6.5-7.5) เนื่องจากมีไอออนของโลหะหนักเป็นส่วนประกอบในบริเวณเร่งของเอนไซม์ เอนไซม์ในกลุ่มนี้คือ คาร์บอกซีเพปทีเดส เอและบี (Wong, 1995; Reed, 1966; Sterchi and Stocker, 1999)

3.3 ไลเปส (lipase)

ไลเปส หรือ กลีเซอรอล เอสเทอร์ ไฮโดรเลส (EC 3.1.1.3) (Seitz, 1974) ส่วนใหญ่ได้มาจากการหลั่งของผนังลำไส้และตับอ่อน (Hepher, 1988) จัดเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มไฮโดรเลส (hydrolases) มี pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานประมาณ 7-8.8 ซึ่ง pH จะเพิ่มขึ้นตามความยาวของกรดไขมันในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ นั่นคือ เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ระหว่างกรดไขมันโมเลกุลยาวกับกลีเซอรอลในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นไดกลีเซอไรด์ ไตรกลีเซอไรด์บางส่วนที่ไม่ถูกย่อย โมโนกลีเซอไรด์ กรดไขมัน และกลีเซอรอล ไลเปสของปลามีประสิทธิภาพการทำงานดีกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น ไลเปสของปลาเทอร์โบท์ (turbot) ปลาไพค์เพิช (pike-perch) และปลาบรีม (bream) มีมากกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมประมาณ 40 เท่า (Ananichev,

1959) ไลเปสจะทำงานร่วมกับน้ำดีซึ่งมีกรดโคลิค และกรดทอโรเซน โนเดสออกซีโคลิค เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ โดยจะทำหน้าที่ร่วมกันย่อยไขมันอย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากกรดเหล่านี้รวมทั้งน้ำดีจะช่วยทำให้ไขมันมีพื้นที่ผิวมากขึ้น ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจึงสามารถย่อยได้ง่ายขึ้น ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ย่อยไขมันในกระเพาะอาหารต่ำกว่าลำไส้ เนื่องจากกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดต่ำมากจึงมีหน้าที่เพียงบดผสมไขมันเพื่อส่งเข้าลำไส้ จากนั้นเอนไซม์จากตับอ่อน คือ แพนครีเอติกไลเปส (pancreatic lipase) และเอนไซม์จากผนังลำไส้ คือ อินเทสทินัลไลเปส (intestinal lipase) จะเข้าทำการย่อยต่อทำให้โมเลกุลของไขมันในรูปของไตรกลีเซอไรด์แตกตัวเป็นไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ กลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ ทั้งกลีเซอรอลและกรดไขมันมีขนาดของโมเลกุลเล็กพอที่ร่างกายดูดซึมไปใช้ได้

3.4 เซลลูเลส (cellulase)

เซลลูเลสเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ประกอบด้วยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต อัตราส่วน 1:1 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000-60,000 ดาลตัน มีสมบัติละลายน้ำได้ดีและไม่จำเป็นต้องมีโคแฟกเตอร์ในการทำปฏิกิริยา สับสเตรทสังเคราะห์ที่นิยมใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ (*in vitro* assay) คือ carboxymethyl cellulose (CMC) สามารถพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ในสัตว์ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก น้ำย่อยของแมลง หอยทาก และหอยสองฝา โดยทั่วไปแล้วปลาส่วนมาก เช่น ปลาฉา ปลานิล ปลาหมอเทศ ปลาไน ปลานวลจันทร์ เป็นต้น ไม่สามารถหลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยเซลลูโลสได้ด้วยตนเอง แต่ปลาเหล่านี้ซึ่งกินพืชที่มีส่วนประกอบของเซลลูโลสสามารถย่อยเซลลูโลสได้เนื่องจากจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลาจะหลั่งเซลลูเลสออกมาทำหน้าที่ย่อยแทน อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียส และ 5.5-6 ตามลำดับ มีความคงทนต่อ pH ได้กว้าง (ประมาณ pH 4-8) และคงทนต่อสารเคมีได้ดี จากการศึกษาโดยการแยกและทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ พบว่า เซลลูเลสเป็น multicomponent enzyme มีระบบเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด มาร่วมกันทำงาน (Fan and Lee, 1983) คือ

1. Endocellulase หรือ endo- β -1,4-glucan glucanohydrolase หรือ endoglucanase (EC 3.2.1.4) ทำหน้าที่ตัดพันธะ β -1,4-glycosidic ภายในสายเซลลูโลสแบบสุ่มบริเวณที่เป็น amorphous หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น carboxymethyl cellulose และ cello-oligomers ได้

ผลิตภัณฑ์ คือ กลูโคส ที่มีการจัดเรียงตัวในรูป β -configuration และเซลโลไบโอส (cellobiose) เป็นผลิตภัณฑ์หลัก

2. Exocellulase หรือ $\text{exo-}\beta\text{-1,4-glycan cellobiohydrolase}$ หรือ exoglucanase (EC 3.2.1.19) ทำหน้าที่ตัดพันธะ $\beta\text{-1,4-glycosidic}$ จากปลายด้าน non-reducing end ได้กลูโคสและเซลโลไบโอส น้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายมีการจัดเรียงตัวในรูป α -configuration

3. $\beta\text{-glucosidase}$ หรือ cellobiase (EC 3.2.1.21) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอส และเซลโลเด็คซตรินให้เป็นกลูโคส สามารถย่อยสลาย cellobionic acid ให้เป็น gluconolactone และกลูโคส (Wong, 1995; Reed, 1966)

4. ความสามารถในการย่อยอาหารของเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของสัตว์น้ำ

ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของเอนไซม์ในปลาชนิดต่าง ๆ ไม่ว่าจะปลากินพืช ปลากินเนื้อ และปลากินเนื้อและพืช ได้มีการศึกษาอย่างแพร่หลายทั่วไป ปลากินพืชมักจะมีสัมประสิทธิ์การย่อยต่ำกว่าปลากินเนื้อ เนื่องจากอาหารที่กินส่วนใหญ่เป็นพืชจะย่อยได้ยากกว่าเนื้อสัตว์ ถึงแม้ว่าปลากินพืชจะมีการพัฒนาของท่อทางเดินอาหารช่วยในการย่อยอาหารและยังมีจุลินทรีย์ในลำไส้ที่ติดเข้ามาพร้อมกับพืชขณะที่กินช่วยทำหน้าที่ย่อยและดูดซึมก็ตาม

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (protein digestibility)

โดยทั่วไปเอนไซม์ย่อยอาหารในปลามีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้ดี โดยปลากินเนื้อมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนดีที่สุด เพราะมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนในปริมาณมากที่สุด ยกเว้นปลากินพืชบางชนิดที่มีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้ดีเช่นกัน ตัวอย่างที่มีการทดลองในปลาหมอเทศ ซึ่งจัดเป็นปลากินพืช เมื่อได้รับอาหารเป็นตับแกะ สหรัยและอินทรียวัตถุ พบว่าสัมประสิทธิ์การย่อยอาหารมีค่าเป็น 95 79 และ 42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาส่วนใหญ่สามารถใช้แหล่งโปรตีนจากสัตว์ได้ดีกว่าแหล่งโปรตีนจากพืชเนื่องจากย่อยได้ง่ายกว่า (วีรพงษ์, 2536)

ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate digestibility)

ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของปลาขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ชนิดของแป้ง ปริมาณแป้ง และความสุกของแป้ง ปลากินพืชมีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตดีกว่าปลากินเนื้อ และปลากินพืชและเนื้อ เนื่องจากปลากินพืชมีเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่มากกว่าคาร์โบไฮเดรตที่ปลากินเป็นอาหาร ได้แก่ แป้ง น้ำตาลและกลูโคส โดยพบว่าปลาสามารถใช้ประโยชน์จากแป้งได้มากที่สุด สาเหตุดังกล่าวเกิดจากเมื่อแป้งถูกย่อยเป็นน้ำตาลจะถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์อย่างช้า ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลซึ่งจะถูกดูดซึมเร็วกว่า ทำให้น้ำตาลในเลือดสูงอย่างรวดเร็วจนทำให้น้ำตาลบางส่วนถูกขับออกนอกร่างกายทางปัสสาวะโดยยังไม่ได้ใช้ประโยชน์ (กลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ, 2534) ปริมาณแป้งที่เหมาะสมในอาหารปลาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เนื่องจากปลากินพืชย่อยแป้งได้ดีกว่าปลากินเนื้อทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งได้ดีกว่า ปริมาณแป้งที่เหมาะสมในอาหารปลากินพืช ปลากินพืชและเนื้อ และปลากินเนื้อ ควรอยู่ระหว่าง 40-50 เปอร์เซ็นต์ , 30-40 เปอร์เซ็นต์ และ 10-20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทำให้แป้งสุกจะช่วยให้ปลาย่อยแป้งได้ดีขึ้นและทำให้ประสิทธิภาพการย่อยสูงขึ้นประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ (กลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ, 2534)

ประสิทธิภาพการย่อยไขมัน (lipid digestibility)

โดยทั่วไปปลามีประสิทธิภาพการย่อยไขมันได้ดีเพราะปลาส่วนมากมีความต้องการไขมันในปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับโปรตีนและอีกทั้งปริมาณไขมันที่มีในอาหารธรรมชาติหรืออาหารสำเร็จรูปที่อยู่ในเกณฑ์ต่ำจึงทำให้เอนไซม์ย่อยไขมันสามารถย่อยได้ดี ประสิทธิภาพการย่อยไขมันของปลาขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหรือชนิดของกรดไขมัน โดยพบว่าประสิทธิภาพการย่อยไขมันมีค่าลดลงเมื่อความยาวของไฮโดรคาร์บอนเพิ่มขึ้น และมีค่าเพิ่มขึ้นถ้าจำนวนพันธะคู่เพิ่มขึ้น ดังนั้นปลาจึงมีแนวโน้มที่จะย่อยกรดไขมันไม่อิ่มตัว เช่น กรดไขมันจากพืชได้ดีกว่ากรดไขมันจากสัตว์ซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (วีรพงษ์, 2536)

สัตว์น้ำส่วนใหญ่มีเอนไซม์ย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันเหมือนกันแต่ปริมาณของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกันไปตามนิสัยการกินอาหารของสัตว์น้ำ ซึ่งได้มีผู้ศึกษาเอนไซม์ในสัตว์น้ำต่าง ๆ ไว้ดังนี้

Singh and Nose (1967) รายงานว่าปลาเรนโบว์ เทร้า สามารถย่อยแป้งในอาหารที่มีแป้งอยู่ 20 % ได้ถึง 69 % แต่ถ้าปริมาณแป้งในอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 60 % กลับพบว่าจะย่อยแป้งได้เพียง 26 % หรือเมื่อให้เด็กชตรินซึ่งย่อยได้ง่ายกว่าเป็นอาหาร พบว่าสามารถย่อยอาหารที่มีเด็กชตริน 20 % ได้ถึง 77 % แต่ถ้าปริมาณเด็กชตรินเพิ่มขึ้นเป็น 60 % จะย่อยเด็กชตรินได้เพียง 45 % เนื่องจากปลากินเนื้อส่วนใหญ่มักจะหลงเอนไซม์ย่อยแป้งออกมาจากตับอ่อนแหล่งเดียวเท่านั้น ทำให้มีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่ดีเพราะหลงเอนไซม์ออกมาน้อยกว่าปลากินพืช และปลา กินพืชและเนื้อ ทำให้การย่อยแป้งหรือคาร์โบไฮเดรตของปลากินเนื้อมีข้อจำกัดมากกว่า ปลา กินเนื้อจึงกินอาหารคาร์โบไฮเดรตได้ระดับหนึ่งเท่านั้น ถ้ากินมากเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตลดลง

Pantankar (1973) ศึกษาการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เอสเทอร์สในกระเพาะอาหารของปลาที่มีพฤติกรรมการกินอาหารต่างกัน พบว่า ปลากินเนื้อแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เอสเทอร์ส มากกว่าปลากินแพลงก์ตอน ปลากินพืชและปลากินพืชและเนื้อ

Kapoor *et al.* (1975) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในกลุ่มปลาไนซึ่งเป็นปลา กินพืช พบว่าเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตแสดงกิจกรรมได้สูงกว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนประมาณ 2.5 เท่า ขณะที่ปลากินพืชและเนื้อแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนเล็กน้อย ส่วนปลากินเนื้อแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้ประมาณ 8 เท่าของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต

Hsu and Wu (1979) เปรียบเทียบปลาหมอเทศ ซึ่งกินแพลงก์ตอนกับปลากินเนื้อ 3 ชนิด พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเปปซินในปลาหมอเทศ : ปลาช่อนฟอร์โมซาน : ปลาไหลญี่ปุ่น : ปลาคุงฟอร์โมซาน มีค่าเป็น 1.0 : 27.1 : 10.5 : 8.5 ตามลำดับ

Smith (1980) รายงานว่าปลาที่กินปลาอื่นเป็นอาหาร เช่น ปลา Trachurus และ Scomber แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนและไขมันมากกว่าเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต ปลา นวลจันทร์ทะเลที่กินแพลงก์ตอนเป็นอาหารแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดและเอนไซม์ย่อยโปรตีนน้อยที่สุด จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารตามพฤติกรรมการกินอาหาร พบว่าปริมาณของเอนไซม์ที่หลั่งออกมามีผลทำให้ความสามารถในการย่อยอาหารของสัตว์น้ำแตกต่างกันไปด้วย กล่าว คือ ปลากินพืชย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่าโปรตีน

ในทางตรงกันข้ามปลากินเนื้อย่อยโปรตีนได้ดีกว่าคาร์โบไฮเดรต และทั้งปลากินเนื้อ ปลากินเนื้อ และพืช และปลากินพืชสามารถย่อยไขมันจากสัตว์และพืชได้ดี

Rungruangsak-Torrissen *et al.* (1998, 2000); Sunde *et al.* (2001) พบว่าความสามารถในการย่อยอาหารของเอนไซม์โปรติเนสที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L. สามารถใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพอาหาร และการเจริญเติบโตของปลาได้ โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินต่อโคโมทริปซิน พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของปลา และเมื่อตรวจสอบเอนไซม์ทริปซินพบว่ามี 3 phenotypes (1, 2 และ 2') โดยทริปซิน phenotype 2 มีบทบาทในการย่อยอาหารสูงที่สุด (Bassompierre *et al.*, 1998)

Hidalgo *et al.* (1999) เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสและอะไมเลสจากปลา 6 ชนิด ซึ่งมีนิสัยการกินอาหารที่แตกต่างกัน พบว่าปลาเรนโบว์ เทร้าและปลาคาร์พ แสดงกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสสูงสุดและปลาทุกชนิดจะมีกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเนสสูงกว่าเอสิคโปรติเนส ยกเว้นปลาไหลยุโรป พบเฉพาะเอนไซม์เอสิคโปรติเนสเพียงอย่างเดียวและมีกิจกรรมต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและอัตราส่วนของเอนไซม์อะไมเลส:โปรติเนส พบว่าปลากินพืชและเนื้อจะมีค่าสูงกว่าปลากินเนื้อ และจากการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลงเมื่อทดลองที่อุณหภูมิต่ำลง แต่ไม่ได้เป็นเช่นนี้เสมอไปขึ้นอยู่กับชนิดของปลาและเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษา กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสขึ้นอยู่กับอาหาร ซึ่งปลากินพืช และปลากินพืชและเนื้อจะมีค่าสูงกว่าปลากินเนื้อ โดยเฉพาะปลากินเนื้อที่มีกระเพาะแท้จริงจะมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสต่ำมาก แต่จะมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสในกระเพาะสูง

Castillo-Yanez *et al.* (2004) รายงานผลการศึกษากิจกรรมจำเพาะและคุณลักษณะบางประการของเอนไซม์เอสิคโปรติเนสที่สกัดจากลำไส้ของปลาซาร์ดีน *Sardinops sagax caerulea* ซึ่งเป็นปลาเศรษฐกิจของแถบตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศเม็กซิโก พบว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนแสดงกิจกรรมได้ดีในสภาวะเป็นเบส (pH 10) และแสดงกิจกรรมได้น้อยในสภาวะกรด (pH 3) จากการทำบริสุทธิ์เอนไซม์โปรติเนสโดยวิธี cation exchange chromatography และนำไปหาค่า pI ได้ 4 ซึ่งใกล้เคียงกับ pepsin II ในปลา Atlantic cod (*Gadus morhua*) และปลา capelin (*Mallotus villosus*) (Gildberg *et al.*, 1990; Gildberg and Raa, 1983) pH ที่เหมาะสมในการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เอสิคโปรติเนสประมาณ 2.5 และมีความคงตัวช่วงสภาวะเป็นกรดและกิจกรรมลดลงเมื่อสภาวะเป็นกลางและเบส ตามลำดับ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมประมาณ 45 องศาเซลเซียส

และมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 10 องศาเซลเซียสไปจนถึง 55 องศาเซลเซียส เอนไซม์จะเริ่มเสียสภาพ ถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วย Pepstatin A จากผลการทดลองพบว่า มีคุณลักษณะคล้ายกับเอนไซม์โปรตีนเอสที่พบในปลาชนิดอื่น จึงมีแนวความคิดที่จะใช้เอนไซม์จากปลาโดยเฉพาะเอนไซม์เอสดีโปรตีนเอสซึ่งสามารถทำงานที่ pH และอุณหภูมิต่ำในกระบวนการอุตสาหกรรม เช่น milk clotting

Bezerra *et al.* (2005) รายงานการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีนเอสที่สกัดจากลำไส้เล็กของปลานิล *Oreochromis niloticus* ซึ่งเป็นปลากินพืชที่เป็นแหล่งโปรตีนสูงสำหรับมนุษย์ เอนไซม์ชนิดนี้มักจะถูกทิ้งออกมาจากกระบวนการผลิต จากการทำบริสุทธิ์เอนไซม์ 3 ขั้นตอน คือ ให้ความร้อน ทำให้โปรตีนที่ไม่คงตัวต่อความร้อนเสียสภาพจากนั้นจึงตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต และ Sephadex G-75 gel filtration ได้ผลผลิตและความบริสุทธิ์ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 22 เท่า ตามลำดับ น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 23.5 กิโลดาลตัน อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียสและ 8 ตามลำดับ ไอออนโลหะที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อย่างมาก คือ Al^{3+} และ Ca^{2+} โดยจะเข้าไปจับที่หมู่ซัลไฟดริล เมื่อทดลองยับยั้งด้วย PMSF และตัวยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจำเพาะพบว่าตัวยับยั้งเหล่านี้สามารถทำงานได้ดี โดยเฉพาะ TLCK และ benzamidine มีผลยับยั้งถึง 100 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวจึงคาดว่าเอนไซม์นี้ คือ trypsin-like enzyme

Furne *et al.* (2005) ศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาเตอร์เจียน *Acipenser naccarii* และปลาเรนโบว์เทรา *Onchorhynchus mykiss* ซึ่งเป็นปลากินเนื้อทั้งสองชนิดพบว่าโดยรวมแล้วกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลาเตอร์เจียนต่ำกว่าปลาเรนโบว์เทรา ยกเว้นเอนไซม์อะไมเลสจะมีค่าสูงกว่าเล็กน้อยเนื่องจากปลาเตอร์เจียนสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่า โดยเฉพาะเด็กซ์ทริน พบว่ามีประสิทธิภาพการย่อยได้มากกว่า 68 เปอร์เซ็นต์ (Sanz *et al.*, 1997) ซึ่งในธรรมชาติปลานี้กินบางส่วนของพืช เช่น เมล็ด เป็นอาหารด้วยเช่นกัน จากความสามารถนี้เป็นประโยชน์มากในการสร้างสูตรอาหาร โดยใช้คาร์โบไฮเดรตในสัดส่วนที่เหมาะสมทดแทนแหล่งโปรตีนที่มีราคาแพง

Rathore *et al.* (2005) รายงานผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลาการ์ป *Catla catla* ระหว่างการเจริญเติบโต สามารถตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โปรตีนเอส ทริปซิน ไคโมทริปซิน และไลเปส ได้ตั้งแต่วันที่ 4 หลังจากฟักออกจากไข่และมีค่าค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 22 จากนั้นมีกิจกรรมเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงวันที่ 32 จึงมีกิจกรรมลดลงซึ่งอาจสัมพันธ์กับ

การเปลี่ยนแปลงทางด้านกายวิภาคและสรีรวิทยาก่อนที่จะเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ยกเว้นเอนไซม์ไคโมทริปซินมีค่าคงที่ การเปลี่ยนแปลงของระบบย่อยอาหารระหว่างการเจริญเติบโตในช่วงแรก เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงความต้องการสารอาหารและเริ่มกินอาหารจากภายนอก ซึ่งมีความสำคัญมากต่อการเพาะเลี้ยง การให้อาหารและการสร้างสูตรอาหาร (Verreth and Segner, 1995)

Vega-Villasante *et al.* (1995) รายงานผลการศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลู *Callinectes arcuatus* ระยะต่าง ๆ ของการลอกคราบโดยตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนส อะไมเลส ไลเปส และไคตินเนส ผลการทดลองทำให้เชื่อมั่นว่าการลอกคราบมีผลกระทบต่อกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์โปรติเนสมีกิจกรรมค่อนข้างคงที่ในระยะที่กำลังลอกคราบ ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และไลเปสเพิ่มขึ้นในขณะที่ลอกคราบ

Ezquerro *et al.* (1997) รายงานผลการศึกษาระดับการย่อยสลายโปรตีนของทริปซิน และไคโมทริปซิน โดยใช้วิธี pH stat เพื่อประเมินคุณภาพโปรตีนในสูตรอาหารเลี้ยงกุ้งขาว *Penaeus vannamei* หลายแบบ พบว่าแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพต่ำจะกระตุ้นให้กุ้งมีการหลั่งทริปซินและไคโมทริปซินเพิ่มขึ้นมากกว่าแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง

Jens *et al.* (1996) ศึกษาการเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในหอยเป้าชื่อ *Haliotis midae* ระยะจูวีไนล์ที่เลี้ยงด้วยไดอะตอมเปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์ พบว่าเอนไซม์โปรติเนสของหอยที่เลี้ยงด้วยอาหารสังเคราะห์แสดงกิจกรรมได้สูงกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยไดอะตอมถึง 4 เท่า โดยอาหารสังเคราะห์มีโปรตีน 35.5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ไดอะตอมมีโปรตีนเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของหอยที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 2 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน เปอร์เซ็นต์ไขมันในอาหารสังเคราะห์และไดอะตอมใกล้เคียงกัน แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารสอดคล้องกับคุณภาพของอาหาร

Serviere-Zargoza *et al.* (1997) รายงานผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสที่สกัดจากอวัยวะต่าง ๆ ในระบบย่อยอาหารของหอยเป้าชื่อ *Haliotis fulgens* ระยะตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารตามธรรมชาติ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเนสสูงสุดในลำไส้เล็กรองลงมา คือ rectal fluid เฮพาโตแพนกรีซและกระเพาะอาหาร ตามลำดับ และพบกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินในลำไส้เล็กและ rectal fluid เท่านั้น โดยกิจกรรมของไคโมทริปซินสูงกว่าทริปซินถึง 10 เท่า แสดงว่าเอนไซม์ย่อยอาหารในแต่ละอวัยวะมีชนิดและบทบาทที่แตกต่างกัน

Du and Mai (2000) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารบางกลุ่ม คือ ไลเปส โปรติเอส คาราจินเนส ของหอยเป่าฮือ *Haliotis discus hannii* Ino เพิ่มขึ้นหลังจากปฏิสนธิจนถึง 10 วันหลังหลุดออกจากไข่แล้วค่อยๆ ลดลง ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส ลามินารินเนส และอัลจินเนส เพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาระบบย่อยอาหาร และการเปลี่ยนแปลงอาหารตามธรรมชาติของหอยเป่าฮือ

5. ความต้องการสารอาหารของสัตว์น้ำ

อาหารที่สัตว์น้ำกิน หลังจากถูกย่อยเป็นสารอาหารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลงจะถูกดูดซึมขนส่งไปยังเซลล์ต่าง ๆ เพื่อให้สัตว์น้ำได้ใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิตประจำวัน การเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ โดยที่สารอาหารแต่ละประเภทจะมีบทบาทที่แตกต่างกันไป (วีรพงษ์, 2536)

5.1 ความต้องการโปรตีน

รายงานทางด้านอาหารสัตว์น้ำมักระบุถึงความต้องการโปรตีนของสัตว์น้ำ เช่นปลาต้องการโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระดับโปรตีนที่ทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตดีมักมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่สมดุลด้วย ดังนั้นเพื่อความสะดวกจึงมีการอนุโลมให้รายงานเป็นความต้องการโปรตีนที่มีเพียงค่าเดียว แทนความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นซึ่งมีหลายค่า กรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ อาร์จินีน ฮิสติดีน ไอโซลิวซีน ไลซีน เมทไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาเลีน หากขาดกรดอะมิโนชนิดใดชนิดหนึ่งจะมีผลทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตช้า กินอาหารลดลง และรูปร่างลักษณะเปลี่ยนแปลงไป ปลาที่ได้รับอาหารที่ขาดกรดอะมิโนจำเป็นชั่วคราวจะมีการเจริญเติบโตช้า แต่เมื่อได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนจำเป็นการเจริญเติบโตก็จะเข้าสู่สภาวะปกติ (ประเสริฐ และคณะ, 2525)

ร่างกายของสัตว์ในวัยและภาวะแตกต่างกันมีความต้องการโปรตีนในแต่ละวันในปริมาณที่แตกต่างกัน ความต้องการนี้จะเป็นเท่าใดขึ้นกับหลักการที่ว่าโปรตีนที่สัตว์กินเมื่อผ่านกระบวนการย่อยและกระบวนการดูดซึมแล้ว ก่อนอื่นจะถูกนำไปใช้บำรุงซ่อมแซมหรือแทนที่โปรตีนที่เสื่อมแล้วสลายตัวถูกขับออกจากร่างกาย สำหรับสัตว์โตเต็มวัยปกติถ้ากินโปรตีนมากเกินไปพอ ปริมาณโปรตีนที่ขับถ่ายออกจะเท่ากับปริมาณโปรตีนที่กินและนิยมเรียกว่าโปรตีนอยู่ในภาวะสมดุล ที่ภาวะนี้ปริมาณโปรตีนจะไม่เหลือเพื่อการเจริญเติบโต หากจะให้มีการเจริญเติบโต

ร่างกายจะต้องได้รับโปรตีนมากขึ้น สัตว์น้ำวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนสูงและความต้องการโปรตีนจะลดลงเมื่อสัตว์น้ำโตขึ้น มีการศึกษาความต้องการโปรตีนในปลาหลายชนิดซึ่งพอกกล่าวได้ว่าความต้องการโปรตีนโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 24-57 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเท่ากับ 30-70 เปอร์เซ็นต์ ของพลังงานทั้งหมดในอาหารซึ่งสูงกว่าความต้องการโปรตีนในสัตว์บกมาก เหตุผลที่สัตว์น้ำต้องการโปรตีนในอาหารที่ค่อนข้างสูงเนื่องมาจากธรรมชาติสัตว์น้ำใช้พลังงานจากโปรตีนได้ดีกว่าคาร์โบไฮเดรต ปลาสดหลวงขนาด 3 กรัม มีความต้องการโปรตีนในอาหารสูงกว่าปลาขนาด 250 กรัมประมาณ 4 เท่า (Mangalik, 1986) คล้ายกับ Lovell (1975) พบว่าปลาสดหลวงขนาดเดียวกันคุณภาพโปรตีนในอาหารมีผลต่อระดับโปรตีนที่ปลาต้องการ กล่าวคือ อาหารที่ประกอบด้วยโปรตีนจากปลาป่นซึ่งเป็นโปรตีนคุณภาพสูงหรือมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบถ้วน แม้จะมีระดับโปรตีนต่ำก็สามารถทำให้ปลาเจริญเติบโตดีเท่ากับอาหารที่มีโปรตีนสูงจากพืชซึ่งเป็นโปรตีนคุณภาพต่ำ ความต้องการโปรตีนจากสัตว์น้ำชนิดเดียวจากหลายการทดลองอาจไม่เท่ากัน เนื่องจากวิธีการทดลอง ขนาดสัตว์ทดลอง ชนิดและปริมาณโปรตีน ระดับพลังงานในอาหาร วิธีการให้อาหาร อุณหภูมิและปริมาณอาหารธรรมชาติในการทดลองนั้นๆ ไม่เหมือนกัน ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการโปรตีนของปลา คือ ขนาด อุณหภูมิ คุณภาพโปรตีน ระดับพลังงานในอาหารและอัตราการให้อาหาร โดยทั่วไปความต้องการโปรตีนของปลามีค่าลดลงเมื่อปลามีขนาดหรืออายุมากขึ้น เพราะว่าเมื่อปลาขนาดใหญ่ขึ้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตช้าลง อันเนื่องมาจากอัตราการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายต่ำกว่าปลาขนาดเล็ก ปลาที่มีแนวโน้มต้องการโปรตีนมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เช่น ปลาซีกุนและปลาหมอที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 8 และ 15 องศาเซลเซียส มีความต้องการโปรตีนเป็น 40 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (DeLong *et al.*, 1958 อ้างโดย วีรพงศ์, 2536) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปลาบางชนิดเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นก็ยังมีความต้องการโปรตีนเท่าเดิม สาเหตุที่อุณหภูมิมีผลต่อความต้องการโปรตีน อาจเนื่องมาจากปลาได้รับอาหารอย่างจำกัดหรือน้อยเกินไปในขณะที่ปลาจะมีระดับเมแทบอลิซึมสูงขึ้น และระยะเวลาที่อาหารหมดจากกระเพาะอาหารเร็วขึ้น ดังนั้น อาหารที่มีระดับโปรตีนสูงกว่าจึงทำให้ปลาเจริญเติบโตดีกว่าอาหารที่มีระดับโปรตีนต่ำกว่า

5.2 ความต้องการไขมัน

ไขมันเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลากินเนื้อซึ่งได้รับการโบไฮเดรตจากธรรมชาติในปริมาณน้อย อาหารสัตว์น้ำโดยทั่วไปมีไขมัน 2.5-15 เปอร์เซ็นต์ (เวียง, 2542) อาหารปลาเซลมอนและปลาเทราต์ควรมีไขมัน 6-14 เปอร์เซ็นต์ (Hardy, 1989) ปลา

ไหลญี่ปุ่น 5-10 เปอร์เซ็นต์ (Arai, 1989) ปลาจดหลวง 8-12 เปอร์เซ็นต์ (Lovell, 1989) ปลาใน 10-15 เปอร์เซ็นต์ (Takeuchi *et al.*, 1979) และกุ้งทะเล 4-6 เปอร์เซ็นต์ (Lim and Persyn, 1989)

การศึกษาความต้องการกรดไขมันของปลาจะศึกษาทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ โดยการศึกษาทางด้านคุณภาพทำให้ทราบว่าปลาต้องการกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย 2 ชนิด ได้แก่ linoleic acid (18:2n6) และ linolenic acid (18:3n3) ซึ่งไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น การได้รับไขมันมากเกินไปทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วพร้อมกับมีไขมันสะสมในร่างกายมากเกินไป เป็นเหตุให้สัตว์น้ำเคลื่อนไหวช้าลง อัตราการทำงานในร่างกายต่ำลง ใช้พลังงานและกินอาหารน้อยลงจนในที่สุดทำให้น้ำหนักตัวลดลง ส่วนการที่สัตว์น้ำได้รับไขมันน้อยเกินไปทำให้อาหารที่ได้รับพลังงานและกรดไขมันชนิดจำเป็นน้อยตามไปด้วย ร่างกายจึงต้องหาพลังงานจากแหล่งอื่นมาทดแทนโดยการสลายโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจากอาหาร รวมทั้งการสลายไขมันที่สะสมในร่างกาย โปรตีนจึงถูกเผาผลาญเป็นพลังงานแทนที่จะถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ในที่สุดทำสัตว์น้ำฟอมและมีน้ำหนักลดลง (วีรพงศ์, 2536)

5.3 ความต้องการคาร์โบไฮเดรต

ปลาเหมือนกับสัตว์ทั่วไปที่ไม่สามารถสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตได้ดังเช่นพืชทำให้ปลาต้องได้รับคาร์โบไฮเดรตจากพืช ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสง ในปัจจุบันบทบาทและหน้าที่ของคาร์โบไฮเดรตต่อการผลิตอาหารปลานับว่ามีความสำคัญอย่างมาก ทั้งนี้เพราะคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานราคาถูกที่สุด ปลามีความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมากทำให้การศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นเกี่ยวกับระดับคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมในสูตรอาหารปลา อย่างไรก็ตาม คาร์โบไฮเดรตก็อาจจัดได้ว่าไม่ใช่ธาตุอาหารที่สำคัญของปลา มีงานทดลองจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีคาร์โบไฮเดรตก็สามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติและไม่มีการผิดปกติของอวัยวะใด ๆ เลยถ้าปลาได้รับอาหารที่มีสัดส่วนที่เหมาะสมของพลังงานและโปรตีน เนื่องจากปลาสามารถนำพลังงานจากไขมันมาใช้ประโยชน์ได้ แต่ถ้าปลาได้รับคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าความต้องการจะนำเอาโปรตีนหรือไขมันที่สะสมในร่างกายมาเผาผลาญให้เกิดพลังงานมีผลทำให้ปลาผอมลงหรืออาจนำเอาโปรตีนในอาหารมาเผาผลาญให้เกิดพลังงานแทนที่จะใช้เพื่อการเจริญเติบโตอย่างเดียวกันทำให้ปลามีการเจริญเติบโตช้าลง กรณีที่ได้รับคาร์โบไฮเดรตมากเกินไปความต้องการจะทำให้ปลาย่อยคาร์โบไฮเดรตได้น้อยลงและอาจนำคาร์โบไฮเดรตมาสะสมที่ตับในรูปของไกลโคเจน ซึ่งปลาอาจนำมาสลายพลังงานเมื่อขาดอาหาร

หรืออาจเปลี่ยนรูปเป็นไขมันสะสมในเนื้อเยื่อของร่างกายทำให้ปลามีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนั้น ความสามารถของปลาในการย่อยคาร์โบไฮเดรตยังขึ้นอยู่กับชนิดของคาร์โบไฮเดรต เช่น ปลาแคดอเมริกันสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ย่อยแป้งได้ 50-80 เปอร์เซ็นต์ และย่อยเซลลูโลสจากเยื่อใยได้น้อยหรือไม่ได้เลย แต่จากการทดลองพบว่าการใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานในอาหารจะทำให้ปลาเจริญเติบโตช้า เพราะว่าการกลูโคสถูกดูดซึมง่ายและเร็ว จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลในเลือดสูง แต่การสร้างฮอร์โมนอินซูลินของปลาไม่เพียงพอสำหรับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด น้ำตาลจึงถูกขับออกทางปัสสาวะ (วีรพงศ์, 2536)

5.4 ความต้องการวิตามิน

สัตว์น้ำต้องการวิตามินในปริมาณเล็กน้อยแต่ขาดไม่ได้ จากการศึกษาความต้องการวิตามิน โดยใช้อาหารที่ทำจากวัตถุดิบสังเคราะห์และวัตถุดิบธรรมชาติ พบว่ามีวิตามินอยู่ 15 ชนิดที่สัตว์น้ำต้องการในอาหาร คือ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี วิตามินเค ไธอะมีน ไรโบฟลาวิน ไพริดอกซีน กรดแพนโทเทนิค ไนอะซิน กรดโฟลิก โคลาเลามีน ไบโอติน โคลีน อินอซิทอล และกรดแอสคอร์บิก ความต้องการอาจแตกต่างกันไปตามชนิด วัยหรือขนาด สุขภาพของสัตว์น้ำ สารลดประสิทธิภาพของวิตามินและสัดส่วนของสารอาหารในอาหาร รวมทั้งระบบการเลี้ยงและสิ่งแวดล้อม อาหารธรรมชาติในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นแหล่งของวิตามินที่สำคัญหลายชนิด ปริมาณของวิตามินจากอาหารธรรมชาติมีเพียงพอสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบไม่หนาแน่น แต่จะไม่เพียงพอและจำเป็นต้องเติมในอาหารสำหรับเลี้ยงกรณีที่ปล่อยสัตว์น้ำหนาแน่นเกินไป เช่น การเลี้ยงปลากดหลวงจำเป็นต้องเติมวิตามินซีในอาหารเฉพาะกรณีที่ต้องการปล่อยปลาจำนวนมาก เพื่อให้ได้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่า 480 กิโลกรัมเท่านั้น (Parther and Lovell, 1972) แม้ว่าปลามีความต้องการวิตามินเพียงเล็กน้อยแต่ถ้าปลาไม่ได้รับวิตามินจากอาหารเลยก็จะแสดงอาการขาดวิตามินปรากฏออกมาแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดปลาและชนิดของวิตามิน อาการขาดวิตามินเบื้องต้นของปลาจะเหมือนกัน คือ เบื่ออาหาร อัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงขึ้น และลำตัวสีเข้มขึ้นแต่จะมีอาการเฉพาะแตกต่างกันไป (วีรพงศ์, 2536)

5.5 ความต้องการแร่ธาตุ

สัตว์น้ำได้รับเกลือแร่จากอาหารและน้ำ สัตว์น้ำเค็มได้รับเกลือแร่จากน้ำโดยการกินน้ำแล้วดูดซึมเกลือแร่จากทางเดินอาหาร ส่วนสัตว์น้ำจืดดูดซึมเกลือแร่จากน้ำโดยตรงทางเหงือก

และผิวหนัง ปริมาณของเกลือแร่ที่สัตว์น้ำได้รับจากน้ำจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของเกลือแร่ในน้ำและอาหาร แร่ธาตุหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของปลา มี 7 ชนิด ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ และกำมะถัน ต้องมีการใส่ลงไปในอาหารในปริมาณมาก เพื่อให้ร่างกายเจริญเติบโตได้ตามปกติ ส่วนแร่ธาตุรองมี 7 ชนิดเช่นกัน ได้แก่ เหล็ก ทองแดง แมงกานีส สังกะสี ซีลีเนียม ไอโอดีน และโคบอลต์ แม้ว่าปลามีความต้องการแร่ธาตุน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม การใส่แร่ธาตุสมทบในรูปพรีมิกซ์ในอาหารปลาก็มีความจำเป็นมาก เนื่องจากสาเหตุหลายประการด้วยกัน กล่าวคือ แร่ธาตุบางชนิดอาจทำงานเสริมฤทธิ์กัน เช่น เหล็กกับทองแดง หรืออาจทำงานยับยั้งกัน เช่น ซีลีเนียมช่วยลดความเป็นพิษของปรอทและเงิน นอกจากนี้ปริมาณแร่ธาตุที่มีในวัตถุดิบอาหารสัตว์ก็มีปริมาณไม่แน่นอนและอาจอยู่ในรูปที่รวมตัวกับสารอื่น ทำให้ปลาย่อยและดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้ต่ำจึงควรใส่แร่ธาตุให้ครบทั้งคุณภาพและปริมาณ เพื่อให้ปลาเจริญเติบโตได้ตามปกติ (วีรพงษ์, 2536)

6. วัตถุดิบอาหารสัตว์

วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำหรืออาหารปลาจะมีจำนวนน้อยกว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์บก สิ่งสำคัญประการแรกของการนำวัตถุดิบอาหารสัตว์มาผลิตเป็นอาหารเม็ด คือ ต้องทราบลักษณะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพ รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นิยมนำมาใช้ผลิตอาหารปลาอาจแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ (วีรพงษ์, 2536) ดังนี้

6.1 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนต่ำหรือประเภทแป้ง

วัตถุดิบอาหารสัตว์เหล่านี้มีราคาถูกที่สุด นิยมใช้ในการลดต้นทุนการผลิตอาหาร มีโปรตีนต่ำประมาณ 8-14 เปอร์เซ็นต์ และมีแป้งมากประมาณ 70-90 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

6.1.1 ปลายข้าว ประกอบด้วยเศษข้าวที่หักและส่วนของจมูกข้าว ปลายข้าวทั่วไปมีโปรตีนประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ไชมัน 0.9 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 1.0 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ใช้ได้นานโดยไม่หืน ปลายข้าวมี 3 ขนาด คือ ขนาดเล็ก กลางและใหญ่หรือที่เรียกกันว่าข้าวท่อน ปลายข้าวขนาดเล็กมักมีส่วนของจมูกข้าวซึ่งเป็นคั้นอ่อนที่มีโปรตีน ไชมัน วิตามิน และแร่ธาตุมากกว่าส่วนอื่นของเมล็ด ทำให้สัตว์สามารถย่อยและใช้ประโยชน์ได้ดีกว่า ดังนั้นปลายข้าวขนาดเล็กจึงเป็นที่นิยมใช้เลี้ยงสัตว์มากกว่า แต่มักมีราคาแพงและหาซื้อได้ยาก การ

นำปลายข้าวมาหนึ่งหรือต้มก่อนนำไปผลิตอาหารจะช่วยให้อาหารดีขึ้น ปลายข้าวเจ้า ราคา 9.10 บาทต่อกิโลกรัม (กรมการค้าภายใน, 2550)

6.1.2 ไร่ข้าว เป็นผลพลอยได้จากการสีข้าวเช่นเดียวกับปลายข้าว สามารถแบ่งแยกออกได้หลายชนิด ได้แก่ ไร่หยาบ มีส่วนของเปลือกนอกติดกับเมล็ดข้าว (bran) ส่วนของจมูกข้าว (germ) ส่วนของปลายข้าว (broken rice) ส่วนของเมล็ดข้าว (endosperm) และอาจมีส่วนของกลีบปนมาบ้าง ไร่หยาบมีเยื่อใยและซิลิกาค่อนข้างสูง มีโปรตีนรวมประมาณ 7-8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมันประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ไร่ละเอียด ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว ปลายข้าวและมีกลีบปนเล็กน้อย มีโปรตีนประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ มีไขมันค่อนข้างสูงประมาณ 12-13 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการนำไร่ละเอียดไปสกัดน้ำมัน กากที่เหลือเรียกว่ากากไร่หรือไร่สกัดน้ำมัน มีโปรตีนสูงประมาณ 14-15 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 13-15 เปอร์เซ็นต์ ไร่ละเอียดมีไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่ในระดับค่อนข้างสูง และเป็นไขมันที่หืนได้ง่าย ในสภาวะที่อากาศร้อน หากเก็บไว้เกิน 60 วัน ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ การใช้ไร่ละเอียดหรือไร่สกัดน้ำมันเป็นส่วนผสมในสูตรอาหารปลากินเนื้อไม่ควรมากเกินไป 20 เปอร์เซ็นต์ แต่ปลากินพืชอาจผสมได้ถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ ไร่ละเอียดมักจะมีการปลอมปนด้วยกลีบปน ละอองข้าวหรือดินขาวปน ทำให้คุณค่าทางอาหารต่ำลง ถ้าเป็นไร่ข้าวนาปรัง ควรระวังเรื่องยาฆ่าแมลง ที่ปะปนมาในระดับสูง ไร่สกัดน้ำมันได้จากการนำเอาไร่ละเอียดไปสกัดเอาไขมันออก ใช้ทดแทนไร่ละเอียดได้ดี แต่ต้องระวังเรื่องระดับพลังงาน เพราะไร่สกัดน้ำมันมีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ต่ำกว่าไร่ละเอียด แต่ไร่ละเอียดมีเยื่อใยเป็นส่วนประกอบในระดับสูง จึงมีลักษณะฟาม ไม่ควรใช้เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ไร่ละเอียดคุณสมบัติเป็นยาระบาย กากไร่สกัด ราคา 6.20-6.30 บาท/กิโลกรัม ไร่ข้าวขาว ราคา 6.80-6.90 บาทต่อกิโลกรัม (กรมการค้าภายใน, 2550)

6.1.3 ข้าวโพด มีโปรตีนรวมประมาณ 8-13 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 65 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 3-6 เปอร์เซ็นต์ และมีเยื่อใยอยู่ในระดับต่ำ นิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารปลาเลี้ยงน้ำ ข้าวโพดที่ดีควรเป็นข้าวโพดที่บดอย่างละเอียด ไม่มีมอดกิน ไม่มีสิ่งปลอมปน และที่สำคัญที่สุดจะต้องไม่ขึ้นรา และไม่มียาฆ่าแมลงปลอมปน ข้าวโพดสามารถใช้ทดแทนปลายข้าวได้ แต่มีข้อเสีย คือ เชื้อราและยาฆ่าแมลง เนื่องจากการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาไม่ดีพอ เมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นเมล็ดสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ มีโอกาสที่เชื้อรา *Aspergillus flavus* จะเข้าทำลายและสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้สูง (พันทิพา, 2533) ดังนั้นควรเลือกซื้อเมล็ดข้าวโพดที่มีความชื้นไม่เกิน

13 เปอร์เซ็นต์ และควรบดให้ละเอียดก่อนเพราะข้าวโพดขนาดใหญ่ย่อยยากและช่วยให้การผสมได้ผลดีขึ้น ข้าวโพด ราคา 792-796 บาทต่อ 100 กิโลกรัม

6.1.4 ข้าวฟ่าง มีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับข้าวโพด มีโปรตีนประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2-3 เปอร์เซ็นต์ แป้งประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ ข้าวฟ่างโดยทั่วไปจะมีสารแทนนิน (ประมาณ 0.1-0.3 เปอร์เซ็นต์) ทำให้มีรสฝาด (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2537) สารแทนนินมีผลทำให้การย่อยได้ของโปรตีนและพลังงานลดลง ดังนั้น จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้ข้าวฟ่าง นอกจากนี้ควรเอาเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วบดให้ละเอียดก่อนนำมาผสมในสูตรอาหารปลาและควรใช้ร่วมกับปลาป่นหรือกากถั่วเหลือง เนื่องจากข้าวฟ่างมีกรดอะมิโนไลซีนและทรีโอนีนต่ำ

6.1.5 มันสำปะหลัง มี 3 ลักษณะ ได้แก่ หัวมันสด มันเส้น และแป้งมันสำปะหลัง มักมีปัญหาเรื่องสารพิษไซยาไนด์ จึงควรตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำมาตากแดดให้แห้งประมาณ 3-5 วันก่อน ก็จะทำให้สารพิษดังกล่าวสลายไปได้ การใช้มันเส้นหรือมันสำปะหลังผสมในสูตรอาหารปลา กินเนื้อไม่ควรเกิน 15-20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สูตรอาหารปลา กินพืชอาจผสมได้ถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ มันเส้น ราคา 345-380 บาทต่อ 100 กิโลกรัม

6.2 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนสูง

วัตถุดิบอาหารสัตว์เหล่านี้มักมีปริมาณโปรตีนมากกว่าความต้องการของปลา และส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพดี

อาหารโปรตีนที่ได้จากสัตว์

6.2.1 ปลาป่น เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนสูงจากสัตว์และเป็นที่ยอมรับใช้ในการผลิตอาหารปลา เนื่องจากมีโปรตีนที่มีคุณภาพสูงมากประมาณ 55-60 เปอร์เซ็นต์ มีกรดอะมิโนไลซีนและเมทไธโอนีนสูง ความชื้น 8-10 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 8-10 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 20-25 เปอร์เซ็นต์ และมีเชื้อไขอยู่ในระดับต่ำ คุณภาพปลาป่นขึ้นอยู่กับชนิดของปลาที่ใช้ทำปลาป่น รวมทั้งกรรมวิธีการผลิต เช่น ถ้าใช้ความร้อนสูงทำให้คุณค่าทางอาหารต่ำลง ปลาป่นมีคุณค่าทางอาหารสูงเนื่องจากมีกรดอะมิโนครบถ้วนทุกชนิด นอกจากนี้ยังมีแคลเซียมและฟอสฟอรัสปริมาณมาก และยังมีกลิ่นที่ดีช่วยกระตุ้นให้ปลากินอาหารได้มากขึ้น แต่มีข้อจำกัดในการใช้ คือ ราคาแพง ทำให้เกิดปัญหาการปลอมปนด้วยวัสดุอื่นที่มีราคาถูก เช่น ทราย เปลือกหอยบด ยูเรีย ขนไก่ เป็นต้น ทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง ปลาป่นเบอร์ 1 (โปรตีน ร้อยละ 60-64.99) ราคา 24.26 บาทต่อ

กิโลกรัม ปลาป่นเบอร์ 2 (โปรตีนร้อยละ 60) ราคา 23.50 บาท/กิโลกรัม ปลาป่นเบอร์ 2 (โปรตีนร้อยละ 59.99) ราคา 20.10 บาทต่อกิโลกรัม ปลาป่นนำเข้าโปรตีนร้อยละ 60 ลงมา เบอร์ 3 ราคา 20.60 บาทต่อกิโลกรัม (กรมการค้าภายใน, 2550)

อาหารโปรตีนที่ได้จากพืช

6.2.2 กากถั่วเหลือง เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนจากพืชที่ดีที่สุด เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันออกจากเมล็ดถั่วเหลือง มีโปรตีนคุณภาพดีรองจากปลาป่น ประมาณ 42-48 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับกระบวนการสกัดน้ำมัน ไขมันประมาณ 1-4 เปอร์เซ็นต์ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากกระบวนการอัดน้ำมัน และกากถั่วเหลืองที่ได้จากกระบวนการสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี แต่มีข้อจำกัดในการใช้ คือ มีเอนไซม์ยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor) หลงเหลืออยู่ถ้ากากถั่วเหลืองได้รับความร้อนไม่เพียงพอ โดยเฉพาะกากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน มีผลทำให้การย่อยได้ลดลงส่วนกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนมากเกินไปจะมีสีน้ำตาลคล้ำ มีกลิ่นเหม็นไหม้ มีผลทำให้การย่อยได้ของไลซีนต่ำลง กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันชนิดกะเทาะเปลือกมีโปรตีนและเยื่อใยประมาณ 50 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ถั่วเหลืองสกัดน้ำมันชนิดไม่กะเทาะเปลือกมี 45 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันชนิดกะเทาะเปลือกมีคุณค่าทางโภชนาการดีกว่าเนื่องจากการกะเทาะเปลือกก่อนการสกัดน้ำมันจะเหลือแต่เมล็ดถั่วเหลืองเท่านั้นจึงทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการดีกว่า กากถั่วเหลืองนำเข้าโปรตีนร้อยละ 42-45 ราคา 10.50-10.60 บาท/กิโลกรัม กากถั่วเหลืองที่ผลิตในประเทศ (นำเข้าเมล็ด) ราคา 11.00-11.10 บาทต่อกิโลกรัม

6.2.3 กากมะพร้าว เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันมะพร้าวจากเนื้อมะพร้าวของโรงงานผลิตน้ำมันพืช เนื้อในมะพร้าวเมื่อแยกเอาน้ำมันออกแล้วจะเหลือส่วนของกากประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่จะสกัดน้ำมันออกด้วยวิธีการอัดน้ำมัน (expeller) ซึ่งจะเหลือน้ำมันอยู่ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ กากมะพร้าวมีโปรตีนประมาณ 19.6 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ กากมะพร้าวที่ดีควรมีสีค่อนข้างขาวนวล หรือสีน้ำตาลอ่อน ถ้าอัดน้ำมันออกใหม่ ๆ จะมีกลิ่นหอมน่ากิน แต่ถ้าเป็นกากมะพร้าวจากการคั่นกะทิ จะมีโปรตีนต่ำมาก ประมาณ 1.2 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยสูงประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ไขมันสูง ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้หืนง่ายและใช้ในสูตรอาหารได้น้อย

6.2.4 กากถั่วลิสง เป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันออก มีโปรตีนอยู่ประมาณ 44-50 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใยประมาณ 5.5 เปอร์เซ็นต์ การใช้กากถั่วลิสงอย่างเดียวในอาหาร จะทำให้สัตว์เจริญเติบโตช้า เนื่องจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโน ดังนั้น จึงควรใช้กากถั่วลิสงร่วมกับกากถั่วเหลืองและปลาป่น การเก็บรักษากากถั่วลิสง ถ้ามีความชื้นสูงจะเสียเร็ว เนื่องจากถั่วลิสงเป็นพืชที่มีน้ำมันมาก จึงเก็บไว้นานไม่ได้ เนื่องจากเกิดการเหม็นหืน และมีราเกิดขึ้นได้ง่าย ดังนั้น ควรเลือกใช้กากถั่วลิสงที่ใหม่ มีไขมันต่ำ และควรเก็บไว้ในที่ไม่ร้อนและชื้น

6.3 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทพลังงานสูง

โดยทั่วไปวัตถุดิบประเภทนี้ ได้แก่ น้ำตาลทราย กากน้ำตาล และไขมันชนิดต่าง ๆ แต่ปลาใช้น้ำตาลทรายและกากน้ำตาลได้น้อยมาก จึงไม่มีการใช้ในการผลิตอาหารปลา การใช้ไขมันหรือน้ำมันผสมในอาหารปลานิยมใช้ในสูตรอาหารที่มีพลังงานต่ำและเยื่อใยสูง ช่วยทำให้ปลาเจริญเติบโตดีขึ้น น้ำมันที่นิยมใส่ในสูตรอาหารปลา คือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันตับปลา เป็นต้น เนื่องจากน้ำมันเหล่านี้ส่วนใหญ่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบและมีกลิ่นหอมจะช่วยกระตุ้นการกินอาหารให้ดีขึ้น

6.4 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทวิตามินและแร่ธาตุ

โดยทั่วไปวัตถุดิบอาหารสัตว์จะมีวิตามินและแร่ธาตุอยู่แล้ว แต่อาจอยู่ในรูปที่จับตัวกับสารอื่น ๆ ทำให้ปลาใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่หรืออาจมีปริมาณต่ำกว่าความต้องการ จึงจำเป็นต้องใส่วิตามินและแร่ธาตุสมทบเข้าไป เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการ ได้แก่ ปริเม็กซ์ ไคแคลเซียมฟอสเฟต และกระดูกป่น

6.5 วัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทกรดอะมิโนสังเคราะห์

กรดอะมิโนสังเคราะห์อาจจำเป็นต้องใช้เมื่ออาหารปลาที่ผลิตได้มีระดับกรดอะมิโนต่ำกว่าความต้องการของร่างกาย อย่างไรก็ตาม ถ้าใช้วัตถุดิบอาหารที่มีคุณภาพสูง กรดอะมิโนครบถ้วนก็ไม่จำเป็นต้องใช้กรดอะมิโนสังเคราะห์เนื่องจากมีราคาแพง

7. การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง (*in vitro* digestibility)

การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยอาหารโดยใช้เทคนิค *in vitro* digestibility โดยการสกัดเอนไซม์จากอวัยวะหรือตัวสัตว์ที่ต้องการศึกษาและนำมาทดสอบการย่อยอาหารในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นวิธีการเบื้องต้นสำหรับประเมินประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหาร สุนทรอาหาร หรืออาหารสำเร็จรูป อาศัยการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ทริปซินเป็นพื้นฐาน เนื่องจากเอนไซม์ทริปซินเป็นปัจจัยสำคัญอันดับแรกที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion efficiency: FEC) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR)

Lemos *et al.* (2000) รายงานผลจากการศึกษาการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดจากกุ้ง penaeid พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินมีความผันแปรมากช่วง larval และ postlarval และมีค่ากิจกรรมสูงสุดช่วง protozoa III และจากการตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยวิธี pH stat ในปลาป่น 3 ชนิด (ประกอบด้วย deboned white fish meal, Menhaden fish meal A และ Menhaden fish meal B) เนื้อป่น (Mexican tuna waste meal, Chilean anchovy meal และ Langostilla meal) และโปรตีนถั่วเหลืองของเอนไซม์ที่สกัดจากเฮพาโตแพนเคเรียสของกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* พบว่าเอนไซม์จากกุ้งสามารถย่อย deboned white fish meal ได้ดีที่สุดในเมื่อเทียบกับปลาป่นชนิดอื่น เนื่องจากในกระบวนการผลิตปลาป่นได้รับความร้อนมากเกินไปทำให้กรดอะมิโนบางตัวถูกทำลายไป

Divakaran *et al.* (2004) ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในสุนทรอาหาร 6 ชนิดซึ่งประกอบด้วยกากถั่วเหลืองในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ที่สกัดจากต่อมย่อย (midgut gland) ของกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* ตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา (free amino groups) ด้วยสารละลาย 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) พบว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์ซึ่งวัดจากอัตราการสลาย (rate of hydrolysis) ของสุนทรอาหารทั้ง 6 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองแสดงว่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของกากถั่วเหลืองในสุนทรอาหารเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับผลจากการย่อยเมื่อทดลองนำไปเลี้ยงจริง (*in vivo* digestibility) (Divakaran *et al.*, 2000)

Lemos *et al.* (2004) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (degree of hydrolysis: DH%) โดยใช้วิธี pH stat และ SDS-PAGE ในปลาป่น 4 ชนิด (ประกอบด้วย Super Prime Chilean fish meal, Brazilian fish meal, Argentinean fish meal และ Mexican Standard fish meal) เนื้อป่น เลือดปน กากถั่วเหลือง และแป้งข้าวสาลี โดยเอนไซม์ที่สกัดจากเฮพาโตแพนเครียสของกุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* พบว่าเอนไซม์จากกุ้งสามารถย่อยปลาป่น Brazilian fish meal ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่นอีก 3 ชนิดเนื่องจากความสดของปลาที่นำมาผลิตปลาป่นต่างกัน รองลงมา คือ เนื้อป่น และแป้งข้าวสาลี ส่วนกากถั่วเหลืองและเลือดปนเอนไซม์ย่อยได้น้อย และจากการศึกษาของ Ezquerro *et al.* (1997, 1998), Carcia-Carreno *et al.* (1997) และ Cruz-Suarez *et al.* (2000) รายงานว่าวิธี pH stat มีความเหมาะสมในการประเมินประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารกุ้งซึ่งประกอบด้วยปลาป่นและกากถั่วเหลืองซึ่งถือเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่ดีที่สุดโดยเอนไซม์ที่สกัดจากอวัยวะย่อยอาหารที่ต้องการศึกษา เนื่องจากมีข้อดี คือ (1) สามารถตรวจวัดอัตราการการสลายได้อย่างรวดเร็วระหว่างที่เกิดกระบวนการย่อย (2) pH คงที่ระหว่างเกิดกระบวนการย่อยโดยปราศจากการเติมบัฟเฟอร์ (3) วิธี pH stat มีความไวต่อตัวบ่งชี้เอนไซม์ทริปซิน (4) ผลการศึกษามีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเมื่อนำไปทดลองเลี้ยงจริง (Ezquerro *et al.*, 1998)

เทคนิค *in vitro* digestibility สามารถนำไปประยุกต์ได้หลายแนวทาง คือ สำหรับผู้ผลิตอาหารหรือโรงงานผลิตอาหาร สามารถตรวจสอบประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของอาหาร ตรวจสอบกรรมวิธีการผลิต ปรับปรุงวัตถุดิบราคาถูกให้เป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารที่ดี กำหนดเกณฑ์รับรองคุณภาพการใช้ประโยชน์อาหาร สำหรับเกษตรกร สามารถตรวจสอบเพื่อคัดเลือกอาหารที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับสภาวะการย่อยของสัตว์ ข้อดีของเทคนิค *in vitro* digestibility เช่น สะดวก ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาน้อย ค่าใช้จ่ายไม่แพง สามารถเลือกใช้วัตถุดิบที่สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง ซึ่งมีผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ลดต้นทุนการผลิต และลดปัญหาสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังใช้ทำนายการเจริญเติบโตของปลาแซลมอนได้ล่วงหน้า 3 เดือน และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยอาหารของสัตว์ทั้งชนิดเดียวกันและต่างชนิดกันได้ (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002) จากการศึกษา isozymes ของเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากไส้ติ่งของปลาแซลมอน *Salmo salar* L พบว่ามีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหารในช่วงที่มีการเจริญเติบโต ส่วนเอนไซม์ไคโมทริปซินมีบทบาทสำคัญในช่วงอดอาหาร (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์

- 1.1 หลอดทดลอง
- 1.2 ออร์โต้ปิเปต
- 1.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 1.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
- 1.6 เครื่องชั่ง
- 1.7 เครื่องกลั่น Kjeltac™ 2100
- 1.8 เครื่อง SOXTEC SYSTEM HT 1043 Extraction Unit
- 1.9 เครื่องชั่งหาความชื้น SARTORIUS รุ่น MA 30
- 1.10 เตาเผาไฟฟ้า

2. สารเคมี

- 2.1 Starch soluble
- 2.2 Azocasein
- 2.3 *p*-nitrophenylpalmitate (*p*NPP)
- 2.4 Carboxymethylcellulose (CMC)
- 2.5 N-succinyl-ala-ala-pro-phenylalanine-*p*-nitroanilide (SAPNA)
- 2.6 N-benzoyl-L-arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA)
- 2.7 Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างปลาสวายหนู

1.1 เก็บตัวอย่างปลาสวายหนู *H. leptorhynchus* Ng and Kottelat, 2000 ระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย ในพื้นที่ลุ่มแม่น้ำมูลตอนล่าง จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นบริเวณที่พบปลาสวายหนูตลอดทั้งปี

1.2 บันทึกข้อมูล ประกอบด้วย ความยาวมาตรฐานและน้ำหนักของตัวอย่างปลาสวายหนู โดยแบ่งขนาดตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจเป็นช่วงความยาว ดังนี้ ความยาวมาตรฐานน้อยกว่า 5 5-20 21-35 และความยาวมาตรฐานมากกว่า 35 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บตัวอย่างช่วงความยาวละ 2 ซ้ำๆ ละ 4-6 ตัว แต่ละซ้ำคัดเลือกปลาที่มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกัน

2. การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลาสวายหนู

2.1 การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลาสวายหนูระยะวัยอ่อน (ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร)

ตัดแยกส่วนหัวและส่วนหางของปลาสวายหนูออกเหลือเฉพาะส่วนกลางของลำตัว ตั้งแต่หลอดอาหารจนถึงรูทวาร (anus) บดละเอียดด้วย homogenizer ขณะที่บดจะแช่ในอ่างน้ำแข็งนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วแบ่งเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น crude enzyme extract สำหรับตรวจสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารและความสามารถในการย่อยอาหารชนิดต่าง ๆ โดยวิธี *in vitro* digestibility

2.2 การสกัดเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลาสาวยหนูระยะตัวเต็มวัย (ช่วงขนาด 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร)

เก็บอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารจากปลาสาวยหนูระยะตัวเต็มวัย ได้แก่ เฮพาโตแพนไครียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ มาบดละเอียดด้วย homogenizer ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ขณะที่บดจะแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วดูดส่วนที่เป็นชั้นไขมันที่ลอยอยู่ด้านบนออก นำส่วนใสไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 10,000 xg นาน 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วแบ่งเก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น crude enzyme extract สำหรับตรวจสอบสถานะที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารและความสามารถในการย่อยอาหารชนิดต่าง ๆ โดยวิธี *in vitro* digestibility

2.3 การเตรียม dialyzed crude enzyme extract ของปลาสาวยหนูในระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยนำเอนไซม์ที่สกัดจากข้อ 2.1 และ 2.2 ไป dialyze ข้ามกั้น ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ pH 7 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหาร

3.1 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

ศึกษากิจกรรมและสถานะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ในสถานะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseere *et al.* (2004) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Bernfeld (1951) ดังนี้

3.1.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในสถานะเปลี่ยนแปลง pH เตรียมสารละลายสับสเตรท ประกอบด้วย น้ำแป้งความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางจากน้ำแป้งเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย starch soluble ในน้ำกลั่น ต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น) ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (เจือจางจากสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์) ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ (เจือจางจากสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์) (บัฟเฟอร์ที่ใช้แต่ละ pH มีดังนี้ pH 2 โกลซีน-กรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 3-5 กรดซิตริก-ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6-8 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 9-10 โซเดียม

คาร์บอนเนต-โซเดียมไบคาร์เนตบัฟเฟอร์ pH 11 ฟอสเฟต-โซเดียมไฮดรอกไซด์บัฟเฟอร์ และ pH 12 โปแทสเซียมคลอไรด์-โซเดียมไฮดรอกไซด์บัฟเฟอร์) ผสมสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร กับ crude enzyme extract ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซส กระเพาะอาหารและลำไส้ ปริมาตร 5 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส (ภาพผนวกที่ 2) แบลงค์ประกอบด้วย สารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.1.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH โดยอุณหภูมิ 125 ไมโครลิตร ในอ่างน้ำควบคุม อุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 5 นาที จากนั้นเติม crude enzyme extract ปริมาตร 5 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของ สารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส (ภาพผนวกที่ 2) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตรที่อุณหภูมิต่างๆ โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส

ศึกษากิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอส ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijserree *et al.* (2004) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Vega-Villasante *et al.* (1995) ดังนี้

3.2.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH โดยเตรียมสารละลายสับสเตรท คือ สารละลาย azocasein เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมโดยละลาย azocasein ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับ สารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 450 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที คูส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร แบลงค์ ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 50 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 450 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.2.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH โดยอุ่นสารละลายสับสเตรทปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 5 นาที เติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย TCA ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที คูส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 50 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 450 ไมโครลิตรที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

ศึกษากิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijseere *et al.* (2002) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nirpjit and Kaur (2002) ดังนี้

3.3.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH โดยเตรียมสารละลายสับสเตรท คือ สารละลาย *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (เตรียมโดยละลาย *p*-NPP ในสารละลายโพพานอลเข้มข้น 78.6 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร แบลงค์ประกอบด้วยสารละลาย

สับสเตรทปริมาตร 200 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.3.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH โดยอุ่นสารละลายสับสเตรทปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 5 นาที เติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 200 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

ศึกษากิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Areekijserree *et al.* (2002) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Mendels *et al.* (1976) ดังนี้

3.4.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH โดยเตรียมสารละลายสับสเตรท คือ สารละลาย carboxymethyl cellulose (CMC) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (เจือจางจากสารละลาย CMC เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย CMC ในน้ำกลั่น คนให้ละลายอย่างดีโดยใช้ magnetic stirrer) ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (เจือจางจากสารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์) ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ (เจือจางจากสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 โมลาร์) ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ดังข้อ 3.1.1 เติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำใหเย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (ภาพผนวกที่ 3) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.4.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH โดยอุ่นสับสเตรทปริมาตร 250 ไมโครลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน นาน 5 นาที เติม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 15 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (ภาพผนวกที่ 3) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน

ศึกษากิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 5-11 และอุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Sunde *et al.* (2001) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Torrissen *et al.* (1994) ดังนี้

3.5.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH โดยเตรียมสารละลายสับสเตรท คือ สารละลาย N-benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) ความเข้มข้น 1.25 มิลลิโมลาร์ ที่มีสารละลาย dimethylformamide เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ ดังข้อ 3.1.1 จุด dialyzed crude enzyme extract ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เติมสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-15 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A_{410} กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (V_i) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน p-nitroaniline (ภาพผนวกที่ 6) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.5.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimum pH โดยอุ่นสารละลายสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 5 นาที จุด dialyzed crude enzyme extract ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เติมสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-15 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์

ระหว่าง A_{410} กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (V_i) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน *p*-nitroaniline (ภาพผนวกที่ 6) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลาย สับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน

ศึกษากิจกรรมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 5-11 และอุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Sunde *et al.* (2001) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Torrissen *et al.* (1994) ดังนี้

3.6.1 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH โดยเตรียมสารละลายสับสเตรท คือ สารละลาย N-succinyl-ala-ala-pro-phenylalanine-p-nitroanilide (SAPNA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ที่มีสารละลาย dimethylformamide เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ ดังข้อ 3.1.1 จุด dialyzed crude enzyme extract ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เดิมสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-15 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A_{410} กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (V_i) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน *p*-nitroaniline (ภาพผนวกที่ 6) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลาย สับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.6.2 วิธีวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส ที่ optimum pH โดยอุ่นสารละลายสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 5 นาที จุด dialyzed crude enzyme extract ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เดิมสับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-15 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A_{410} กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (V_i) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน *p*-nitroaniline (ภาพผนวกที่ 6) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลาย สับสเตรทปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7 การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหาร

ศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหารในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 และ อุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ในปลาสวายนุ่นช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร คัดแปลงจากวิธีการของ Areekijserree *et al.* (2002)

3.7.1 ความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลส

3.7.1.1 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลสต่อ pH 2-12 โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2-12 ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร ที่ pH 7 กับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส (ภาพผนวกที่ 2) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.1.2 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร ที่ pH 7 กับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส (ภาพผนวกที่ 2) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.2 ความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอส

3.7.2.1 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อ pH 2-12 โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2-12 ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรท azocasein เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 9: เฮฟาโตแพนเครียส pH 4: กระเพาะอาหาร และ pH 10: ลำไส้) ปริมาตร 450 ไมโครลิตรกับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที ดูดส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 50 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 450 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.2.2 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9 (เฮฟาโตแพนเครียส) pH 4 (กระเพาะอาหาร) และ pH 10 (ลำไส้) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ ผสมสารละลายสับสเตรท azocasein เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 9: เฮฟาโตแพนเครียส pH 4: กระเพาะอาหาร และ pH 10: ลำไส้) ปริมาตร 450 ไมโครลิตรกับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที ดูดส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 50 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 450 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.3 ความคงตัวของเอนไซม์ไลเปส

3.7.3.1 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่อ pH 2-12 โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2-12 ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรท *p*-NPP เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 8: เฮฟาโตแพนเครียส และ pH 7: กระเพาะอาหารและลำไส้) ปริมาตร 800 ไมโครลิตรกับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร แปลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 200 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 800 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.3.2 วิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 8 (เฮฟาโตแพนเครียส) และ pH 7 (กระเพาะอาหารและลำไส้) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรท *p*-NPP เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ (pH 8: เฮฟาโตแพนเครียส และ pH 7: กระเพาะอาหารและลำไส้) ปริมาตร 800 ไมโครลิตรกับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร แปลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 200 ไมโครลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 800 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.4 ความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลส

3.7.4.1 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่อ pH 2-12 โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2-12 ดังข้อ 3.1.1 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสม

สารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร ที่ pH 6 กับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (ภาพผนวกที่ 3) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

3.7.4.2 วิธีวิเคราะห์ความคงตัวของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส โดยบ่ม crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 6 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 30 นาที วัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ โดยผสมสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร ที่ pH 6 กับ crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (ภาพผนวกที่ 3) แบลงค์ประกอบด้วยสารละลายสับสเตรทปริมาตร 125 ไมโครลิตร โดยไม่เติม crude enzyme extract

4. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลา สวายหุระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro* digestibility ดัดแปลงจากวิธีการของ Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2000)

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยวิธี *in vitro* digestibility เพื่อคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมกับการย่อยของปลาแต่ละระยะ สำหรับอาหารที่ใช้ทดสอบ คือ อาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ตารางผนวกที่ 1) ดังนี้

4.1 การเตรียมสับสเตรทสำหรับใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์

4.1.1 นำอาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหารของปลาสวายหนูมาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว ทำให้แห้ง โดยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) แล้วเก็บในแชลิกเคเตอร์

4.1.2 นำอาหารสำเร็จรูปและวัตถุดิบอาหารสัตว์มาบดให้ละเอียด ทำให้แห้ง โดยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) แล้วเก็บในแชลิกเคเตอร์

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารแต่ละชนิดโดยเอนไซม์ที่สกัดจากปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย ทำดังนี้ ชั่งอาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ข้อ 4.1) ชนิดละ 5 มิลลิกรัม เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4.95 มิลลิลิตร และสารละลายคลอแรมฟินิคอล เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มและเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติม dialyzed crude enzyme extract ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มและเขย่าต่อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อีก 24 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที แล้วดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ นำไปวิเคราะห์ผลผลิตของปฏิกิริยา คือ น้ำตาลมอลโทสและเพปไทด์สายสั้นตามวิธีการในข้อ 4.2.1 และ 4.2.2

ชุดควบคุม เตรียมโดยชั่งอาหารชนิดที่พบในท่อทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ข้อ 4.1) ชนิดละ 5 มิลลิกรัม เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4.95 มิลลิลิตร และสารละลายคลอแรมฟินิคอล เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มและเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 xg นาน 10 นาที แล้วดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ นำไปวิเคราะห์ผลผลิตของปฏิกิริยา คือ น้ำตาลมอลโทสและเพปไทด์สายสั้นตามวิธีการในข้อ 4.2.1 และ 4.2.2

4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลมอลโทส โดยวิธีการของ Bernfeld (1951)

จุดตัวอย่างส่วนใดจากข้อ 4.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส (ภาพผนวกที่ 5)

4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเพปไทด์สายสั้น โดยวิธี Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)

จุดตัวอย่างส่วนใดจากข้อ 4.2 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และสารละลาย TNBS ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ DL-alanine (ภาพผนวกที่ 4)

5. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสวายหนู ตามวิธีการของ AOAC (2000)

การวิเคราะห์คุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสวายหนูเป็นการนำอาหารที่ได้จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดจากปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย (ตารางผนวกที่ 1) มาวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต ดังนี้

5.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธี AOAC (2000) โดยใช้เครื่องกลั่น Kjeltac™ 2100 (ภาคผนวก)

5.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันตามวิธี AOAC (2000) โดยใช้เครื่อง SOXTEC SYSTEM HT 1043 Extraction Unit (ภาคผนวก)

5.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าตามวิธี AOAC (2000) (ภาคผนวก)

5.4 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยตามวิธี AOAC (2000) (ภาคผนวก)

5.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธี AOAC (2000) โดยใช้เครื่องชั่งหาความชื้น SARTORIUS รุ่น MA 30 (ภาคผนวก)

5.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตตามวิธี AOAC (2000) (ภาคผนวก)

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลจากการศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส โปรตีนเอส ไลเปส ทริปซินและไลโมทริปซิน ข้อมูลจากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารชนิดต่าง ๆ ของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสร้อยหนุระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย นำมาหาค่าเฉลี่ย (average) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของดันแคน

7. สถานที่ทำการวิจัย

7.1 เก็บตัวอย่างปลาสร้อยหนุจากสถานีเก็บตัวอย่างในพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนล่าง จังหวัดอุบลราชธานี

7.2 เตรียมตัวอย่างปลาสร้อยหนุ ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร และประสิทธิภาพการย่อยอาหารที่ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

7.3 วิเคราะห์คุณภาพอาหารที่ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

8. ระยะเวลาในการวิจัย

เริ่มตั้งแต่เดือนธันวาคม 2548 สิ้นสุดเดือนมีนาคม 2550

ผลและวิจารณ์

ผล

1. อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารของปลาสวายหนู

1.1 ตับ

ตับของปลาสวายหนูมีขนาดใหญ่ สีแดง แดกแขนงออกเป็น 3 พู (ภาพที่ 2 และ 4) มีบางส่วนของตับอ่อนแทรกอยู่ รวมเรียกว่า เฮพาโตแพนكريส สภาพเป็นกลาง pH 7

1.2 กระเพาะอาหาร

กระเพาะอาหารของปลาสวายหนูมีลักษณะเป็นรูปตัวอักษร ง หรือ ตัวอักษร เจ (J-shaped หรือ caccal type) สภาพเป็นกรด pH 2-4 (ภาพที่ 3)

1.3 ลำไส้

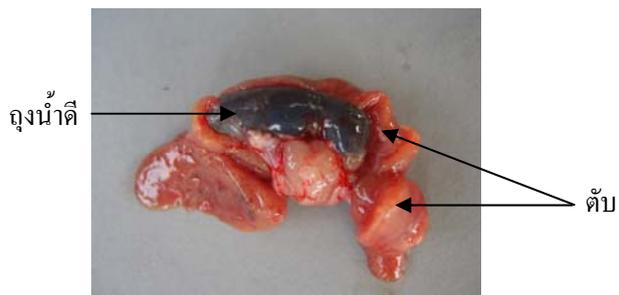
ลำไส้ของปลาสวายหนูมีลักษณะเป็นท่อยาวไปตลอดความยาวของช่องท้องไปเปิดออกบริเวณช่องทวาร มีความยาวเป็น 1.0-1.5 เท่าของความยาวลำตัว สภาพเป็นเบส pH 7-12 (ภาพที่ 4)

1.4 ถุงน้ำดี

ถุงน้ำดีของปลาสวายหนูมีลักษณะเป็นถุงบางใสรูปรี ขนาดใหญ่ สีเขียวแก่หรือน้ำเงินเข้ม ตำแหน่งของถุงน้ำดีอยู่ในตับ ระหว่างง่ามของกิลบตับก่อนมาทางท้าย (ภาพที่ 2 และ 4)

1.5 ม้าม

ม้ามของปลาสวายหนูมีสีแดงเข้ม ตั้งอยู่ใกล้กับส่วนต้นของกระเพาะอาหาร (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2 ตับของปลาสร้อยหนู



ภาพที่ 3 กระเพาะอาหารของปลาสร้อยหนู



ภาพที่ 4 ท่อทางเดินอาหารของปลาสร้อยหนู

(i คือ ลำไส้ h คือ เฮฟาโตแพนكريส b คือ ถุงน้ำดี sp คือ ม้าม)

2. คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายหนู

2.1 คุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 5A-5D และตารางที่ 1) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์มีทั้งเอลิต นิวทรัล และแอลคาไลน์อะไมเลส ดังนี้

ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์อะไมเลส แสดงกิจกรรมที่ pH 6 และ 8 และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 (ภาพที่ 5A และตารางที่ 1)

ช่วงขนาด 5-20 เซนติเมตร

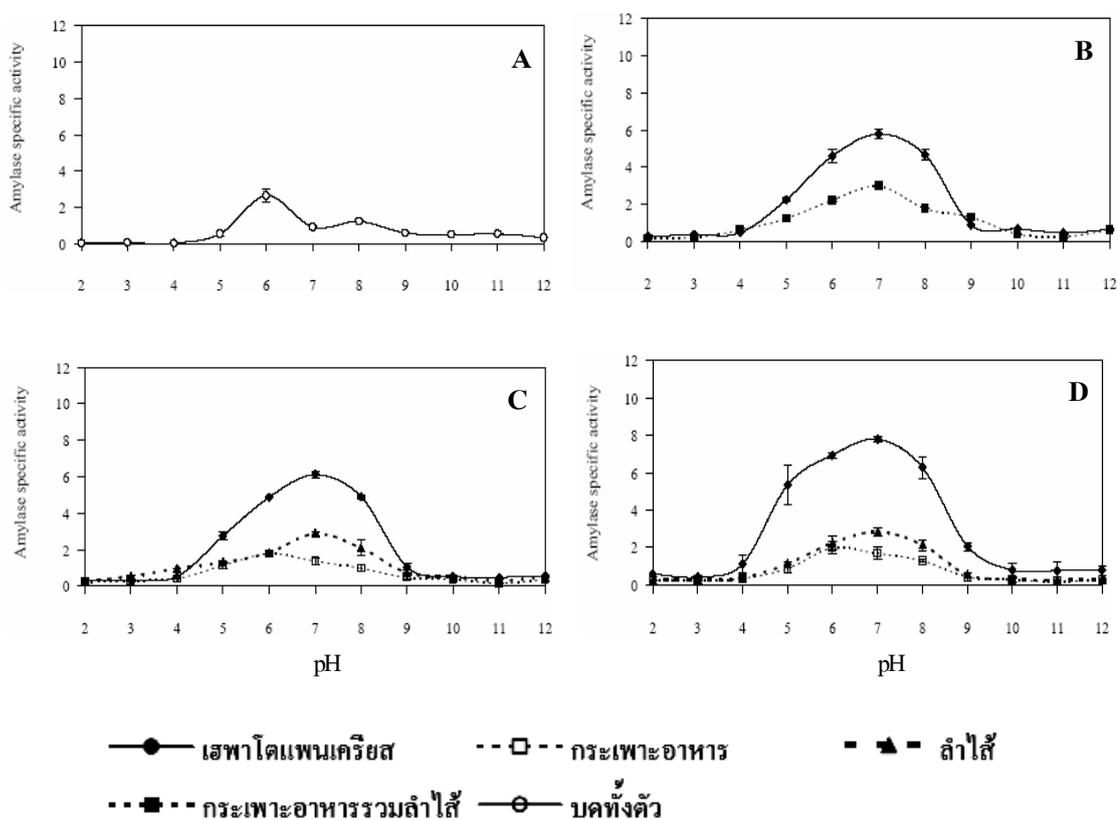
เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมในช่วง pH กว้างจาก 6-8 และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 ส่วนเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้มีทั้งนิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมที่ pH 7 และแอลคาไลน์อะไมเลส แสดงกิจกรรมที่ pH 9 โดยนิวทรัลอะไมเลสมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุด (ภาพที่ 5B และตารางที่ 1)

ช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร

เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซเป็นนิวทรัลอะไมเลส แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 ส่วนเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารมีทั้งเอลิตอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 6 และแอลคาไลน์อะไมเลส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 และเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากลำไส้เป็นนิวทรัลอะไมเลส แสดงกิจกรรมในช่วง pH กว้างจาก 6-8 และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 (ภาพที่ 5C และตารางที่ 1)

ช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซิสมีทั้งเอซิดอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 และนิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 เป็นอะไมเลสหลักในเฮฟาโตแพนแครีซิส เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารมีทั้งเอซิดอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 6 และแอลคาไลน์อะไมเลส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และเอซิดอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงกว่าแอลคาไลน์อะไมเลส ส่วนเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากลำไส้เป็นนิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 (ภาพที่ 5D และตารางที่ 1)



ภาพที่ 5 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสาวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 5A) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 5B) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 5C) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 5D)

เมื่อศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากปลาช่อนช่วงขนาดต่างๆ ที่ optimal pH ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6A-6H และตารางที่ 1) ได้ผลดังนี้

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

ทั้งเอลิดอะไมเลสและแอลคาไลน์อะไมเลสมีรูปแบบของเอนไซม์เหมือนกัน คือ ประกอบด้วย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส โดยแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 30 องศาเซลเซียส แต่แอลคาไลน์อะไมเลสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะต่ำกว่าเอลิดอะไมเลส ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6A-6B)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

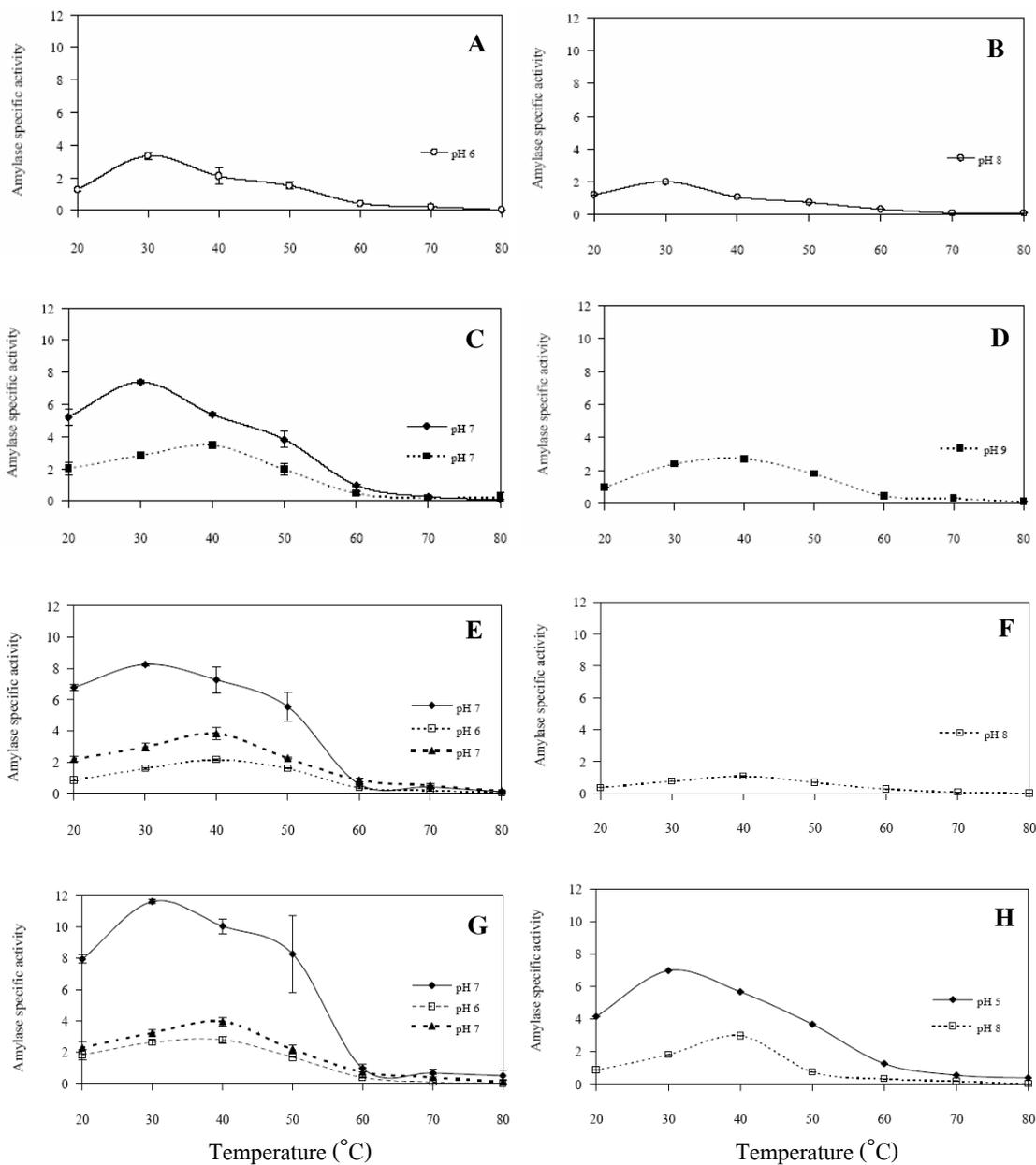
นิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซ ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ภาพที่ 6C และตารางที่ 1) ส่วนนิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิ กว้างจาก 20-50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6C และตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบค่ากิจกรรมจำเพาะของนิวทรัลอะไมเลสในอวัยวะทั้ง 2 ชนิด พบว่า เฮพาโตแพนแครีซมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงกว่ากระเพาะอาหารรวมลำไส้ประมาณ 2-2.5 เท่า ในช่วงอุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส นิวทรัลอะไมเลสในอวัยวะทั้ง 2 ชนิด มีค่ากิจกรรมจำเพาะอยู่ในระดับต่ำใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 6C) แอลคาไลน์อะไมเลสที่ pH 9 ในกระเพาะอาหารรวมลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6D) และมีกิจกรรมจำเพาะต่ำกว่านิวทรัลอะไมเลสที่พบในกระเพาะอาหารรวมลำไส้เล็กน้อยที่ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6C-6D)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

นิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิ กว้างจาก 20-50 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6E และตารางที่ 1) เอลิโดอะไมเลสและแอลคาไลน์อะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารมีค่า กิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6E-6F และตารางที่ 1) โดยที่แอลคาไลน์ อะไมเลสมีค่ากิจกรรมจำเพาะน้อยกว่าเอลิโดอะไมเลสประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6E-6F) และ นิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6E และตารางที่ 1) ที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากอวัยวะย่อยอาหาร ทั้ง 3 ชนิด มีค่ากิจกรรมจำเพาะใกล้เคียงกันและค่ากิจกรรมจำเพาะอยู่ในระดับต่ำ (ภาพที่ 6E)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

นิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิ กว้างจาก 20-50 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6G และตารางที่ 1) ส่วนเอลิโดอะไมเลสแสดงกิจกรรมได้ในช่วงกว้างอุณหภูมิ 20-60 องศา เซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6H) เอลิโดอะไมเลสที่สกัดจาก กระเพาะอาหารแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6G และ ตารางที่ 1) ส่วนแอลคาไลน์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6H) และนิวทรัลอะไมเลสที่สกัดจากลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศา เซลเซียส (ภาพที่ 6G และตารางที่ 1)



ภาพที่ 6 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาช่อนช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 6A-6B) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 6C-6D) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 6E-6F) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 6G-6H)

2.2 คุณลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากปลาช่อนช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 7A-7D และตารางที่ 1) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์มีทั้งเอสดี นิวทริล และแอลคาไลน์โปรตีนเอส ดังนี้

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์โปรตีนเอสมีทั้งเอสดีโปรตีนเอส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 นิวทริลโปรตีนเอส และแอลคาไลน์โปรตีนเอส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9 โดยแอลคาไลน์โปรตีนเอสมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุด เป็นโปรตีนหลักในระบบย่อยอาหารของปลาช่อนช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 7A และตารางที่ 1)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

เอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซ มีทั้งเอสดีโปรตีนเอสแสดงกิจกรรมที่ pH 6 และแอลคาไลน์โปรตีนเอส แสดงกิจกรรมที่ pH 9 และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 9 (ภาพที่ 7B และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้มีทั้งเอสดีโปรตีนเอส แสดงกิจกรรมที่ pH 6 และแอลคาไลน์โปรตีนเอส แสดงกิจกรรมที่ pH 9 โดยแอลคาไลน์โปรตีนเอสแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุด (ภาพที่ 7B) เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์แอลคาไลน์โปรตีนเอสที่ pH 9 ซึ่งแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในอวัยวะทั้ง 2 ชนิดพบว่าแอลคาไลน์โปรตีนเอสในเฮพาโตแพนแครีซ มีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงกว่าแอลคาไลน์โปรตีนเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้ประมาณ 2 เท่า (ภาพที่ 7B)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

เอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซมีทั้งเอสดีโปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 6 และแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 9 โดยแอลคาไลน์โปรตีนแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดเป็นโปรตีนหลักในเฮฟาโตแพนแครีซ (ภาพที่ 7C และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากกระเพาะอาหาร มีทั้งเอสดีโปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 4 และแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 8 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 4 โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงกว่าแอลคาไลน์โปรตีนประมาณ 2 เท่า (ภาพที่ 7C และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากลำไส้พบว่าเป็นแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 8 และ 10 โดยแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 10 (ภาพที่ 7C และตารางที่ 1)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซมีทั้งเอสดีโปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 6 และแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 9 และ 11 และแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 9 เป็นโปรตีนหลักในเฮฟาโตแพนแครีซ (ภาพที่ 7D และตารางที่ 1) เอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากกระเพาะอาหาร พบว่ามีทั้งเอสดีโปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 4 และแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 8 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 4 (ภาพที่ 7D และตารางที่ 1) และเอนไซม์โปรตีนที่สกัดจากลำไส้พบว่าเป็นแอลคาไลน์โปรตีนแสดงกิจกรรมที่ pH 8 และ 10 โดยแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 10 (ภาพที่ 7D และตารางที่ 1)

เนสประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8B และ 8C)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

แอลคาไลน์โปรตีนที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้าง ตั้งแต่ 20-60 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8D และตารางที่ 1) เอลิคโปรตีนประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8E) แอลคาไลน์โปรตีนที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียสเช่นกันประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8D และตารางที่ 1) ส่วนเอลิคโปรตีนแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6E)

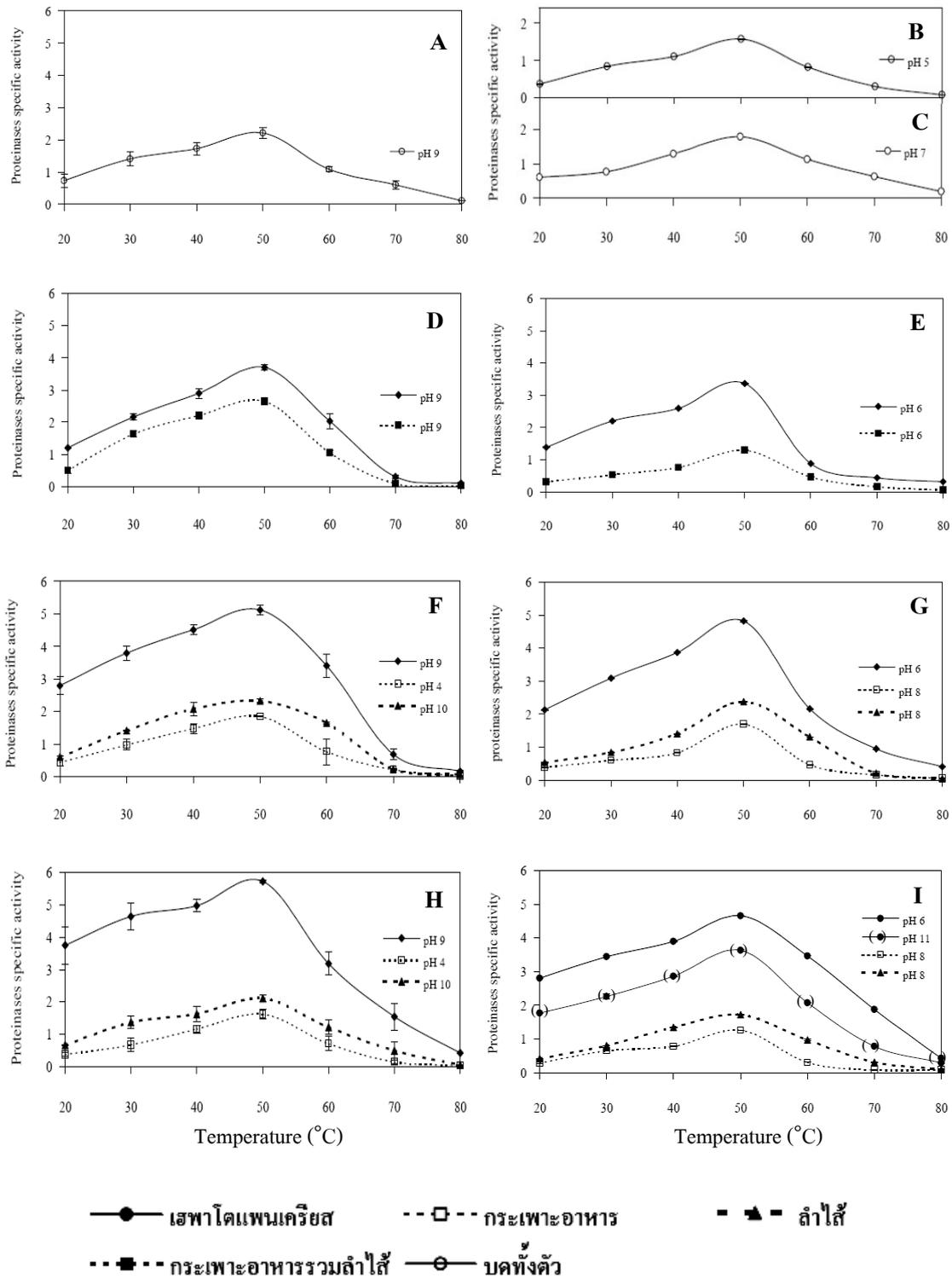
ขนาด 21-35 เซนติเมตร

แอลคาไลน์โปรตีนที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ 30 และ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8F และตารางที่ 1) ส่วนเอลิคโปรตีนแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-80 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8G) เอลิคโปรตีนที่สกัดจากกระเพาะอาหารประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8F และตารางที่ 1) ส่วนแอลคาไลน์โปรตีนประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8G) แอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 10 จากลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างเช่นกัน ตั้งแต่ 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8F และตารางที่ 1) ส่วนแอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 8 ประกอบด้วยอย่าง

น้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8G)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

แอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 9 จากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-70 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ 30 และ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8H และตารางที่ 1) เอลิดโปรตีนแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-80 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8I) แอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 11 แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงกว้างเช่นกัน อุณหภูมิ 20-70 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8I) ส่วนเอลิดโปรตีนที่สกัดจากกระเพาะอาหารประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8H และตารางที่ 1) แอลคาไลน์โปรตีนประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8I) แอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 10 จากลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างเช่นกัน ตั้งแต่ 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8H และตารางที่ 1) ส่วนแอลคาไลน์โปรตีนที่ pH 8 ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 8I)



ภาพที่ 8 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเนส (mU mg protein⁻¹) ที่สกัดจากปลาสาวยาวหนุช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 8A-8C) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 8D-8E) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 8F-8G) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 8H-8I)

2.3 คุณลักษณะของเอนไซม์ไลเปส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากปลาช่อนช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 9A-9D และตารางที่ 1) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์มีทั้งเอสดี นิวทริล และแอลคาไลน์ไลเปส

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์ไลเปสเป็นแอลคาไลน์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 8 (ภาพที่ 9A และตารางที่ 1)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

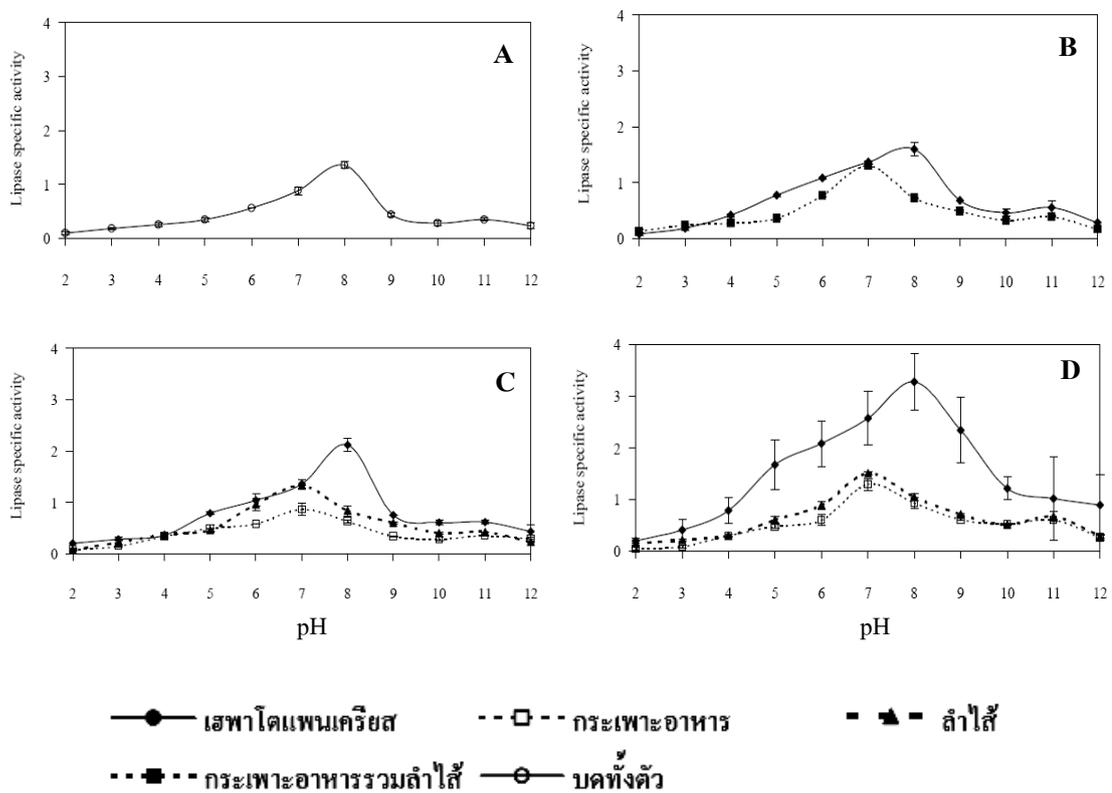
เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซเป็นแอลคาไลน์ไลเปส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 8 (ภาพที่ 9B และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้ เป็นนิวทริลแสดงกิจกรรมที่ pH 7 และแอลคาไลน์เปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 11 และนิวทริลไลเปสมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุด (ภาพที่ 9B และตารางที่ 1)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซเป็นแอลคาไลน์ไลเปส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 8 (ภาพที่ 9C และตารางที่ 1) เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้มีทั้งเอสดีไลเปส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 นิวทริล และแอลคาไลน์ไลเปส แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และ 11 ตามลำดับ และนิวทริลไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 (ภาพที่ 9C และตารางที่ 1)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซมีทั้งเอซิดไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 และแอลคาลีนไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 ตามลำดับ และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 8 (ภาพที่ 9D และตารางที่ 1) เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้มีทั้งเอซิดไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 นิวทรัลและแอลคาลีนไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และ 11 ตามลำดับ และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 (ภาพที่ 9D และตารางที่ 1)



ภาพที่ 9 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากปลาสาวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 9A) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 9B) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 9C) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 9D)

เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากปลาช่อนช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal pH ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10A-10J และตารางที่ 1) ได้ผลดังนี้

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์แอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 8 สามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียสและมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10A และตารางที่ 1) ส่วนแอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 11 แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10B)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

แอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 8 จากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้าง ตั้งแต่ 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10C และตารางที่ 1) และแอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 11 ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10D) ส่วนนิวทรัลไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมถ้าได้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้าง 20-60 องศาเซลเซียส เช่นกัน และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10C และตารางที่ 1) และแอลคาไลน์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่มีค่าต่ำกว่านิวทรัลไลเปสประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 10D)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

แอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 8 จากเฮฟาโตแพนแครีซแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิ กว้าง ตั้งแต่ 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10E และตารางที่ 1) เอสดีไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงกว้างอุณหภูมิ 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และ

แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10F) และแอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 11 แสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงอุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10G) นิวทรัลไลเปสจากกระเพาะอาหารและลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียส เช่นกัน ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10E และตารางที่ 1) ส่วนเอซิดและแอลคาไลน์ไลเปสจากกระเพาะอาหารและลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงกว้างเช่นกัน อุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10F และ 10G)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

แอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 8 จากเฮฟาโตแพนكريยัสแสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มและมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10H และตารางที่ 1) เอซิดไลเปสประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10D) และแอลคาไลน์ไลเปสที่ pH 11 ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10J) นิวทรัลไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะในช่วงอุณหภูมิกว้าง 20-60 องศาเซลเซียส เช่นกัน ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10H และตารางที่ 1) ส่วนเอซิดและแอลคาไลน์ไลเปสประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10I และ 10J)

2.4 คุณลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากปลาชวยหนูช่วงขนาดต่างๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 11A-11D และตารางที่ 1) พบว่ารูปแบบของเอนไซม์มีทั้งเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดและเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่าง ดังนี้

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์เซลลูเลสมีทั้งเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดและเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่าง โดยเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 และเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่างแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9 (ภาพที่ 11A และตารางที่ 1)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

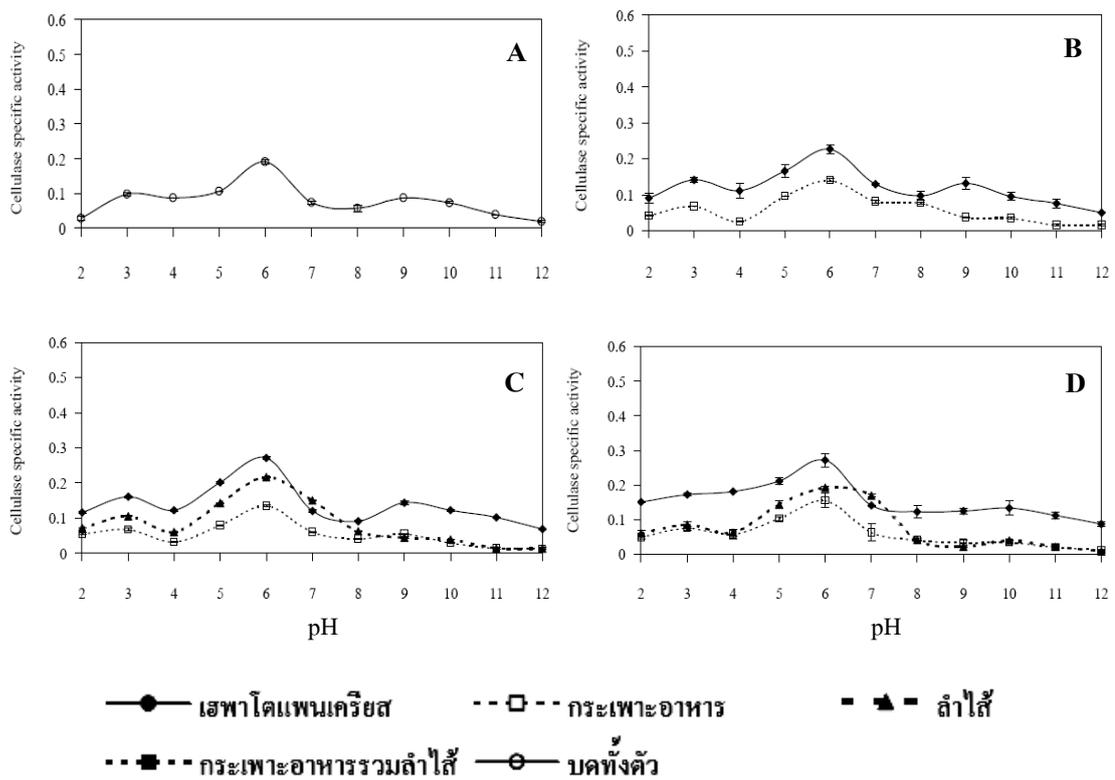
เอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนเคเรียสมีทั้งเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดและเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่าง โดยเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 และเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่างแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9 (ภาพที่ 11B และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดและเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่าง โดยเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 และเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่างแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 (ภาพที่ 11B และตารางที่ 1)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

เอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนเคเรียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ มีทั้งเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดและเอนไซม์ที่ขึ้นกับด่าง โดยเอนไซม์ที่ขึ้นกับกรดแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 (ภาพที่ 11C และตารางที่ 1)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากเหपाโตแพนเคเรียส กระจพะอาหาร และลำไส้ของปลา สวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร เป็นเอนิโคอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำพะะที่ pH 3 และ 6 โดยแสดงกิจกรรมสูงสุคที่ pH 6 (ภาพที่ 11D และตารางที่ 1)



ภาพที่ 11 ค่ากิจกรรมจำพะะของเอนไซม์เซลลูเลส (mU mg protein⁻¹) ที่สกัดจากปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 11A) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 11B) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 11C) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 11D)

เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากปลาช้วยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal pH ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 20-80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12A-12K และตารางที่ 1) ได้ผลดังนี้

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เอนไซม์และแอลคาไลน์เซลลูเลสมีรูปแบบของเอนไซม์คล้ายกันคือ ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม โดยเอนไซม์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12A และ 12B) และแอลคาไลน์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12C) แต่ทั้งเอนไซม์และแอลคาไลน์เซลลูเลสสามารถแสดงกิจกรรมได้ในช่วงกว้างจาก 30-60 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12A-12C และตารางที่ 1)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

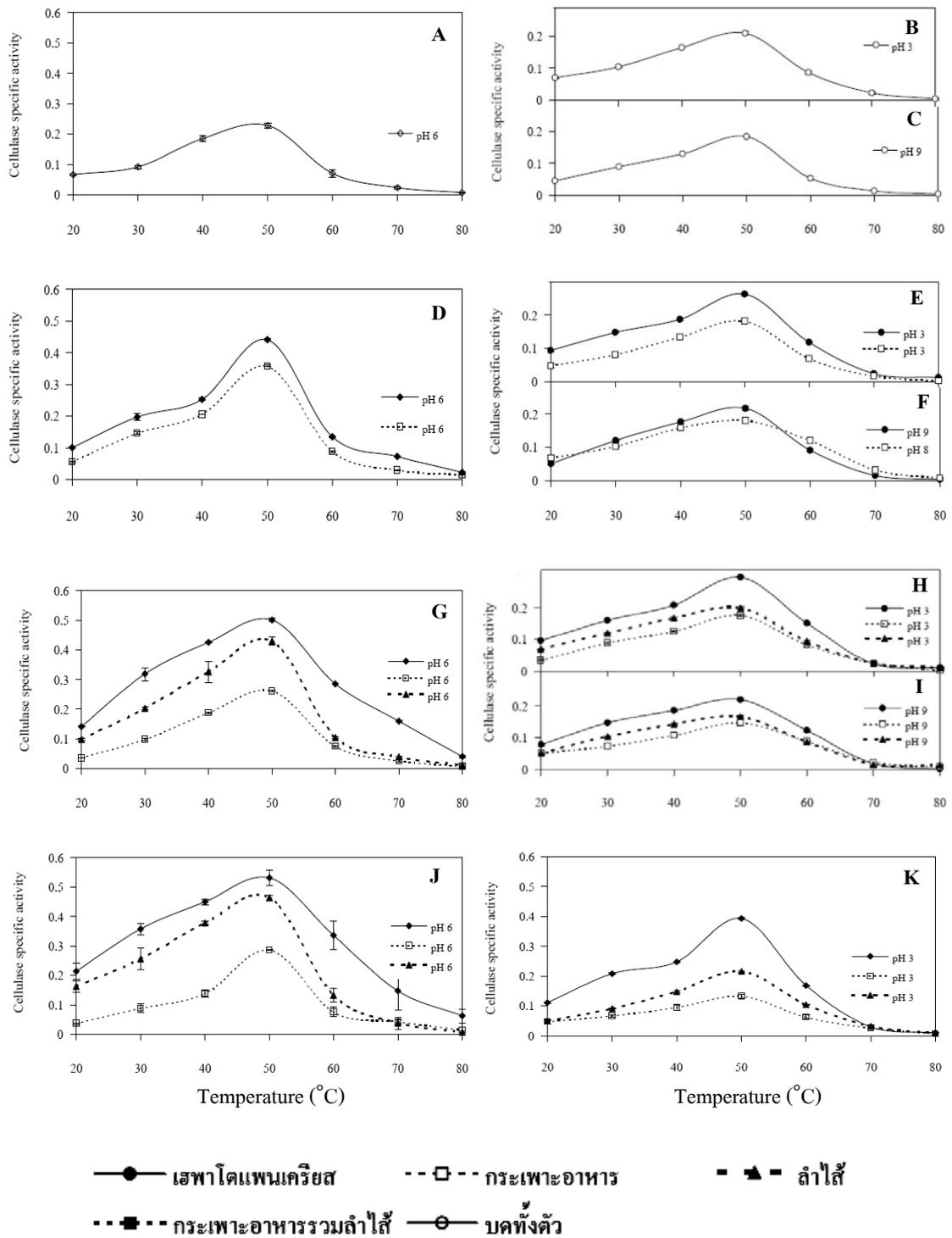
เอนไซม์เซลลูเลสที่ pH 6 จากเฮฟาโตเพนเคเรียสสามารถแสดงกิจกรรมได้ในช่วงกว้างอุณหภูมิจาก 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12D และตารางที่ 1) เอนไซม์เซลลูเลสที่ pH 3 และแอลคาไลน์เซลลูเลสที่ pH 9 สามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียสเช่นกัน ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12E และ 12F) ส่วนเอนไซม์เซลลูเลสที่ pH 6 จากกระเพาะอาหารรวมลำไส้สามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียสเช่นกัน ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12D และตารางที่ 1) ส่วนเอนไซม์เซลลูเลสที่ pH 3 และแอลคาไลน์เซลลูเลสที่ pH 8 แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12E และ 12F)

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

เอนไซม์เอลิตเซลลูเลสที่ pH 6 จากเฮฟาโตแพนเคเรียสสามารถแสดงกิจกรรมได้ใน ช่วงกว้างอุณหภูมิ 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะ ที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12G และตารางที่ 1) เอลิตเซลลูเลสที่ pH 3 และ แอลคาไลน์เซลลูเลสที่ pH 9 สามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างเช่นกันจาก 20-60 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12H และ 12I) ส่วนเอลิตเซลลูเลสที่ pH 6 จากกระเพาะอาหารและลำไส้สามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะ ได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-60 องศาเซลเซียสเช่นกัน ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12G และตารางที่ 1) ส่วนเอลิตเซลลูเลสที่ pH 3 และแอลคาไลน์ เซลลูเลสที่ pH 9 ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12H และ 12I)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เอลิตเซลลูเลสที่ pH 6 จากเฮฟาโตแพนเคเรียสสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ตลอด ช่วงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12J และตารางที่ 1) เอลิตเซลลูเลสที่ pH 3 ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดง กิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12K) เอลิตเซลลูเลสที่ pH 6 จากกระเพาะอาหารและลำไส้แสดงกิจกรรม จำเพาะได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างจาก 20-70 องศาเซลเซียส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12J และตารางที่ 1) ส่วนเอลิตเซลลูเลสที่ pH 3 ประกอบด้วย อย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดง กิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12K)

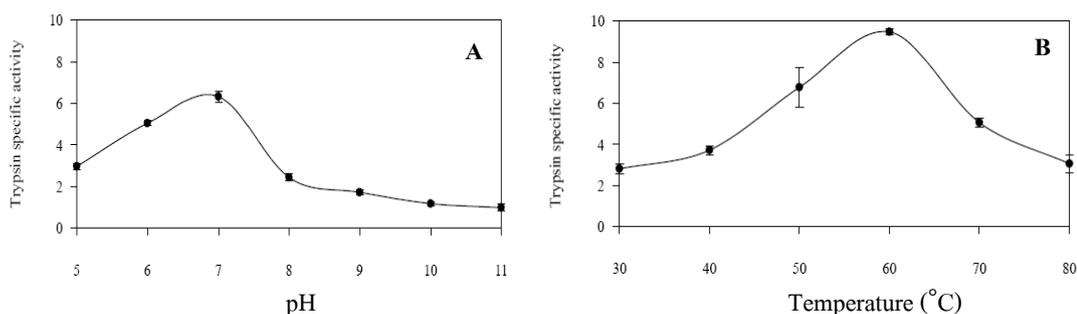


ภาพที่ 12 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส (mU mg protein⁻¹) ที่สกัดจากปลาชวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ optimal pH ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 12A-12C) ขนาด 5-20 เซนติเมตร (ภาพที่ 12D-12F) ขนาด 21-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 12G-12I) และขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร (ภาพที่ 12J-12K)

2.5 คุณลักษณะของเอนไซม์ทริปซิน

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตรในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 5-11 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 13A และตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7

เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตรสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 (ภาพที่ 13B และตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ตลอดช่วงอุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

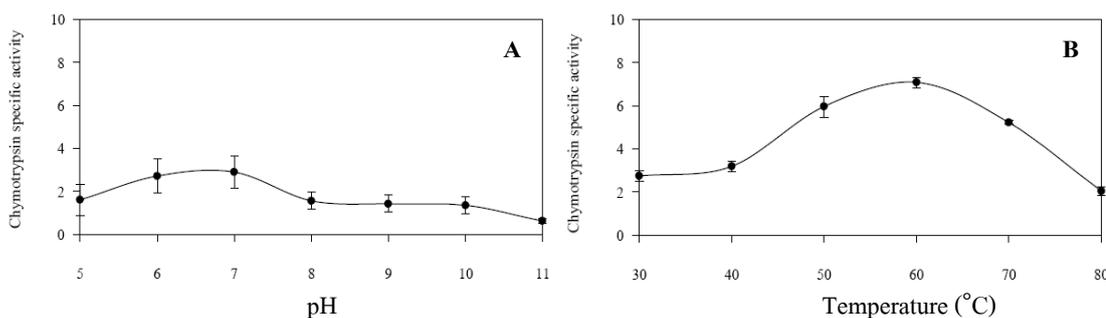


ภาพที่ 13 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซิน ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ pH 7 (B)

2.6 คุณลักษณะของเอนไซม์ไคโมทริปซิน

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไคโมทริปซินที่สกัดจากเฮฟาโตแพนเคลียสของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตรในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ตั้งแต่ 5-11 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 14A และตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ไคโมทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และ 10 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7

เมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซินที่สกัดจากเฮฟาโตแพนเคลียสของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตรสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ตั้งแต่ 30-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 (ภาพที่ 14B และตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ไคโมทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ตลอดช่วงอุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 14 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไคโมทริปซิน ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ที่สกัดจากเฮฟาโตแพนเคลียสปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ pH 7 (B)

สภาวะที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารแต่ละชนิดที่สกัดจากปลาสาวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ สรุปไว้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากปลาสาวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ

ชนิดเอนไซม์	ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	Optimum pH	Optimum temperature (°C)
อะไมเลส	< 5	บดทั้งตัว	6, 8	30, 50
		HP	7	30, 50
	5-20	S+I	7, 9	40
		HP	7	30, 50, 70
		S	6, 8	40
	>35	I	7	40
		HP	5, 7	30, 50, 70
		S	6, 8	30-40
		I	7	40
โปรตีนเอส	<5	บดทั้งตัว	5, 7, 9	30, 50, 70
		HP	6, 9	50
	5-20	S+I	6, 9	30, 50
		HP	6, 9	30, 50
		S	4, 8	30, 50, 60
	> 35	I	8, 10	30, 50
		HP	6, 9, 11	30, 50
		S	4, 8	30, 50, 70
		I	8, 10	30, 50

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดเอนไซม์	ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	Optimum pH	Optimum temperature (°C)
ไลเปส	< 5	บดทั้งตัว	8 , 11	50 , 70
		HP	8 , 11	30 , 50 , 70
	5-20	S+I	7 , 11	50
		HP	8 , 11	30 , 50
		S	5 , 7 , 11	30 , 50
	>35	I	5 , 7 , 11	30 , 50
		HP	5 , 8 , 11	30 , 50 , 70
		S	5 , 7 , 11	30 , 50 , 70
		I	5 , 7 , 11	30 , 50 , 70
เซลลูเลส	<5	บดทั้งตัว	3 , 6 , 9	30 , 40 , 50
		HP	3 , 6 , 9	30 , 50 , 70
	5-20	S+I	3 , 6 , 8	30 , 50
		HP	3 , 6 , 9	30 , 50 , 70
		S	3 , 6 , 9	30 , 50
	> 35	I	3 , 6 , 9	30 , 50
		HP	3 , 6	30 , 50
		S	3 , 6	30 , 50
		I	3 , 6	30 , 50 , 70
ทริปซิน	>35	HP	7	60
โคโมทริปซิน	>35	HP	7	60

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนเคเรียส

S คือ ภาวะอาหาร

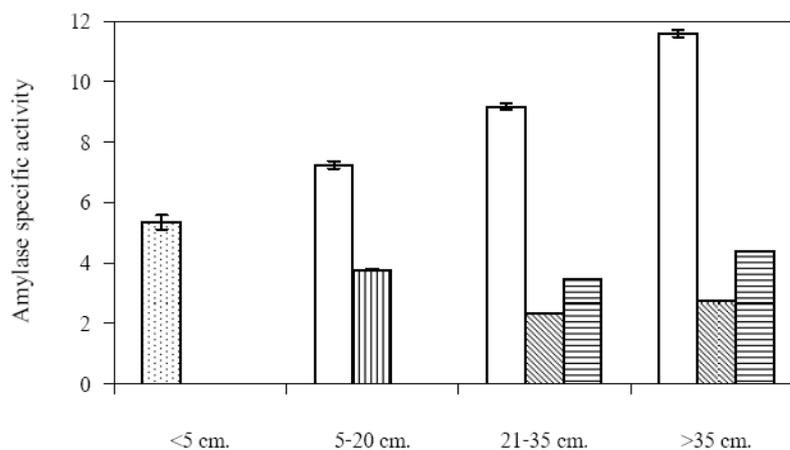
I คือ ลำไส้

S+I คือ ภาวะอาหารรวมลำไส้

2.7 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากปลาชวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ

2.7.1 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสของปลาชวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์อะไมเลสในปลาชวยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะต่ำที่สุด และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น คือ ขนาดน้อยกว่า 5, 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 5.34 ± 0.23 (บดทั้งตัว) 7.27 ± 0.12 , 9.17 ± 0.12 และ 11.59 ± 0.11 (เฮฟาโตแพนแครีส) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับในกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสเพิ่มขึ้นตามขนาดปลา คือ ขนาด 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 2.33 ± 0.03 , 2.75 ± 0.01 (กระเพาะอาหาร) 3.46 ± 0.06 , 4.40 ± 0.03 (ลำไส้) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ (ภาพที่ 15)

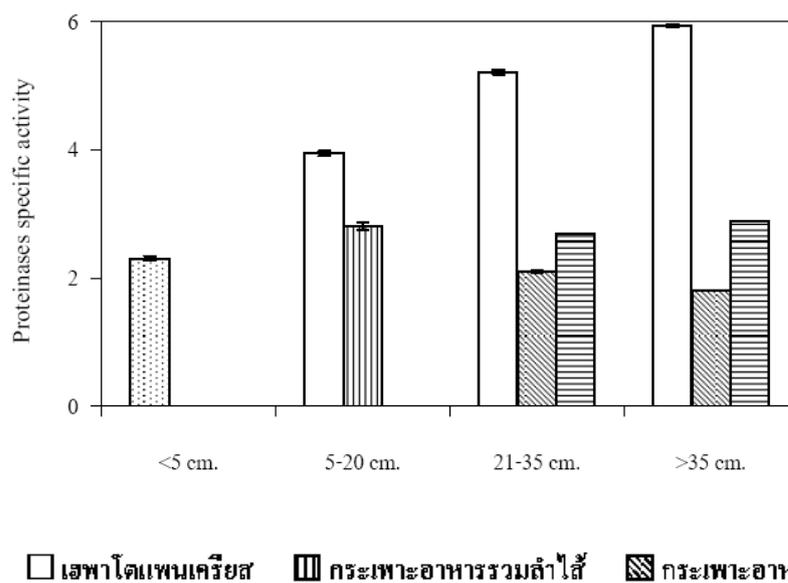


บดทั้งตัว
 เฮฟาโตแพนแครีส
 กระเพาะอาหารรวมลำไส้
 กระเพาะอาหาร
 ลำไส้

ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลาชวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition

2.7.2 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอส

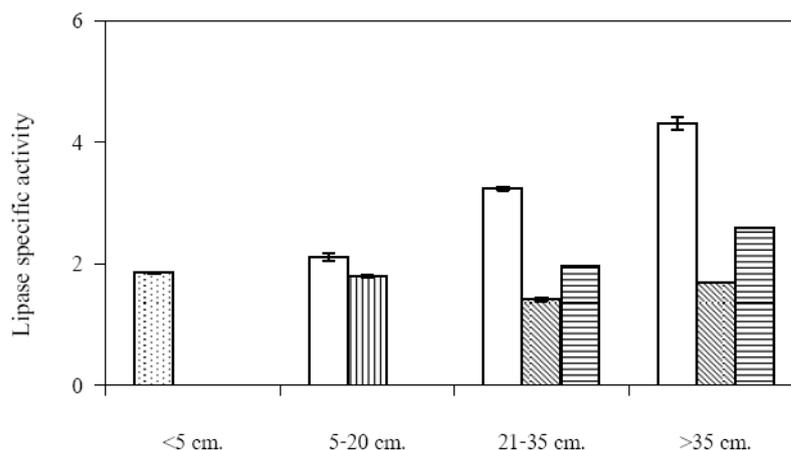
เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอสของปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสในปลา สวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะต่ำที่สุด และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงขึ้น เมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น คือ ขนาดน้อยกว่า 5, 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรม จำเพาะ 2.31 ± 0.03 (บดทั้งตัว) 3.95 ± 0.04 , 5.21 ± 0.04 และ 5.93 ± 0.03 (เฮฟาโตแพนแครีเอส) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับในกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ โปรตีนเอสเพิ่มขึ้นตามขนาดปลา คือ ขนาด 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 1.80 ± 0.03 , 2.1 ± 0.06 (กระเพาะอาหาร) 2.68 ± 0.04 , 2.90 ± 0.04 (ลำไส้) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ (ภาพ ที่ 16)



ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition

2.7.3 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสของปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ไลเปสในปลา สวายหนู ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะต่ำที่สุด และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงขึ้นเมื่อ ปลาเจริญเติบโตขึ้น คือ ขนาดน้อยกว่า 5, 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรม จำเพาะ 1.85 ± 0.02 (บดทั้งตัว) 2.11 ± 0.06 , 3.24 ± 0.03 และ 4.31 ± 0.10 (เฮฟาโตแพนแครีเอส) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับในกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ไลเปสเพิ่มขึ้นตามขนาดปลา คือ ขนาด 20-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 1.41 ± 0.02 , 1.69 ± 0.03 (กระเพาะอาหาร) 1.98 ± 0.02 , 2.58 ± 0.26 (ลำไส้) $\text{mU mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ (ภาพที่ 17)

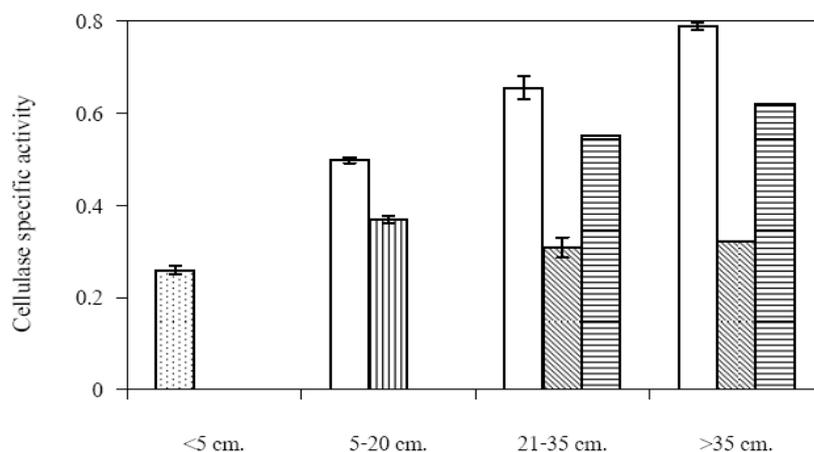


บดทั้งตัว
 เฮฟาโตแพนแครีเอส
 กระเพาะอาหารรวมลำไส้
 กระเพาะอาหาร
 ลำไส้

ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส ($\text{mU mg protein}^{-1}$) ของปลา สวายหนู ช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition

2.7.4 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสของปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสในปลา สวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะต่ำที่สุด และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงขึ้นเมื่อ ปลาเจริญเติบโตขึ้น คือ ขนาด 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 0.26 ± 0.01 , 0.50 ± 0.01 , 0.66 ± 0.03 และ 0.79 ± 0.01 mU mg protein⁻¹ ตามลำดับ เช่นเดียวกับในกระเพาะ อาหารและลำไส้ พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มขึ้นตามขนาดปลา คือ ขนาด 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร ใกล้เคียงกับเอนไซม์เซลลูเลสในกระเพาะอาหารรวมลำไส้ของ ปลาขนาด 5-20 เซนติเมตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะ 0.31 ± 0.01 , 0.32 ± 0.02 , 0.55 ± 0.02 , 0.62 ± 0.01 และ 0.37 ± 0.02 ตามลำดับ (ภาพที่ 18)



บดทั้งตัว
 เฮพาโตแพนกรีซ
 กระเพาะอาหารรวมลำไส้
 กระเพาะอาหาร
 ลำไส้

ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส (mU mg protein⁻¹) ของปลา สวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition

2.7.5 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและไลโมทริปซิน

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและไลโมทริปซินของปลาสร้อยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่าเอนไซม์ทริปซินและไลโมทริปซินในปลาสร้อยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะต่ำที่สุด และมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น คือ ขนาดน้อยกว่า 5, 5-20, 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ตรงข้ามกับค่า T/C ratio พบว่าปลาสร้อยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร มีค่า T/C ratio สูงที่สุด รองลงมา คือ ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร, 5-20 และ 20-35 เซนติเมตร มีค่า 4.27, 1.56, 1.30 และ 1.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและไลโมทริปซินจากปลาสร้อยหนูช่วงขนาดต่างๆ ที่ pH 7 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	กิจกรรมจำเพาะ (mU mg protein ⁻¹)		T/C ratio
		เอนไซม์ทริปซิน	เอนไซม์ไลโมทริปซิน	
< 5	บดทั้งตัว	0.94	0.22	4.27
5-20	HP	4.69	3.61	1.30
	S+I	2.97	1.50	1.98
21-35	HP	6.50	5.78	1.12
	S	1.35	1.08	1.25
	I	4.33	4.06	1.07
>35	HP	9.48	6.08	1.56
	S	2.17	1.35	1.61
	I	4.69	3.61	1.36

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนแครีซ

S คือ ภาวะอาหาร

I คือ ลำไส้

S+I คือ ภาวะอาหารรวมลำไส้

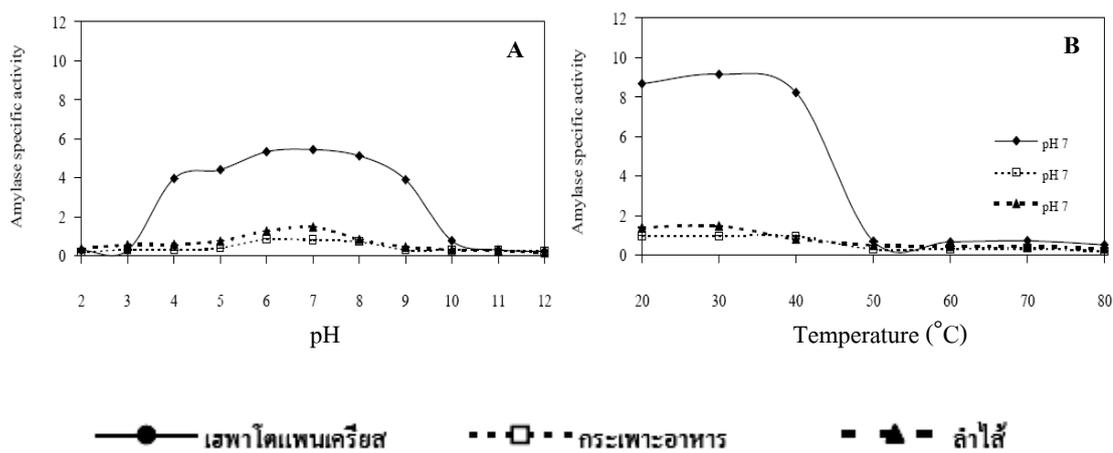
โดยสรุป การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารแต่ละชนิดของปลาสรวย หนุช่วงขนาดต่าง ๆ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ ปลาสรวยหนุช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์แต่ละชนิดต่ำที่สุด แต่เมื่อปลามีการเจริญเติบโตขึ้น พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์แต่ละชนิดมีค่าสูงขึ้นตามปริมาณอาหารที่กินเพิ่มขึ้น โดยแสดงค่ากิจกรรมจำเพาะสูงสุดในปลาสรวยหนุช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

2.8. การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหาร

2.8.1 การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลส

จากการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 19A) พบว่าเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนครีเอตมีความคงตัวในช่วง pH 4-9 เอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากกระเพาะอาหารและลำไส้มีความคงตัวในช่วง pH 6-8

เมื่อศึกษาความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลสต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 นาน 30 นาที (ภาพที่ 19B) พบว่าเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากเฮพาโตแพนครีเอต กระเพาะอาหารและลำไส้ มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส

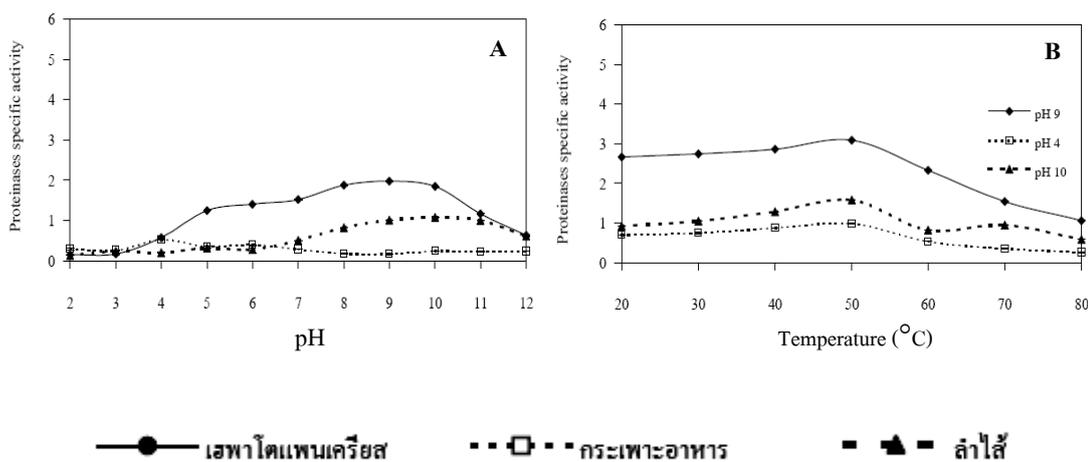


ภาพที่ 19 ความคงตัวของเอนไซม์อะไมเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และ ความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 (B)

2.8.2 การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอส

จากการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 20A) พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากเหपाโตแพนเคเรียสมีความคงตัวในช่วง pH 5-11 เอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหารมีความคงตัวในช่วง pH 4-6 และเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากลำไส้มีความคงตัวในช่วง pH 7-11

เมื่อศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 9 (เหพาโตแพนเคเรียส) pH 4 (กระเพาะอาหาร) และ pH 10 (ลำไส้) นาน 30 นาที (ภาพที่ 20B) พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากเหพาโตแพนเคเรียส กระเพาะอาหารและลำไส้ มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส

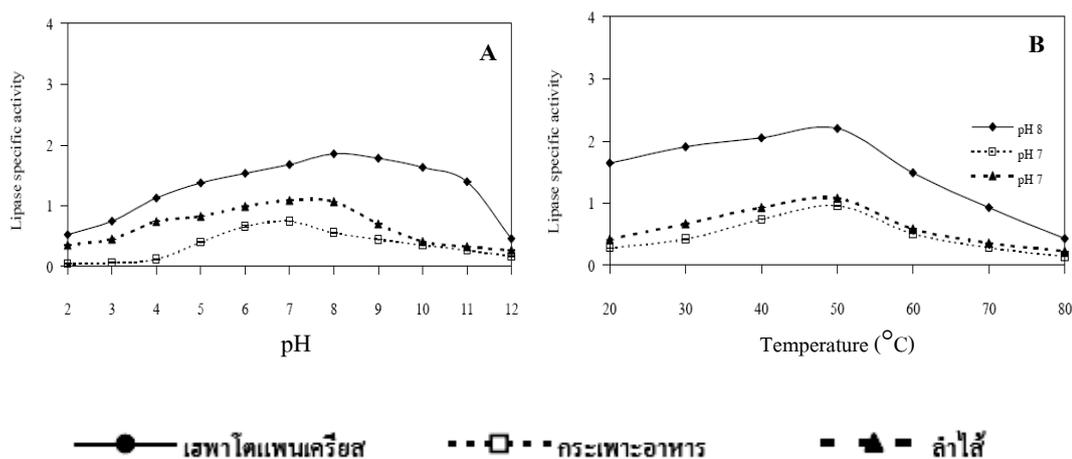


ภาพที่ 20 ความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และ ความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 4, 9 และ 10 (B)

2.8.3 การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ไลเปส

จากการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ไลเปสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 21A) พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซิสมีความคงตัวในช่วง pH 4-11 เอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหารมีความคงตัวในช่วง pH 5-9 และเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากลำไส้มีความคงตัวในช่วง pH 4-9

เมื่อศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ไลเปสต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 8 (เฮฟาโตแพนแครีซิส) และ pH 7 (กระเพาะอาหารและลำไส้) นาน 30 นาที (ภาพที่ 21B) พบว่าเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซิส กระเพาะอาหารและลำไส้ มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส

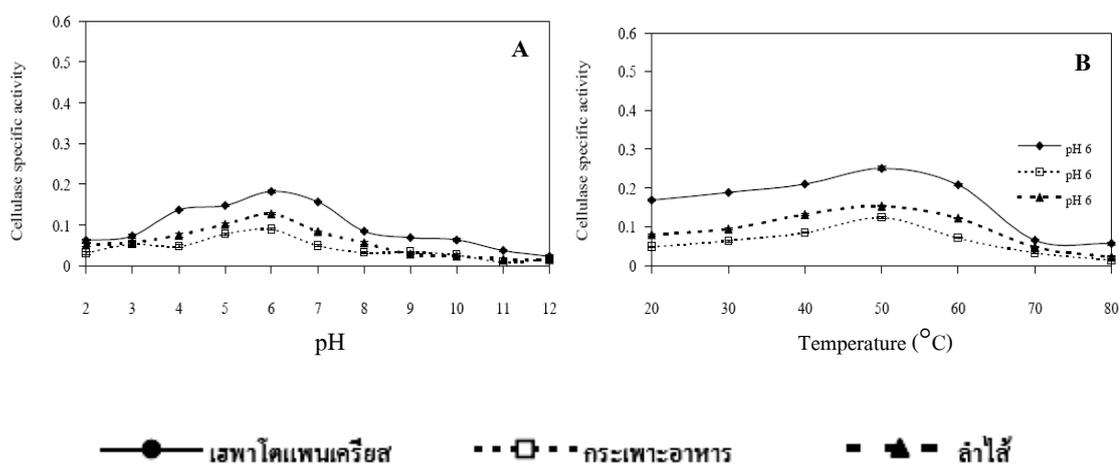


ภาพที่ 21 ความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และ ความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 7 และ 8 (B)

2.8.4 การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (ภาพที่ 22A) พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากเหपाโตแพนเคเรียส กระเพาะอาหาร และลำไส้มีความคงตัวในช่วง pH 4-7

เมื่อศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลสต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 นาน 30 นาที (ภาพที่ 22B) พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากเหพาโตแพนเคเรียส กระเพาะอาหาร และลำไส้ มีความคงตัวในช่วงอุณหภูมิ 20-60 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 ความคงตัวของเอนไซม์เซลลูเลสต่อ pH 2-12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (A) และความคงตัวต่ออุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 (B)

3. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดที่พบในท้องทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลา สวายหนูระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro digestibility* ดัดแปลงจากวิธีการของ **Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2000)**

ขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสพบว่าย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป2 อาหารปลาสำเร็จรูป1 และอาหารกึ่งก้ามกรามระยะวัยอ่อน ตามลำดับ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรติเนสพบว่าย่อย เนื้อหอย *Corbicula* sp. ได้ดีที่สุดใน รองลงมาคือ โปรตีนข้าวสาลี โปรตีนข้าวโพด เปลือกกุ้งป่น และกากถั่วลิสง ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 3)

ขนาด 5-20 เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากเฮฟาโตแพนแครีสพบว่าย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป1 อาหารปลาสำเร็จรูป2 และข้าวโพด ตามลำดับ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรติเนสพบว่าย่อย โปรตีนข้าวสาลี ได้ดีที่สุดใน รองลงมาคือ เปลือกกุ้งป่น โปรตีนข้าวโพด เนื้อหอย *Corbicula* sp. และกากถั่วลิสง ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 4) ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากกระเพาะอาหารรวมลำไส้ พบว่าย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารกึ่งก้ามกรามระยะวัยอ่อน อาหารปลาสำเร็จรูป1 และ Red balloon และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรติเนสพบว่าเนื้อหอย *Corbicula* sp. ได้ดีที่สุดใน รองลงมา คือ เปลือกกุ้งป่น โปรตีนข้าวโพด โปรตีนข้าวสาลี และกากถั่วลิสง ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และตารางผนวกที่ 4)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาช้วยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 และ 5-20 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของ เอนไซม์โปรตีนเอส		ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต ของเอนไซม์อะไมเลส	
		ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol DL-alanine}/$ $\text{mg substrate (x10}^{-3}\text{)}$	ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol maltose}/$ $\text{mg substrate(x10}^{-3}\text{)}$
< 5	บดทั้งตัว	เนื้อหอย	484.48±1.09 ^l	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	66.54±2.23 ^m
		โปรตีนข้าวสาลี	414.39±0.44 ^k	เนื้อหอย	40.28±0.53 ^{bc}
		โปรตีนข้าวโพด	313.64±0.87 ⁱ	อาหารปลา 2	20.33±1.38 ^l
		เปลือกกุ้งป่น	276.82±0.22 ^h	อาหารปลา 1	18.53±0.32 ^k
		กากถั่วลิสง	253.25±0.00 ^e	อาหารกุ้งเล็ก	12.75±0.21 ^{cd}
5-20	HP	โปรตีนข้าวสาลี	556.42±4.36 ^l	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	142.97±0.64 ^l
		เปลือกกุ้งป่น	545.63±1.31 ^k	เนื้อหอย	63.46±0.21 ^k
		โปรตีนข้าวโพด	509.90±2.18 ⁱ	อาหารปลา 1	56.78±0.74 ^{dc}
		เนื้อหอย	502.66±0.65 ^{ji}	อาหารปลา 2	23.10±0.42 ^j
		กากถั่วลิสง	496.65±1.74 ⁱ	ข้าวโพด	22.73±1.38 ^b
	S+I	เนื้อหอย	565.35±41.39 ^f	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	86.79±0.11 ^m
		เปลือกกุ้งป่น	545.94±1.74 ^q	เนื้อหอย	42.83±1.59 ^c
		โปรตีนข้าวโพด	450.28±0.22 ^l	อาหารกุ้งเล็ก	31.05±0.21 ^l
		โปรตีนข้าวสาลี	447.97±0.87 ^p	อาหารปลา 1	22.28±0.32 ^k
		กากถั่วลิสง	322.42±1.52 ^m	Red balloon	20.18±0.95 ^c

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนแครีซ

S+I คือ กระเพาะอาหารรวมลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่ 1

ขนาด 21-35 เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากเฮฟาโตแพนแครีสพบว่าย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ อาหารปลาสำเร็จรูป1 อาหารปลาสำเร็จรูป2 ข้าวโพด และ เนื้อหอย *Corbicula* sp. ตามลำดับ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอสพบว่าย่อย โปรตีนข้าวสาลี ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เปลือกกุ้งปน เนื้อหอย *Corbicula* sp. กากถั่วเหลือง และโปรตีนข้าวโพด ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 5) ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากกระเพาะอาหารย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. ข้าวโพด อาหารปลาสำเร็จรูป1 และ อาหารปลาสำเร็จรูป2 และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอสพบว่าย่อยเปลือกกุ้งปน ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ โปรตีนข้าวสาลี เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารกุ้งเล็ก และปลาปน1 ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 5) ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากลำไส้ย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป1 ข้าวโพด และ อาหารปลาสำเร็จรูป2 และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอสพบว่าย่อยโปรตีนข้าวสาลี ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. เปลือกกุ้งปน กากถั่วลิสง และอาหารกุ้งก้ามกรามระยะวัยอ่อน ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 5)

ขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากเฮฟาโตแพนแครีสพบว่าย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ อาหารปลาสำเร็จรูป1 เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป2 และอาหารกุ้งก้ามกรามระยะตัวเต็มวัย ตามลำดับ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอสพบว่าย่อย เปลือกกุ้งปน ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โปรตีนข้าวสาลี เนื้อหอย *Corbicula* sp. โปรตีนข้าวโพด และอาหารปลาสำเร็จรูป1 ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และตารางผนวกที่ 6) ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากกระเพาะอาหารย่อยปลายข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป1 อาหารกุ้งก้ามกรามระยะตัวเต็มวัย และข้าวโพด ตามลำดับ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอสพบว่าย่อยเนื้อหอย *Corbicula* sp. ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เปลือกกุ้งปน โปรตีนข้าวสาลี อาหารกุ้งก้ามกรามระยะวัยอ่อน และปลาปน3 ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และตารางผนวกที่ 6) ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลสจากลำไส้ย่อยปลาย

ข้าวเจ้าหนึ่งได้ดีที่สุด รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. อาหารปลาสำเร็จรูป1 อาหารกุ้งก้ามกราม ระยะตัวเต็มวัย และ ข้าวโพด ตามลำดับประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนสพบว่า ย่อยโปรตีนข้าวสาลี ได้ดีที่สุดใน รองลงมา คือ เนื้อหอย *Corbicula* sp. เปลือกกุ้งปน กากถั่วลิสง และ ปลาป่น3 ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และตารางผนวกที่ 6)

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสาวยาวหูช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะ	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของ เอนไซม์โปรตีนเนส		ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต ของเอนไซม์อะไมเลส	
		ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol DL-alanine}/$ $\text{mg substrate (x10}^{-3}\text{)}$	ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol maltose}/$ $\text{mg substrate(x10}^{-3}\text{)}$
21-35	HP	โปรตีนข้าวสาลี	1382.55±25.52 ^{gh}	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	207.63±1.70 ⁿ
		เปลือกกุ้งปน	1302.42±6.29 ^{gh}	อาหารปลา1	96.47±1.91 ^m
		เนื้อหอย	1249.86±26.95 ^{ge}	อาหารปลา2	82.96±0.64 ^l
		กากถั่วเหลือง	1023.69±43.57 ^c	ข้าวโพด	81.31±2.12 ^l
		โปรตีนข้าวโพด	984.02±40.88 ^c	เนื้อหอย	80.26±1.06 ^l
	S	เปลือกกุ้งปน	439.96±5.26 ^o	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	137.05±1.59 ⁿ
		โปรตีนข้าวสาลี	367.56±2.18 ⁿ	เนื้อหอย	83.97±0.54 ^m
		เนื้อหอย	361.55±7.19 ⁿ	ข้าวโพด	73.78±0.01 ^k
		อาหารกุ้งเล็ก	221.06±1.52 ^l	อาหารปลา1	65.34±0.32 ^b
		ปลาป่น1	140.34±9.37 ⁱ	อาหารปลา2	45.53±0.32 ^j
	I	โปรตีนข้าวสาลี	975.58±1.96 ^p	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	198.56±0.53 ^l
		เนื้อหอย	640.99±4.14 ⁿ	เนื้อหอย	122.12±0.42 ^r
		เปลือกกุ้งปน	565.51±9.80 ^m	อาหารปลา1	100.10±0.37 ^q
		กากถั่วลิสง	380.96±1.09 ^k	ข้าวโพด	75.54±0.32 ⁱ
		อาหารกุ้งเล็ก	289.15±3027 ⁱ	อาหารปลา2	64.81±0.85 ^p

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนเครียส S คือ กระเพาะอาหาร I คือ ลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาช้วยหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะ	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของ เอนไซม์โปรติเนส		ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต ของเอนไซม์อะไมเลส	
		ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol DL-alanine}/$ $\text{mg substrate (x10}^{-3}\text{)}$	ชนิดอาหาร*	$\mu\text{mol maltose}/$ $\text{mg substrate(x10}^{-3}\text{)}$
> 35	HP	เปลือกกุ้งป่น	1427.40±229.76 ^{efg}	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	327.16±2.39 ^j
		โปรตีนข้าวสาลี	1424.70±208.20 ^{efg}	อาหารปลา1	188.66±69.70 ⁱ
		เนื้อหอย	1417.41±198.32 ^{efg}	เนื้อหอย	139.22±7.21 ^h
		โปรตีนข้าวโพด	1281.48±6.06 ^{def}	อาหารกุ้งโต	93.39±3.71 ^{fg}
		อาหารปลา1	1240.79±14.60 ^{def}	อาหารปลา2	88.63±3.77 ^{fg}
	S	เนื้อหอย	570.13±6.75 ⁿ	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	316.33±2.02 ⁿ
		เปลือกกุ้งป่น	569.05±1.31 ⁿ	เนื้อหอย	155.45±2.40 ^m
		โปรตีนข้าวสาลี	471.08±3.05 ^m	ข้าวโพด	118.58±3.69 ^j
		อาหารกุ้งเล็ก	236.31±1.74 ^j	รำละเอียด	93.22±0.56 ^f
		ปลาป่น3	229.07±1.96 ^{ji}	อาหารปลา1	81.75±0.09 ^l
	I	โปรตีนข้าวสาลี	1226.83±11.33 ^p	ปลายข้าวเจ้าหนึ่ง	294.19±41.86 ⁱ
		เนื้อหอย	1060.15±0.00 ^o	เนื้อหอย	156.74±15.77 ^h
		เปลือกกุ้งป่น	785.18±9.80 ^m	อาหารปลา1	111.96±6.38 ^e
		กากถั่วลิสง	627.43±0.65 ^l	อาหารกุ้งโต	90.13±1.44 ^f
		ปลาป่น3	490.02±14.16 ⁱ	ข้าวโพด	80.49±3.05 ^b

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนเกรียส

S คือ กระเพาะอาหาร

I คือ ลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

4. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสายพันธุ์

ผลจากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารสามารถแบ่งตัวอย่างอาหารออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่มีโปรตีนสูง
2. กลุ่มที่มีโปรตีนต่ำหรือประเภทคาร์โบไฮเดรต
3. กลุ่มที่มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตใกล้เคียงกัน

กลุ่มที่ 1 มีโปรตีนสูงประมาณ 40-60% แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ โปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น1 ปลาป่น2 ปลาป่น3 ไก่ป่น เปลือกกุ้งป่น และโปรตีนจากพืช ได้แก่ โปรตีนข้าวโพด กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง และโปรตีนข้าวสาลีซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

กลุ่มที่ 2 มีโปรตีนต่ำหรือประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีนประมาณ 2-12% และมีแป้งสูงประมาณ 50-85% ได้แก่ กากมะพร้าว ปลาขี้ขาวเจ้านิ่ง รำละเอียด รำหยาบ ข้าวฟ่างขาว ข้าวโพด และ Red balloon (ตารางที่ 6)

กลุ่มที่ 3 มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตประมาณ 30-40% ได้แก่ เนื้อหอย อาหารกุ้งเล็ก อาหารกุ้งโต อาหารปลา1 อาหารปลา2 และอาหารปลา3 (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 คุณค่าทางโภชนาของอาหารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อย
คาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสายพันธุ์
ระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro* digestibility

ชนิดอาหาร*	เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง					
	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น	NFE
อาหารที่มีโปรตีนสูง						
ปลาป่น1	57.4	11.6	0.2	21.5	6.5	2.8
ปลาป่น2	51.7	12.1	0.1	22.0	8.5	5.6
ปลาป่น3	61.0	9.1	0.3	17.7	7.8	4.1
ไก่ป่น	61.0	11.7	0	13.9	6.6	6.8
เปลือกกุ้งป่น	40.2	3.0	9.4	35.0	9.8	2.6
โปรตีนข้าวโพด	61.6	2.5	0.1	3.0	6.7	26.1
โปรตีนข้าวสาลี	80.1	1.5	0	0.7	7.7	10.0
กากถั่วเหลือง	45.2	0.5	4.8	7.2	10.1	32.2
กากถั่วลิสง	41.3	1.6	9.8	7.4	5.0	34.9
อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง						
กากมะพร้าว	8.1	12.1	15.9	3.2	4.4	56.3
ปลายข้าวเจ้านึ่ง	5.9	1.6	0.3	1.0	7.0	84.2
รำละเอียด	11.7	15.7	2.5	6.5	10.1	53.5
รำหยาบ	2.4	1.6	21.8	18.4	6.5	49.3
ข้าวฟ่างขาว	7.3	5.0	0.1	1.5	6.5	79.6
ข้าวโพด	5.9	7.4	0.4	4.9	7.0	74.4
Red balloon	13.2	2.0	0	0.7	12.0	72.1
อาหารที่มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตใกล้เคียงกัน						
เนื้อหอย	42.4	10.0	0	0	0.4	47.2
อาหารกุ้งเล็ก	34.2	5.8	0.3	12.0	6.3	41.4
อาหารกุ้งโต	39.1	5.5	1.1	9.0	5.2	40.1
อาหารปลาสำเร็จรูป1	40.8	2.6	0.8	11.0	5.2	39.6
อาหารปลาสำเร็จรูป2	47.0	7.0	4.0	15.0	9.0	18.0
อาหารปลาสำเร็จรูป3	54.0	11.0	1.1	16.0	10.0	7.9

หมายเหตุ *ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่ 1

วิจารณ์

การทดลองนี้มุ่งศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหาร และประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาสรวยหนู *H. leptorhynchus* แต่ละช่วงขนาดครอบคลุมตลอดช่วงวงจรชีวิต โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 4 ช่วงขนาดตามขนาดปากของปลา ขนาดของหอยซึ่งเป็นอาหารหลักของปลาสรวยหนู และพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ ดังนี้ ช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร ช่วงขนาด 5-20 เซนติเมตร ช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร และช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร เพื่อให้ทราบลักษณะการพัฒนาระบบเอนไซม์ย่อยอาหารของปลาสรวยหนู คุณลักษณะและความสามารถในการใช้ประโยชน์จากอาหารชนิดต่าง ๆ ในแต่ละช่วงขนาด ซึ่งอาจมีความแตกต่างกัน และเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย ซึ่งเป็นปัญหาหลักของการเพาะเลี้ยงปลาสรวยหนูระยะวัยอ่อน ดังนั้นข้อมูลเกี่ยวกับความสามารถในการใช้ประโยชน์จากอาหารในแต่ละช่วงขนาดจะทำให้สามารถพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาสรวยหนูในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1. คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสรวยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ

ในการศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสรวยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างโดยบดละเอียดทั้งตัวเนื่องมาจากอวัยวะย่อยอาหาร ได้แก่ เฮพาโตแพนแครีซ กระจกอาหารและลำไส้ มีขนาดเล็กมากไม่สามารถตัดแยกออกได้ จึงใช้วิธีเตรียมตัวอย่าง crude enzyme extract โดยปราศจากการเติมบัฟเฟอร์ ค่า pH ของ crude enzyme extract มีค่าเท่ากับ 7 ดังนั้นผลการวิเคราะห์กิจกรรมและคุณลักษณะของเอนไซม์จากปลาสรวยหนูระยะวัยอ่อนจึงเป็นคุณลักษณะที่ปรากฏโดยรวมทั้งระบบ ซึ่งไม่สามารถแยกอวัยวะย่อยอาหารได้เหมือนกับปลาสรวยหนูระยะตัวเต็มวัย ซึ่งมีขนาดใหญ่สามารถใช้วิธีตัดแยกระบบย่อยอาหารออกเป็น 3 ส่วน คือ เฮพาโตแพนแครีซซึ่งประกอบด้วยตับและมีบางส่วนของตับอ่อนแทรกอยู่ กระจกอาหาร และลำไส้ ตั้งแต่ลำไส้ตอนต้นและลำไส้ตอนท้าย แล้วนำแต่ละส่วนมาบดสกัดเอนไซม์แยกกัน ซึ่ง pH ของ crude enzyme extract ที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซ มีค่า 7 กระจกอาหาร 4.5-5 ลำไส้ มีค่า 7-8 และกระจกอาหารรวมลำไส้ มีค่า 7

1.1 คุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสในปลาสวายหนูช่วงขนาดต่างๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าเอนไซม์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพนแครีซ รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ แสดงว่าเฮฟาโตแพนแครีซเป็นอวัยวะหลักที่มีการสร้างและหลั่งเอนไซม์อะไมเลส รูปแบบของเอนไซม์อะไมเลสที่พบในอวัยวะย่อยอาหารของปลาสวายหนูมีทั้งเอลิตอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5-6 นิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8-9 เมื่อศึกษา กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์อะไมเลส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ทุกกระยะการเจริญเติบโตของปลาสวายหนูพบว่าเอนไซม์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6-7 เช่นเดียวกับเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากลำไส้ปลา *Pangrus pangrus*, *Pagellus erythrinus*, *Pagellus bogarareo*, *Boops boops* และ *Diplodus annularis* พบว่าแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 (Fernandez *et al.*, 2001) เปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่นพบว่า มีลักษณะเช่นเดียวกับเอนไซม์อะไมเลสที่พบในหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* (ปรานทิพย์และคณะ, 2548) นิวทรัลอะไมเลสที่พบในหอยกาบทะเล *Mytilus chilensis* แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6-7 และอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส (Fernandez *et al.*, 2001) และนิวทรัลอะไมเลสจากปู *Scylla serrata* แสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 (Pavasovic *et al.*, 2004) แสดงว่าเอนไซม์นิวทรัลอะไมเลสในปลาสวายหนู มีบทบาทสำคัญและเป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตทุกกระยะการเจริญเติบโต

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะเอนไซม์อะไมเลสในปลาสวายหนูระหว่างการเจริญเติบโต ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์อะไมเลส จากปลาสวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่าต่ำที่สุด และมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น และปริมาณอาหารที่กินมากขึ้น แสดงว่าเอนไซม์อะไมเลสในปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนยังพัฒนาไม่เต็มที่ และเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมจำเพาะของนิวทรัลอะไมเลสในเฮฟาโตแพนแครีซกับนิวทรัลอะไมเลสในลำไส้และกระเพาะอาหารรวมลำไส้พบว่านิวทรัลอะไมเลสในเฮฟาโตแพนแครีซมีค่าสูงกว่าประมาณ 2.5 เท่า และมีค่าสูงกว่าเอลิตอะไมเลส ในกระเพาะอาหารประมาณ 4 เท่า แสดงว่าเฮฟาโตแพนแครีซเป็นอวัยวะหลักในการสร้างและหลั่งเอนไซม์สำหรับย่อย

สารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตของปลาสวายหนู แตกต่างจากปลาอะโรวานา *Scleropages formosus* ซึ่งพบว่าเอนไซม์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในลำไส้ รองลงมา คือ ตับอ่อน และ กระเพาะอาหาร ตามลำดับ (Natalia *et al.*, 2004)

1.2 คุณลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอสในปลาสวายหนูช่วงขนาดต่างๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพนแครีซ รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ แสดงว่าเฮฟาโตแพนแครีซเป็นอวัยวะหลักที่มีการสร้างและหลั่งเอนไซม์โปรตีนเอส รูปแบบของเอนไซม์โปรตีนเอสที่พบในอวัยวะย่อยอาหารของปลาสวายหนูมีทั้งเอสดีโปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 4 นิวทรัลโปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์โปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9-10 เมื่อศึกษา กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนเอสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่า เอนไซม์โปรตีนเอส ประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าที่ pH ต่ำ (2-4) เอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากเฮฟาโตแพนแครีซมีค่ากิจกรรมจำเพาะต่ำกว่า เอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากกระเพาะอาหาร และมีค่ากิจกรรมจำเพาะใกล้เคียงกับโปรตีนเอสที่สกัดจาก ลำไส้ แต่เมื่อ pH สูงขึ้นพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสจากเฮฟาโตแพนแครีซมีค่ากิจกรรม จำเพาะสูงกว่าเอนไซม์โปรตีนเอสจากกระเพาะอาหารและลำไส้ อาจเนื่องมาจากเอนไซม์โปรตีนเอสมี หลายไอโซฟอร์ม เมื่ออยู่ใน pH ที่เหมาะสมจะแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงขึ้น และสภาวะเป็นกรดของ กระเพาะอาหาร (pH 3-4) อาจจะเหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เปปซินซึ่งเป็นเอสดี โปรตีนเอสได้มากกว่าเฮฟาโตแพนแครีซ (ภาพที่ 6ค และ 6ง) ทุกระยะการเจริญเติบโตของปลาสวาย หนูพบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 9 ดังนั้นจึงถือว่าแอลคาไลน์โปรตีนเอส เป็นเอนไซม์หลักสำหรับการย่อยสารอาหารประเภทโปรตีนในทุกระดับการเจริญของปลาสวายหนู สอดคล้องกับ Simpson (2000) รายงานว่าแอลคาไลน์โปรตีนเอสของปลาทั่วไปแสดงกิจกรรม จำเพาะสูงที่ pH 8-10 ขณะที่เอสดีโปรตีนเอสจากกระเพาะอาหารแสดงกิจกรรมจำเพาะ สูงที่ pH 2-4 ส่วน Castillo-Yanez *et al.* (2004) รายงานว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สกัดจากลำไส้ ของปลาซาร์ดีน *Sardinops sagax caerulea* แสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงที่ pH 10 แต่แสดงกิจกรรม จำเพาะได้ต่ำที่ pH 3 แอลคาไลน์โปรตีนเอสที่สกัดจากลำไส้เล็กของปลานิล *Oreochromis niloticus* ซึ่งเป็นปลากินพืชที่เป็นแหล่งโปรตีนสูงสำหรับมนุษย์ มีอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการแสดง

กิจกรรมจำเพาะประมาณ 50 องศาเซลเซียสและ 8 ตามลำดับ (Bezerra *et al.*, 2005) ขณะที่แอลคาไลน์โปรตีนส จากลำไส้และตับอ่อนของปลาอะโรวานาสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ทั้งสภาวะกรด pH 2-3 และสภาวะเบส pH 12 ส่วนเอนไซม์โปรตีนสจากกระเพาะอาหารมี pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะประมาณ 1-2 (Natalia *et al.*, 2004) เช่นเดียวกับการศึกษาในปลากินเนื้อ 3 ชนิด คือ *Sebastes mentella* , *Sparus aurata* และ *Scophthalmus maximus* พบว่าเอนไซม์โปรตีนสในกระเพาะอาหารแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 2 และเอนไซม์โปรตีนสในลำไส้แสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงที่ pH 9.5-10 (Munilla-Moran *et al.*, 1996) โดยทั่วไปลำไส้ของปลาส่วนมากจะมี pH อยู่ในช่วง 7-9 โดยเมื่อเริ่มย่อยอาหารก็จะมี pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และจะพบการเปลี่ยนแปลง pH บริเวณมิดกัท (midgut) มากกว่าฮายกัท (hind gut) เนื่องจากมิดกัทเป็นบริเวณที่มีการผสมรวมกันระหว่างอาหารจากกระเพาะอาหารที่มีฤทธิ์เป็นกรดกับลำไส้ที่มีฤทธิ์เป็นเบส (วีรพงศ์, 2536) ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมประมาณ 50 องศาเซลเซียส (Bezerra *et al.*, 2005) เปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่นพบว่าเอนไซม์โปรตีนสในกระเพาะอาหารรวมต่อมย่อยของหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 5 (ปรางทิพย์และคณะ, 2548) pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนสในกึ่ง *Pleoticus muelleri* มีค่าประมาณ 7.5-8 (Gimenez *et al.*, 2001) โดยทั่วไป pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีนสในครัสเตเซียนมีค่าประมาณ 5.5-9 (Garcia-Carreño *et al.*, 1994; Ceccaldi, 1997)

ในการวิจัยนี้การศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนสที่สกัดจากอวัยวะย่อยอาหารของปลาสาวยหนูแต่ละช่วงขนาดใช้ azocasein เป็นสับสเตรท ซึ่ง azocasein เป็นสับสเตรทสังเคราะห์ไม่ใช่สับสเตรทจำเพาะสำหรับโปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งจึงถือเป็นการศึกษากิจกรรมของโปรตีนสโดยรวม (Garcia-Carreño and Harrod, 1993) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้กิจกรรมของโปรตีนสที่วัดได้ค่อนข้างต่ำ ซึ่งถ้าใช้สับสเตรทที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนสแต่ละชนิด (ตารางที่ 7) อาจจะทำให้สามารถตรวจวัดกิจกรรมจำเพาะของโปรตีนสได้ชัดเจนขึ้น ซึ่งเมื่อได้ทดลองใช้สับสเตรทที่มีความจำเพาะต่อทริปซินและโคโมทริปซินแทน azocasein แล้วตรวจสอบกิจกรรมจำเพาะของโปรตีนสทั้งในเฮฟาโตแพนแครีซ กระเพาะอาหาร และลำไส้ ของปลาสาวยหนูทุกช่วงขนาดพบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนสมีค่าสูงขึ้นสอดคล้องกับรายงานว่าปลาสาวยหนูเป็นปลากินเนื้อ และกินหอยเป็นอาหารหลัก (สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดหนองคาย, 2528)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนในปลาสาวยหนู ระหว่างการเจริญเติบโต ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรตีนจากปลาสาวยหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่าต่ำที่สุด และมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้นและปริมาณอาหารที่กินมากขึ้น แสดงว่าเอนไซม์โปรตีนในปลาสาวยหนูระยะวัยอ่อนยังพัฒนาไม่เต็มที่ และเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมจำเพาะของแอลคาไลน์โปรตีนในเฮฟาโตแพนแครีซกับแอลคาไลน์โปรตีนในลำไส้และกระเพาะอาหารรวมลำไส้พบว่าแอลคาไลน์โปรตีนในเฮฟาโตแพนแครีซมีค่าสูงกว่าประมาณ 2.5 เท่า และมีค่าสูงกว่าแอลคาไลน์โปรตีนในกระเพาะอาหารประมาณ 4 เท่า แสดงว่าเฮฟาโตแพนแครีซเป็นอวัยวะหลักในการสร้างและหลั่งทั้งเอนไซม์ย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของปลาสาวยหนู

ตารางที่ 7 สับสเตรทจำเพาะของเอนไซม์โปรตีน

เอนไซม์	สับสเตรท
เปปซิน	H-Pro-Thr-Glu-Phe-Phe(NO ₂)-Arg-Leu-OH ^a
ทริปซิน	Benzoyl-L-arginine- <i>p</i> -nitroanilide ^b
ไคโมทริปซิน	N-succinyl-ala-ala-pro-phe- <i>p</i> -nitroanilide ^b

หมายเหตุ ^aDunn *et al.* (1986)

^bRungruangsak-Torrissen *et al.* (2002)

1.3 คุณลักษณะของเอนไซม์ไลเปส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสในปลาสาวยหนูช่วงขนาดต่างๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าเอนไซม์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพนแครีซ รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ แสดงว่าเฮฟาโตแพนแครีซเป็นอวัยวะหลักที่มีการสร้างและหลั่งเอนไซม์ไลเปส รูปแบบของเอนไซม์ไลเปสที่พบในอวัยวะย่อยอาหารของปลาสาวยหนูมีทั้งเอนไซม์โปรตีนแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 นิวทรัลไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 เมื่อศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ไลเปส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทุกระยะการเจริญเติบโตของปลา

สวายนพบว่เอนไ้ซม่ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 8 ดังนั้นจึงถือได้ว่แอลคาลิน์ไลเปสเป็นเอนไ้ซม่หลักสำหรับการย่อยสารอาหารประเภทไขมันในทุกระยะการเจริญของปลาสวายน สอดคล้องกับ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของไลเปสโดยทั่วไปประมาณ 7.0-8.8 ซึ่ง optimal pH จะเพิ่มขึ้นตามความยาวของกรดไขมันในโมเลกุลของไตรเอซิลกลีเซอรอลที่เป็นสับสเตรท เอนไ้ซม่ไลเปสพบได้ตลอดทางเดินอาหารของปลา หลังจากผนังลำไส้และตับอ่อน โดยเอนไ้ซม่ไลเปสจะทำงานร่วมกับน้ำดีซึ่งทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยไขมันได้ดีขึ้น เนื่องจากน้ำดีช่วยทำให้ไขมันมีพื้นที่ผิวมากขึ้น เอนไ้ซม่ไลเปสที่สกัดจากลำไส้ของปลาสวายนช่วงขนาด 21-35 และมากกว่า 35 เซนติเมตรแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงกว่าเอนไ้ซม่ไลเปสที่สกัดจากกระเพาะอาหาร สอดคล้องกับวีรพงศ์ (2536) กล่าวว่เอนไ้ซม่ไลเปสที่พบลำไส้จะมีประสิทธิภาพการทำงานดีกว่าไลเปสในกระเพาะอาหาร เนื่องจากกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรด จึงมีหน้าที่เพียงบดผสมไขมันเพื่อส่งเข้าไปย่อยต่อในลำไส้ อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ไลเปสในปลาสวายนอยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส และ 8 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่น พบว่คล้ายกับหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* ซึ่งพบว่ในลำไส้และกระเพาะอาหารมี pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ไลเปส คือ ประมาณ 8 และอุณหภูมิ 35-55 องศาเซลเซียส แต่กิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ไลเปสในลำไส้มีค่าต่ำกว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ในกระเพาะอาหาร (Areekijserree *et al.*, 2002)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ไลเปสในปลาสวายนระหว่างการเจริญเติบโต ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่กิจกรรมจำเพาะของเอนไ้ซม่ไลเปสจากปลาสวายนช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่าต่ำที่สุด และมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น และปริมาณอาหารที่กินมากขึ้น แสดงว่เอนไ้ซม่แอลคาลิน์ไลเปสในปลาสวายนระยะวัยอ่อนยังพัฒนาไม่เต็มที่ และเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมจำเพาะของแอลคาลิน์ไลเปสในเฮฟาโตแพนเคเรียสกับนิวทรัลไลเปสในลำไส้และกระเพาะอาหารรวมลำไส้พบว่แอลคาลิน์ไลเปสในเฮฟาโตแพนเคเรียสมีค่าสูงกว่าประมาณ 2 เท่า และมีค่าสูงกว่านิวทรัลไลเปส ในกระเพาะอาหารประมาณ 2.5 เท่า แสดงว่เฮฟาโตแพนเคเรียสเป็นอวัยวะหลักในการย่อยสารอาหารประเภทไขมันของปลาสวายน เช่นเดียวกับคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน

1.4 คุณลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสในปลาสวายหนูช่วงขนาดต่างๆ ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพน ครีวิส รองลงมา คือ ลำไส้ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ แสดงว่าเฮฟาโตแพน ครีวิส เป็นอวัยวะหลักที่มีการสร้างและหลั่งเอนไซม์เซลลูเลส รูปแบบของเอนไซม์เซลลูเลสที่พบในอวัยวะย่อยอาหารของปลาสวายหนูมีทั้งเอนไซม์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 และแอลคาไลน์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 เมื่อศึกษา กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์เซลลูเลส ประกอบด้วยอย่างน้อย 2 ไอโซฟอร์ม แสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับ โดยทั่วไปอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะประมาณ 50 องศาเซลเซียส และ 5.5-6 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่นพบว่าคล้ายกับหอยมุกน้ำจืด *H. (H.) bialatus* ซึ่งพบว่าในลำไส้และกระเพาะอาหารมี pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส ประมาณ 8 และอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส (Areekijsee et al., 2002) ใกล้เคียงกับกุ้ง *Cherax* sp. และ *Penaeus* sp. ที่พบว่ามี pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส ประมาณ 5 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Crawford et al., 2005) คล้ายกับปู *Scylla serrata* ซึ่งพบว่าเอนไซม์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงที่ pH 5.5 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Pavasovic et al., 2004) เช่นกัน

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสในปลาสวายหนู ระหว่างการเจริญเติบโต ที่ optimal condition (ตารางที่ 1) พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลส จากปลาสวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่าต่ำที่สุด และมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้นและปริมาณอาหารที่กินมากขึ้น แสดงว่าเอนไซม์เซลลูเลสในปลาสวายหนูระยะวัยอ่อนยังพัฒนาไม่เต็มที่ แต่กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสที่พบในปลาสวายหนูทุกระยะการเจริญมีค่าต่ำเนื่องมาจากปลาสวายหนูเป็นปลากินเนื้อและปลาส่วนใหญ่ไม่สามารถหลั่งเอนไซม์เซลลูเลส ออกมาย่อยเซลลูโลสได้ด้วยตัวเอง ยกเว้นปลากินพืชบางชนิดที่มีจุลินทรีย์ในท้องทางเดินอาหาร สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ออกมาช่วยย่อยเซลลูโลสได้

1.5 คุณลักษณะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซิน

จากการศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินในเฮฟาโตแพนแครีซของปลาซวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร ในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 5-11 พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับรายงานที่ว่าโดยทั่วไป pH ที่เหมาะสมในการแสดงกิจกรรมจำเพาะอยู่ในช่วง 7-9 (Clark *et al.*, 1985; Das and Tripathi, 1991) แต่แตกต่างจากรายงานของ Bezerra *et al.* (2005) ที่พบว่าเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากไส้ติ่งของปลานิล *Nile tilapia* มี pH ที่เหมาะสมต่อการแสดงกิจกรรมประมาณ 9.5 (Bezerra *et al.*, 2005) เอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินที่สกัดจากตับของปลาอะโรวานา *Scleropages formosus* แสดงกิจกรรมจำเพาะสูงกว่าไส้ติ่ง (Natalia *et al.*, 2004) คล้ายกับที่พบในปลาซวายหนู โดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดในเฮฟาโตแพนแครีซ รองลงมาคือ ไส้ติ่ง กระจกเพาะอาหารรวมไส้ติ่ง และกระจกเพาะอาหาร ตามลำดับ จากการศึกษาในเฮฟาโตแพนแครีซของกึ่ง *Pleoticus muelleri* พบว่าระยะที่มีการลอกคราบ (intermolt) กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินอยู่ในระดับต่ำ และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินเพิ่มขึ้นระยะหลังการลอกคราบ (postmolt) มากกว่าระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) แต่กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โคโมทริปซินมีค่าคงที่ (Gimenez *et al.*, 2001) จากการตรวจสอบเอนไซม์ทริปซินในแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L พบว่ามี 3 phenotypes (1, 2 และ 2') โดยทริปซิน phenotype 2 มีบทบาทในการย่อยอาหารสูงที่สุด (Bassompierre *et al.*, 1998)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินในปลาซวายหนูระหว่างการเจริญเติบโต โดยเปรียบเทียบค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินในปลาซวายหนูแต่ละระยะที่ pH 7 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1) พบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินจากปลาซวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่าต่ำที่สุด และมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้นและปริมาณอาหารที่กินมากขึ้นตรงข้ามกับ T/C ratio ที่พบว่ามีค่าสูงสุดในปลาซวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร และมีค่าลดลงเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น เนื่องจากปลาวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนสูงเพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นโครงสร้างของร่างกาย ทำให้เกิดการเจริญเติบโต ความต้องการโปรตีนนี้จะลดลงเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น เพราะปลาขนาดใหญ่ขึ้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตช้าลง เนื่องจากอัตราการสังเคราะห์โปรตีนต่ำกว่าปลาขนาดเล็ก (วีรพงศ์, 2536) สอดคล้องกับการศึกษาในปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L. ซึ่งพบว่า T/C ratio มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของปลา เมื่อ

ปลาอยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโต T/C ratio จะมีค่าสูง และจะมีค่าต่ำลงเมื่ออัตราการเจริญเติบโตของปลาลดลง เนื่องจากเอนไซม์ทริปซินแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงและมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหารในช่วงที่ปลามีการเจริญเติบโต และมีค่าลดลงเมื่ออัตราการเจริญเติบโตช้าลง ตรงข้ามกับเอนไซม์โคโมทริปซินซึ่งแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงขึ้นเมื่ออัตราการเจริญเติบโตลดลง (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006) ดังนั้น T/C ratio จึงสามารถใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของสัตว์แต่ละระยะได้

1.6 ความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหาร

การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหารเพื่อให้ทราบถึง pH และอุณหภูมิที่เอนไซม์แต่ละชนิดยังสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH ที่สูงหรือต่ำเกินไปหรือการใช้อุณหภูมิที่สูง มีผลทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเสียลักษณะการขดตัวหรือม้วนตัว ทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) เนื่องจากพันธะชนิดอ่อนถูกทำลาย แต่พันธะเพปไทด์และพันธะไดซัลไฟด์ยังคงอยู่ เมื่อเอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติทำให้ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ การเปลี่ยน pH มีผลทำให้ประจุบนโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการแตกตัวของหมู่แอลฟาอะมิโนที่ปลาย N และหมู่แอลฟาคาร์บอกซิลที่ปลาย C ของสายโพลีเพปไทด์และที่หมู่ข้าง (side chain) ของกรดอะมิโนในสายโพลีเพปไทด์ซึ่งเปลี่ยนไปตาม pH จุดที่ pH เท่ากับ pI ของโปรตีนแต่ละชนิด โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ ความสามารถในการละลายลดลงจนทำให้เกิดการตกตะกอน และเมื่อเอนไซม์ได้รับความร้อนเพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการแสดงกิจกรรมจำเพาะ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับทุติยภูมิ ตติยภูมิ และจตุรภูมิ ซึ่งจำเป็นสำหรับการแสดงกิจกรรมของเอนไซม์

จากผลการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ย่อยอาหารต่อ pH 2-12 และอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์มีความคงตัวอยู่ในช่วงที่เอนไซม์แต่ละชนิดสามารถแสดงกิจกรรมจำเพาะได้สูงสุด โดยเอนไซม์อะไมเลสมีความคงตัวอยู่ในช่วงที่มี pH เป็นกลาง เช่นเดียวกับ Fernandez *et al.* (2001) รายงานว่าโดยทั่วไปเอนไซม์อะไมเลสจะสามารถทำงานได้ดีที่สุดในสภาวะเป็นกลางและมีความไวต่อสภาวะกรด ซึ่งจะถูกยับยั้งทำให้มีการแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ลดลง และสามารถทนต่อความร้อนได้แตกต่างกันเนื่องจากมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนต่างกัน เอนไซม์โปรตีนสามารถทนต่อ pH ได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างเนื่องจากประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดสอดคล้องกับ Francisco *et al.* (2004) รายงานว่าเอนไซม์โปรตีนสที่พบในท่อทางเดินอาหารของปลาซาร์ดีน

Sardinops sagax caeruleae แสดงกิจกรรมจำเพาะได้ในช่วง pH กว้าง โดยเอสดีโปรตีนที่พบในกระเพาะอาหารแสดงกิจกรรมจำเพาะได้ดีที่ pH 2.5 และยังคงมีความคงตัวในช่วงสภาวะกรด แต่จะมีกิจกรรมจำเพาะลดลงเมื่อ pH สูงขึ้น และจะเริ่มเสถียรภาพเมื่ออุณหภูมิสูงเกิน 55 องศาเซลเซียส (Castillo-Yanez *et al.*, 2004) เอนไซม์เปปซินของปลาน้ำเย็นมีความคงตัวที่ pH 2-5 ขณะที่เอนไซม์ของปลาน้ำอุ่นมีความคงตัวที่ pH 7 (Kubota and Ohnum, 1970) และอุณหภูมิ 37-55 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับเอสดีโปรตีน ในกระเพาะอาหารของปลาทรายหูกซึ่งมีความคงตัวคงตัวที่ pH 4-6 และอุณหภูมิ 20-50 องศาเซลเซียส แอลคาไลน์โปรตีนจากปลานิล *Nile tilapia* มีความคงตัวที่ pH 7-10 และอุณหภูมิ 25-50 องศาเซลเซียส (Bezerra *et al.*, 2005) เช่นเดียวกับแอลคาไลน์โปรตีนที่พบในเฮฟาโตแพนแครีซและลำไส้ของปลาทรายหูก ส่วนเอนไซม์ไลเปสและเซลลูเลสมีความคงตัวที่สภาวะเบสและกรด ตามลำดับซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด

2. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดที่พบในท้องทางเดินอาหาร อาหารสำเร็จรูป และวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาทรายหูกระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro digestibility* คัดแปลงจากวิธีการของ Rungruangsak-Torrissen *et al.* (2000)

อาหารทั้ง 22 ชนิด (ตารางผนวกที่ 1) ที่ใช้เป็นสับสเตรทสำหรับทดสอบความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนของเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีนเอส ที่สกัดจากปลาทรายหูกช่วงขนาดต่าง ๆ วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro digestibility* คัดเลือกตามเกณฑ์ ดังนี้

1. เป็นอาหารชนิดหลักของปลาทรายหูกที่พบในธรรมชาติ
2. หาซื้อง่าย และมีราคาถูก
3. เป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย
4. เป็นผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนเอส พบว่าวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีน 3 อันดับแรกที่เอนไซม์โปรตีนเอสจากปลาทรายหูกช่วงขนาดต่าง ๆ สามารถย่อยได้ดีที่สุด คือ โปรตีนข้าวสาลี เนื้อหอย และเปลือกกุ้งป่น เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์โปรตีนพบว่า วัตถุดิบอาหารที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด 3 อันดับแรก คือ โปรตีนข้าวสาลี โปรตีน

ข้าวโพด และไก่ป่น ซึ่งไม่สัมพันธ์กับความสามารถในการย่อยของเอนไซม์โปรตีนในปลาสวายหนูแต่ละช่วงขนาด ยกเว้นโปรตีนข้าวสาลีซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุดและมีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด เมื่อเทียบกับวัตถุดิบอาหาร 3 ชนิดแรก เอนไซม์โปรตีนส่อยปลาป่นได้ค่า แม้จะเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนสูงจากสัตว์ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารปลา เนื่องจากมีโปรตีนที่มีคุณภาพสูง แตกต่างจากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลาป่น เนื้อป่น เลือดป่น กากถั่วเหลือง และแป้งข้าวสาลี ของเอนไซม์โปรตีนส จากเฮฟาโตแพนเคเรียสของกุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* โดยวิธี SDS-PAGE พบว่าเอนไซม์สามารถย่อยปลาป่น เนื้อป่น และแป้งข้าวสาลีได้ดีที่สุด ส่วนกากถั่วเหลืองและเลือดป่นย่อยได้น้อยมาก (Lemos *et al.*, 2004) ทั้งนี้ความแตกต่างอาจเกิดจากปัจจัยหลายประการที่ทำให้คุณภาพของปลาป่นลดลง เช่น ชนิดของปลาที่นำมาทำปลาป่น ความสดของปลาและกระบวนการผลิต และการปลอมปน เป็นต้น

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์อะไมเลส พบว่าวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต 2 อันดับแรกที่เอนไซม์อะไมเลสจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ สามารถย่อยได้ดีที่สุด คือ ปลาขี้ขาวเจ้านิ่ง และเนื้อหอย *Corbicula* sp. เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต พบว่า วัตถุดิบอาหารที่มีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงสุด 3 อันดับแรก คือ ปลาขี้ขาวเจ้านิ่ง ข้าวฟ่างขาว และข้าวโพด ซึ่งไม่สัมพันธ์กับความสามารถในการย่อยของเอนไซม์อะไมเลส ยกเว้นปลาขี้ขาวเจ้านิ่งซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงสุด (84.2 เปอร์เซ็นต์) และมีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด สำหรับปลาขี้ขาวหนึ่งมีคุณค่าทางอาหารเช่นเดียวกับปลาขี้ขาวธรรมดา แต่สัตว์สามารถย่อยได้ดีกว่าเพราะแป้งผ่านการนึ่งให้สุกแล้ว ส่วนข้าวโพดและข้าวฟ่างซึ่งมีเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตสูงรองลงมาจากปลาขี้ขาวเจ้านิ่ง (79.6 และ 74.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) นั้นอาจเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดที่มีลักษณะหรือโครงสร้างของโมเลกุลไม่เหมาะกับการเป็นสับสเตรทของเอนไซม์อะไมเลสในปลาสวายหนู จากผลการทดลองพบว่าเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีนสสามารถย่อยเนื้อหอยได้ดีซึ่งอาจสัมพันธ์กับการที่หอยเป็นอาหารหลักของปลาสวายหนู

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารได้มุ่งเน้นไปที่ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตมากกว่าไขมัน เนื่องจากปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของปลาคือสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและสารอาหารประเภทโปรตีนเพื่อการสร้างและซ่อมแซมเนื้อเยื่อในขณะที่ไขมันถือเป็นแหล่งพลังงานสำรอง เอนไซม์โปรตีนสที่สำคัญคือเอนไซม์ทริปซิน เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญอันดับแรกที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion efficiency; FCE) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate;

SGR) รายงานจากผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินที่สกัดจากไส้ติ่งของปลาแซลมอน *Salmo salar* L พบว่ามีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหารในช่วงที่มีการเจริญเติบโต ส่วนเอนไซม์โคโมทริปซินมีบทบาทสำคัญในช่วงอดอาหาร (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006) จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในสูตรอาหาร 6 ชนิดโดยวิธี TNBS ที่มีแหล่งโปรตีนประกอบด้วยปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลาหมึกป่น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Divakaran *et al.*, 2004) แต่เมื่อนำไปทดลองเลี้ยงจริงพบว่าสูตรอาหารที่มีกากถั่วเหลืองมากขึ้นทำให้ประสิทธิภาพการย่อยดีขึ้น เปอร์เซ็นต์กากถั่วเหลืองที่ใช้ในสูตรอาหารทั้ง 6 ชนิด คือ 23.69, 46.29, 34.99, 23.69, 46.43 และ 35.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Divakaran *et al.*, 2000)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไม่สามารถใช้เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนในอาหารเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมต่อการย่อยของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของปลาสาวยหนูแต่ละช่วงขนาดได้ แต่จะต้องพิจารณาร่วมกับความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ในแต่ละระยะของตัวสัตว์

3. การวิเคราะห์คุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสาวยหนู

การวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์เป็นวิธีการตรวจสอบเพื่อบอกค่าปริมาณ โภชนะหรือองค์ประกอบของวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการคำนวณสูตรอาหารหรือกำหนดราคาของวัตถุดิบอาหาร หรืออาจใช้ในการตรวจสอบคุณค่าของอาหารสำเร็จรูปเพื่อควบคุมคุณภาพการผลิตให้มีความถูกต้องแน่นอน ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณ โภชนะที่มีอยู่ในวัตถุดิบอาหารไม่สามารถบอกได้ว่าร่างกายของสัตว์สามารถนำไปใช้ได้มากน้อยเพียงใดต้องพิจารณาร่วมกับข้อมูลการย่อยและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (digestibility and availability) จึงจะทำให้ประเมินคุณภาพอาหารสัตว์ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใช้วิธีการของเคลดาล หลักการคือวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอาหารรวมทั้งสารที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen, NPN) ดังนั้นการแสดงค่าเป็นปริมาณโปรตีนรวมจะได้ค่ามากกว่าความเป็นจริง เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันซึ่งเป็นการวิเคราะห์ไขมันรวม ใช้วิธีการสกัดไขมันจากอาหารโดยใช้สารละลายอินทรีย์ ในการทดลองนี้คือปิโตรเลียมอีเทอร์ การสกัดด้วยวิธีการนี้อาจให้ค่าสารที่ไม่ใช่ไขมันแพรวมอยู่ด้วย

การวิเคราะห์เถ้าจะได้ค่าออกมาเป็นปริมาณเถ้ารวม (total ash) ในอาหาร ซึ่งก็คือสารอินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากเผาตัวอย่างด้วยความร้อนสูง สารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด แต่ไม่ใช่ค่าที่แสดงปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดที่มีอยู่จริงในอาหาร เนื่องจากบางส่วนอาจสูญหายไปโดยการระเหยหรืออาจแปรสภาพโดยทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นในอาหาร ขณะเผาด้วยความร้อนสูง แต่โดยทั่วไปปริมาณเถ้าที่พบในอาหารค่อนข้างคงที่ สำหรับอาหารชนิดนั้นๆ อาหารที่มีปริมาณเถ้าสูงกว่าปกติอาจเนื่องมาจากการปลอมปน

การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหาร ใช้กรดอ่อนและด่างอ่อนละลายสารอินทรีย์ ส่วนที่สัตว์สามารถย่อยได้ คือ โปรตีน น้ำตาล แป้ง เซมิเซลลูโลส และลิกนินบางส่วนที่ละลายได้ออกจากตัวอย่าง ส่วนที่เหลือ คือ สารอินทรีย์ส่วนที่ย่อยไม่ได้ เช่น กากตะกอนของเซลลูโลส เซมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารอินทรีย์พวกแร่ธาตุต่าง ๆ เมื่อนำไปเผาจะได้สารอินทรีย์ที่มีในตัวอย่างอาหาร และปริมาณสารอินทรีย์ที่หายไปจากการเผา คือ ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหาร

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตได้จากการคำนวณ ซึ่งเป็นปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวม ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่สัตว์น้ำย่อยไม่ได้หรือเยื่อใย และคาร์โบไฮเดรตที่สัตว์น้ำใช้ประโยชน์ได้ คือ สารอินทรีย์ส่วนที่เรียกว่า nitrogen-free extract (NFE) เป็นคาร์โบไฮเดรตในรูปแป้งและน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากการคำนวณโดยวิธีนี้จึงไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารสัตว์น้ำ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพปลาป่นพบว่า มีโปรตีนอยู่ระหว่าง 50-61 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับเกรดที่ 2 และ 3 มีปริมาณเถ้าต่ำ (17-22 เปอร์เซ็นต์) มาตรฐานปลาป่นเพื่อการส่งออกตามที่กระทรวงพาณิชย์ กำหนดไว้ แบ่งออกเป็น ปลาป่นเกรด 1 ต้องมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และเถ้าไม่เกิน 26 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นเกรด 2 ต้องมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 55 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และเถ้าไม่เกิน 28 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นเกรด 3 ต้องมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ และเถ้าไม่เกิน 30 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นคุณภาพต่ำจัดเป็นปลาป่นที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางเคมีของปลาป่นไทยโดยจوزهดี และคณะ (2537) โดยใช้ปลาป่นไทยเกรดต่าง ๆ ที่ผลิตในจังหวัดสงขลา จำนวน 10 โรงงาน และจังหวัดปัตตานีจำนวน 6 โรงงาน ในช่วงเดือนเมษายน 2538 พบว่าคุณภาพปลาป่นจากโรงงานในจังหวัดสงขลาเป็นปลาป่นที่มีโปรตีนต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (เกรดที่ 2 และ 3 โปรตีน 50-58 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากวัตถุดิบเป็นปลาเป็ดซึ่ง

ประกอบด้วยปลาหลายชนิดและมีความสดน้อย สำหรับปลาป่นที่ผลิตจากโรงงานในจังหวัดปัตตานีมีคุณภาพดีกว่า โปรตีนสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (เกรดที่ 1 และ 2 โปรตีน 55-65 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากใช้วัตถุดิบที่ต่างกัน คือ ปลาหลังเขียว ปลาทูแวก และปลาโอ คุณภาพของปลาป่นขึ้นอยู่กับชนิดปลาที่นำมาทำปลาป่น แหล่งที่จับ การจัดการจับ ความสดของปลา กระบวนการขนส่ง การเก็บรักษา และกรรมวิธีการผลิต (จูอะดี และคณะ, 2539) ปัจจุบันบางประเทศได้มีการพัฒนากรรมวิธีการผลิตที่ไม่ทำลายคุณค่าทางโภชนาการและรักษาคุณภาพปลาป่นโดยวิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ส่วนการผลิตปลาป่นในประเทศไทยยังใช้วิธีการอบแห้งแบบไอร้อนและใช้ฟืนหรือน้ำมันเตาเป็นเชื้อเพลิง เนื่องจากในปัจจุบันปลาป่นมีราคาแพงจึงได้มีการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารหลายชนิด เพื่อลดต้นทุนการผลิต วิมล และคณะ (2539) ได้ทดลองใช้โปรตีนข้าวโพดซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตแป้งข้าวโพดและมีราคาถูกกว่าทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในการเลี้ยงปลาคุณกุ่มผสม พบว่าโปรตีนข้าวโพดสามารถใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารปลาคุณกุ่มผสมได้ในปริมาณ 3.33-10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณดังกล่าวทำให้การเจริญเติบโตของปลาคุณกุ่มผสมดีกว่าอาหารที่ไม่มีโปรตีนข้าวโพด

จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของเอนไซม์โปรตีนจากปลาสดขนาดต่าง ๆ พบว่าสามารถย่อยเปลือกกุ้งป่นได้ดี เปลือกกุ้งป่นประกอบด้วยส่วนหัวซึ่งมีไคตินและเปลือกกุ้ง โดยส่วนหัวเป็นส่วนที่มีคุณค่าทางอาหารมากที่สุด นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งสารสี และช่วยเพิ่มกลิ่นให้กับอาหารเพื่อดึงดูดให้ปลากินอาหารมากขึ้น วัตถุดิบอาหารอื่นๆ ประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับที่พบทั่วไป (ตารางผนวกที่ 2)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. คุณลักษณะของเอนไซม์อะไมเลสที่สกัดจากปลาช้วยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าประกอบด้วยเอซิดอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5-6 นิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8-9 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6-7 การศึกษากิจกรรมจำเพาะในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์อะไมเลสในปลาช้วยหนูประกอบด้วยอย่างน้อย 4 ไอโซฟอร์ม ซึ่งแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 40 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส

2. คุณลักษณะของเอนไซม์โปรตีนเอสที่สกัดจากปลาช้วยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าประกอบด้วยเอซิดโปรตีนเอสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 4 นิวทรัลอะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์อะไมเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8-11 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 9-10 การศึกษากิจกรรมจำเพาะในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์โปรตีนเอสในปลาช้วยหนูประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

3. คุณลักษณะของเอนไซม์ไลเปสที่สกัดจากปลาช้วยหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าประกอบด้วยเอซิดไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 5 นิวทรัลไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 7 และแอลคาไลน์ไลเปสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 8 และ 11 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7-8 การศึกษากิจกรรมจำเพาะในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ไลเปสในปลาช้วยหนูประกอบด้วยอย่างน้อย 3 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

4. คุณลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดจากปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ ศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 2-12 พบว่าประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 3 และ 6 และแอลคาไลน์เซลลูเลสแสดงกิจกรรมจำเพาะที่ pH 9 โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 6 การศึกษากิจกรรมจำเพาะในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 20-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสในปลาสวายหนูประกอบด้วยอย่างน้อย 4 ไอโซฟอร์มแสดงกิจกรรมจำเพาะที่อุณหภูมิ 30 40 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

5. คุณลักษณะของเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินที่สกัดจากเฮพาโตแพนแครีซของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35 เซนติเมตร ศึกษาในสภาวะเปลี่ยนแปลง pH 5-11 พบว่าแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่ pH 7 การศึกษากิจกรรมจำเพาะในสภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 30-80 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ทริปซินและโคโมทริปซินในปลาสวายหนูแสดงกิจกรรมจำเพาะสูงสุดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

6. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารระหว่างการเจริญเติบโตพบว่าปลาสวายหนูช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตรมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ย่อยอาหารต่ำที่สุดและมีค่าสูงขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้นและกินอาหารปริมาณมากขึ้น

7. ความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดที่พบในท้องทางเดินอาหาร วัตถุประสงค์อาหารสัตว์ และอาหารสำเร็จรูปโดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาดต่าง ๆ วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility พบว่าเอนไซม์อะไมเลสย่อยปลายข้าวเจ้า นึ่งและเนื้อหอยได้ดีที่สุด และเอนไซม์โปรตีนส่อยโปรตีนข้าวสาลี เนื้อหอย และเปลือกกุ้งป่นได้ดีที่สุด

8. การวิเคราะห์คุณภาพอาหารสัตว์พบว่าปลาป่นจัดอยู่ในเกรด 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน 50-60 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์เถ้าต่ำ ส่วนวัตถุดิบอาหารชนิดอื่นมีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับที่พบได้ทั่วไป

ข้อเสนอแนะ

1. ในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาสวายหนูนอกจากจะต้องทราบคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบและข้อมูลด้านการย่อยแล้วยังต้องพิจารณาความต้องการสารอาหารแต่ละชนิดโดยอ้างอิงจากปลากินเนื้อ คือ โปรตีน 30-40 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 10-20 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิตามินและแร่ธาตุไม่นิยมผสมในอาหารโดยตรง เนื่องจากใช้ในปริมาณน้อยมากในสูตรอาหารจึงมักถูกผสมไว้ล่วงหน้ากับสื่อบางชนิด เรียกว่า สารผสมล่วงหน้า (premix) แล้วจึงนำสารผสมล่วงหน้านี้ไปผสมในสูตรอาหารต่อไป นอกจากนี้ยังมีวัสดุอาหารที่ช่วยเสริมคุณภาพของอาหาร เช่น สารประสานอาหาร สารแต่งกลิ่นอาหาร สารกันหืนและรา เป็นต้น โดยนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาพิจารณาร่วมกัน

2. ในการพัฒนาสูตรอาหารควรทดลองใช้หลาย ๆ สูตร เพื่อให้สามารถคัดเลือกสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาสวายหนูแต่ละระยะ และต้องนำไปทดลองเลี้ยงจริงโดยพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่น ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของปลา

3. ควรศึกษาความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่น มันสำปะหลัง จมูกข้าว ไข่เค็มดิน เนื้อและกระดูกป่น ขนไก่ป่น เลือดป่น ใบกระถินป่น ปลาหมึกป่น กากเมล็ดฝ้าย เป็นต้น เพื่อคัดเลือกวัตถุดิบที่สามารถทดแทนการใช้วัตถุดิบที่มีราคาแพง เป็นการลดต้นทุนการผลิตทางหนึ่ง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมการค้าภายใน. 2550. ราคาสินค้าพืชไร่และวัตถุดิบอาหารสัตว์. แหล่งที่มา:

<http://www.dit.go.th/contentdetail.asp?TypeID=4&catid=109&id=192>, 30 มีนาคม 2550.

กลุ่มวิจัยอาหารสัตว์น้ำ. 2534. อาหารสัตว์น้ำ. เอกสารพิมพ์เผยแพร่โดยฝ่ายฝึกอบรม กองส่งเสริมการประมง กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จوزهดี พงศ์มณีรัตน์, มะลิ บุญยรัตผลิน, ชูศักดิ์ บริสุทธิ์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2537. องค์ประกอบทางเคมีของปลาป่นไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10/2537. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, สงขลา.

ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, มะลิ บุญยรัตผลิน และ นันทิยา อุ้นประเสริฐ. 2525. อาหารปลา. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ปรางทิพย์ สุพรรณพงศ์. 2548. คุณลักษณะและประสิทธิภาพการย่อยสลายของเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีนเอสในหอยมุกน้ำจืด *Hyriopsis (Hyriopsis) Bialatus* Simpson, 1900. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์. 2533. หลักการอาหารสัตว์ หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิมล จันทร์โรทัย. 2537. อาหารและการให้อาหารสัตว์น้ำ. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

_____, ทวี วิพุทธานุมาศ และ พิสมัย สมสืบ. 2539. การทดแทนโปรตีนบางส่วนด้วยโปรตีนข้าวโพดช่วยเร่งการเจริญเติบโตและปรับสีผิวและเนื้อของปลาดุกกลมผสม. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

- วิมล เหมะจันทร์. 2540. **ชีววิทยาของปลา**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. **อาหารปลา**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2540. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยพืชไร่. 2537. **การปลูกพืชไร่**. เอกสารวิชาการ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ.
- สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดหนองคาย. 2528. **การเพาะพันธุ์ปลาสวายหนู**. รายงานประจำปี กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ลำพอง ทองปน. 2534. **ลักษณะทางจุลกายวิภาคของระบบย่อยอาหารในปลาบึก (*Pangasiamodon gigas* Chevey)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ananichev, A.V. 1959. Digestive enzymes of fish and seasonal changes in their activity. **Biochemistry**. 24: 952-958.
- Anderson, B.G. and D.L. Mitchum. 1974. **Atlas of trout histology**. Wyoming and fish commission bull. 13.
- AOAC. 2000. Animal feed, pp. 1-54. In Firestone, D., ed. **Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. Chapter 4**. Maryland, USA.
- Arai, S. 1989. Practical feeding: Eels, pp. 223-230. In Lovell, T., ed. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold, New York.

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

_____, _____, _____, _____, _____, 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.

Baird, I.G., V. Inthaphaisy, P. Kisouvannalath, B. Phylavanh and B. Mounsouphom. 1999. **The fishes of southern Lao**. Lao Community Fisheries and Dolphin Protection Project. Ministry of Agriculture and Forestry, Lao PDR.

Bassompierre, M., T.H. Ostefeld, E. Mclean and K. Rungruangsak-Torrissen. 1998. *In vitro* protein digestion and growth of Atlantic salmon with different trypsin isozymes. **Aquacult. Int.** 6: 47-56.

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

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

Boonyaratpalin, M., K. Kohanantakul, B. Sricharoendham, T. Chittapalapong, A. Termvidchakorn, W. Thongpan and M. Kakkaew. 2002. Ecology, fish biology and fisheries in the lower Songkharm River basin. Department of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok. **Technical Paper No.6**.

- Castillo-Yanez, F.L., R. Pacheco, F.L. Garcia-Carreno and M.A. Navarrete-Del Toro. 2004. Characterization of acidic proteolytic enzymes from Monterey sardine (*Sardinops sagax caerulea*) viscera. **Food Chem.** 85: 343-350.
- Ceccaldi, H.J. 1997. Anatomy and physiology of the digestive system, pp. 261-291. In D'Abramo, L.R., D.E. Conklin and D.M. Akiyama, eds. **Symposium on The Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture vol.6.** The World Aquaculture Society, LA.
- Clark, J., N. MacDonald and J.R. Stark. 1985. Metabolism in marine flatfish. II. Protein digestion in Dover sole (*Solea solea* L.). **Comp. Biochem. Physiol. B.** 81: 217-222.
- Crawford, A.C., N.R. Richardson and P.B. Mather. 2005. A comparative study of cellulase and xylanase activity in freshwater crayfish and marine prawns. **Aquaculture Res.** 36: 586-592.
- Cruz-Suarez, L.E., D. Rique-Marie, M. Nieto-Lopez and M. Tapia-Salazar. 2000. Revision sobre calidad de harinas y acetias de pescado para la nutricion del camaron, pp. 298-326. In Civera-Cerecedo, R., C.J. Perez-Estrada, D. Rique-Marie and L.E. Cruz-Suarez, eds. **Memorias del IV Symposium Internacional de Nutricion Acuicola. Avances en nutricion acuicola IV.** La Paz, Mexico.
- Das, H.M. and S.D. Tripathi. 1991. Studies on digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val). **Aquaculture.** 92: 21-32
- Divakaran, S., I.P. Forster and M. Velasco. 2004. Limitations on the use of shrimp *Litopenaeus vannamei* midgut gland extract for the measurement of *in vitro* protein digestibility. **Aquaculture.** 239: 323-329.

- _____, M. Velasco, E. Beyer, I. Forster and A.G.J. Tacon. 2000. Soybean meal apparent digestibility for *Litopenaeus vannamei*, including a critic on methodology, pp. 2567-2576. In Cruz-Suarez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Olevera-Novoa and R. Civera-Cerecedo, eds. 2000. **Symposium internacional de nutricion acuicola. Advances en nutricion acuicola V memorias del V.** Merida, Yucatan, Mexico.
- Du, S. and K. Mai. 2000. Ontogenetic changes in the activity of main digestive enzymes during the larval and juvenile stages of abalone, *Haliotis discus hannii* Ino. **J. Shellfish Res.** 19: 510.
- Dunn, B.M., M. Jimenez, B. F. Parten, M.J. Valler, C.E. Rolph and J. Kay. 1986. A systematic series of synthetic chromophoric substrates for aspartic proteinases. **Biochem. J.** 237: 899-906.
- Ezquerro, J.M., F.L. Garcia-Carreno and O. Carrillo. 1998. In vitro digestibility of protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture.** 163: 123-136.
- _____, _____, R. Civera and N.F. Haard. 1997. pH stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture.** 157: 251-262.
- Fan, L.T. and Y-H. Lee. 1983. Kinetics studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: derivation of a mechanistic kinetic model. **Biotech. Bioeng.** 25: 2707-2733
- Fernandez, I., F.J. Moyano, M. Diaz and T. Martinez. 2001. Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 262: 1-12.

- Furne, M., M.C.H. Hidalgo, A. Lopez, M. Garcia-Gallego, A.E. Morales, A. Domezain, J. Domezaine and A. Sanz. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. **Aquaculture**. 250: 391-398.
- Garcia-Carreno, F.L. and N.F. Haard. 1993. Characterization of proteinase classes in langostilla (*Pleuroncodes palanipes*) extracts. **J. Food Biochem.** 17: 97-113.
- _____, F.L., M.P. Hernandez-C and N.F. Haard. 1994. Enzymes with peptidase and proteinase activity from the digestive systems from a fresh water and marine decapod. **J. Agricul. Food Chem.** 42: 1456-1461.
- Gildberg, A., R.L. Olsen and J.B. Bjarnason. 1990. Catalytic properties and chemical composition of pepsins from Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Comp. Biochem. Physiol. B.** 96: 323-330.
- _____ and J. Raa. 1983. Purification and characterization of pepsins from arctic fish capelin (*Mallotus villosus*). **Comp. Biochem. Physiol. A.** 75: 337-342.
- Gimenez, A.V.F., F.L. Garcia-Carreno, M.A. Navarrete del Toro and J.L. Fenucci. 2001. Digestive proteinases of red shrimp *Ploticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and relationship with molting. **Comp. Biochem. Physiol. B.** 130: 331-338.
- Grizzle, J.M. and W.A. Rogers. 1976. **Anatomy and histology of the channel catfish**. Auburn University Agr. Exp. Sta., Auburn, Alabama, USA.
- Garcia-Carreno, F.L., A. Navarrete del Toro and J.M. Ezquerra. 1997. Digestive shrimp proteases for evaluation of protein digestibility *in vitro*: I. effect of protease inhibitors in protein ingredients. **J. Mar. Biotechnol.** 5: 36-40.

- Hardy, R.W. 1989. Practical feeding Salmon and trout, pp. 185-203. *In* Lovell, T.,ed. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Hepher, B. 1988. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge University Press. New York.
- Hidalgo, M.C., E. Urea and A. Sanz. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutrition habits proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**. 170: 267-283.
- Hinton, D.E. and C.R. Pool. 1976. Ultrastructure of the liver in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **J. Fish Biol.** 8: 209-219.
- Hsu, Y.L. and J.L. Wu. 1979. The relationship between feeding habits and digestive proteases of some freshwater fishes. **Bull. Inst. Zool. Acad. Sinica.** 18(1): 45-53.
- Jens, K., J.B. Peter and H. Thomas. 1996. Comparative growth performance and digestive enzyme activity of juvenile South African abalone *Haliotis midae* fed on diatoms and a practical diet. **Aquaculture**. 140: 75-85.
- Kapoor, B.B., H. Smit and I.A. Verighina. 1975. The alimentary canal and digestion in teleosts. **Adv. Mar. Biol.** 13: 109-239.
- Kendall, M.W. and W.E. Hawkins. 1975. Hepatic morphology and acid phosphatase localization in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **J. Fish Res. Board Can.** 32: 1459-1464.
- Kubota, M. and A. Ohnuma. 1970. Studies on bonito pepsin-I. Purification of pepsin. **Bull. Soc. Sci. Fisheries.** 36: 1147-1156.

- Lemos, D., J.M. Ezquerro and F.L. Garcia-Carreno. 2000. Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. **Aquaculture**. 186: 89-105.
- _____, A. Navarrete del Toro, J.H. Cordova-Murueta and F. Garcia-Carreno. 2004. Testing feeds and feed ingredients for juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: *in vitro* determination of protein digestibility and proteinase inhibition. **Aquaculture**. 239: 307-321.
- Lim, C. and A. Persyn. 1989. Practical feeding: Penaeid shrimps, pp. 205-222. *In* Lovell, T., ed. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Lovell, T. 1975. **How much protein in feeds for channel catfish?** The Commercial Fish Farmer and Aquaculture News, March-April 1975.
- _____. 1989. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Lowry, H.O., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193: 265-275.
- Mangalik, A. 1986. **Dietary energy requirements for channel catfish**. Ph.D. Dissertation, Auburn University, Auburn, Alabama.
- Mendels, M., R. Andreotti and C. Roche. 1976. Measurement of saccharifying cellulase. **Biotechnol. Bioeng. Symp.** 6: 21-33.
- Munilla-Moran, R. and F. Saborido-Rey. 1996. Digestive enzymes in marine species. I. proteinase activities in gut from redfish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Comp. Biochem. Physiol. B.** 113: 395-402.

- Natalia, Y., R. Hashim, A. Ali and A. Chong. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formamus* (Osteoglossidae). **Aquaculture**. 233: 305-320.
- Ng, H.H. and M. Kottelat. 2000. *Helicophagus leptorhynchus*, a new species of molluscivorous catfish from Indochina (Teleostei:Pangasiidae). **Raffles Bull. Zool.** 48: 55-58.
- Nirpjit, D.S. and J. Kaur. 2002. Immobilization, stability and esterification studies of a lipase from a *Bacillus* sp. **Biotechnol. Appl. Biochem.** 36: 7-12
- Pantankar, V.B. 1973. Esterases in the stomach of fish with different food habits. **Folia Histochem. Cytochem.** 11: 253-258.
- Parther, E.E. and R.T. Lovell. 1972. Effect of vitamin fortification in Auburn No. 2 fish feed, pp. 479-483. *In* Proc. S. and E. Assoc., eds. **Game and Fish Comm., No 25.**
- Pavasovic, M., N.A. Richardson, A.J. Anderson, D. Mann and P.B. Mather. 2004. Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. **Aquaculture**. 242: 641-654.
- Rathore, R.M., S. Kumar and R. Chakrabatri. 2005. Digestive enzyme patterns and evaluation of protease classes in *Catla catla* (Family: Cyprinidae) during early development stages. **Comp. Biochem. Physiol. B.** 142: 98-106.
- Reed, G. 1966. Enzymes in food processing, pp 42-171. *In* Stewart, G.F., ed. **Food Science and Technology**. Academic Press, New York and London.
- Roberts, T.R. and C. Vidthayanon. 1991. Systematic revision of Asian catfish family Pangasiidae, with biological observation and descriptions of three new species. **Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia.** 143: 97-144.

- Rungruangsak-Torrissen, K., E. Lied and M. Espe. 1998. Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. **J. Fish Biol.** 45: 1087-1104.
- _____, and R. Male. 2000. Trypsin isozymes: development, digestion and structure, pp. 215-269. In Haard, N.F. and B.K. Simpson, eds. **Seafood enzymes, utilization and influence on postharvest seafood quality**. Marcel Dekker, Inc., New York
- _____, R. Moss, L.H. Andresen, A. Berg and R. Waagbo. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiol. Biochem.** 32: 7-23.
- _____, A. Rustad, J. Sunde, S. Eiane, H. Jensen, J. Opstvedt, E. Nygard, T. Samuelson, H. Mundheim, U. Luzzana and G. Venturini. 2002. *In vitro* digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. **J. Sci. Food Agri.** 82: 644-654.
- Sanz, A., A. Domezain, C. Trenzado and M. Garcia-Callego. 1997. Primera aproximacion al conocimiento de la utilizacion digestive de los macronutrients por el esturion *Acipenser naccarii*, pp. 653-659. In **Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura**. Cartagena, Spain.
- Seitz, E.W. 1974. Industrial application of microbial lipase: a review. **J. Amer. Oil Chem Soc.** 51(2): 12-16.
- Serviere-Zaragoza, E., M.A. Navarrete-Del Toro and F.L. Garcia-Carreno. 1979. Protein hydrolyzing enzymes in the digestive systems of the adult Mexican abalone, *Haliotis fulgens* (Gastropoda). **Aquaculture.** 157: 325-336.

- Simpson, B.K. 2000. Digestive proteases from marine animals, pp. 191-213. *In* Haard, N.F. and B.K. Simpson, eds. **Seafood enzymes**. New York, NY:Marcel Dekker, Inc.
- Singh, R.P. and T. Nose. 1976. Digestibility of carbohydrates in young rainbow trout. **Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. Tokyo**. 17:21-25.
- Sis, R.F., P.J. Ives, D.M. Jones, D.H. Lewis and W.E. Haensly. 1979. The microscopic anatomy of the oesophagus, stomach and intestine of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **J. Fish. Biol.** 14: 179-186.
- Smith, H.M. 1945. The fresh-water fishes of Siam, or Thailand. **Bull. U.S. Natl. Mus.** 188.
- _____, L.S. 1980. Digestion in teleost fishes, pp 3-18. *In* FAO.,ed. **Fish feed technology**. Lectures presented at FAO/UNDP training course at University of Washington, Seattle.
- _____. 1989. Digestive functions in teleost fishes, pp. 331-421. *In* **Fish Nutrition** 2nd ed. Academic Press, Inc. San Diego.
- Sterchi, E.E. and W. Stocker. 1999. **Proteolytic Enzymes Tools and Targets**. Springer-Verlag, Berlin.
- Sunde, J., G.L. Taranger and K. Rungruangsak-Torrissen. 2001. Digestive protease activity and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiol. Biochem.** 25: 335-345.
- Takashima, F. and T. Hibiya. 1995. **An atlas of fish histology**. 2nd ed. Kodansha LTD., Japan.
- Takeuchi, T., T. Watanabe and C. Ogino. 1979. Availability of carbohydrate and lipid as dietary energy sources for carp. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** 45: 977-982

- Torrissen, K.R., E. Lied and M. Espe. 1994. Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. **J. Fish Biol.** 45: 1087-1104
- Vega-Villasante, F., H. Nolasco and R. Civera. 1995. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* properties II of protease activity in the whole digestive tract. **J. Comp. Biochem. Physiol. B.** 112: 123-129
- Verreth, J. and H. Segner. 1995. The impact of development on larval nutrition, p. 98. *In* Laven, P., E. Jasper and I. Roelants, eds. **Larvi'95, Fish and Shellfish Laviculture Symposium.** European Aquaculture Society.
- Vuthiphandachai, V. 1993. Fish nutrition. O.S. Printing House, Bangkok. (in thai) Cited
- Delong, D.C., J.E. Halver and E.T. Mertz. 1958. Nutrition of salmonid fishes VI . Protein requirements of shinook salmon at two water temperatures. **J. Nutr.** 65: 589-599
- Wong, D.W.S. 1995. **Food Enzymes: Structure and Mechanism.** Chapman and Hall, New York.

ภาคผนวก

(ก) การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract โดยวิธีการของ Lowry *et al.* (1951)

สารเคมี: 1. สารละลายมาตรฐานโปรตีน ได้แก่ สารละลาย bovine serum albumin (BSA)

เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. สารละลาย A ประกอบด้วย
 - โซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม
 - น้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร
 - สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 3 นอร์มอล ปริมาตร 35 มิลลิลิตร
3. สารละลาย B ประกอบด้วย
 - คอปเปอร์(II)ซัลเฟต 1 กรัม
 - น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
4. สารละลาย C ประกอบด้วย
 - โพแทสเซียม-โซเดียมทาร์เตรต 2 กรัม
 - น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียม reagent โดยผสมสารละลาย A:B:C = 100:1:1 (โดยผสมสารละลาย B กับ C ให้เข้ากันก่อน จึงผสมสารละลาย A ลงไป)

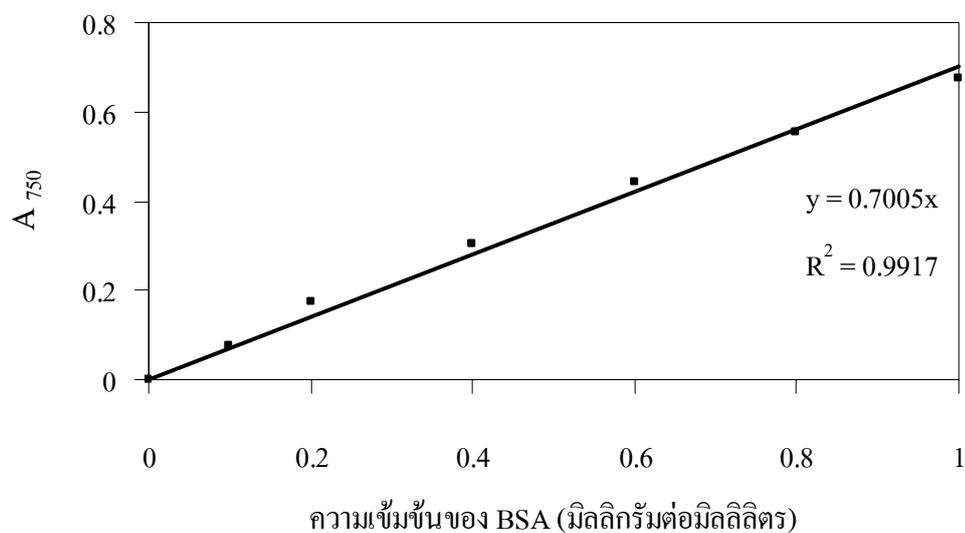
5. Folin-Ciocalteu (ผสมกับน้ำอัตราส่วน 1:1 ก่อนใช้)

วิธีการ: 1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BSA

เตรียมสารละลาย BSA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตมาความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร เติม reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น BSA (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน crude enzyme extract

- 2.1 ปิเปต crude enzyme extract ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (เจือจาง 100 เท่า) ผสมกับ reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
- 2.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที
- 2.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
- 2.4 เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BSA (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

(ข) การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส

สารเคมี: 1. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส เข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

2. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

วิธีการ: 1. เจือจางสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทสให้ได้ความเข้มข้น 0.2-3.0 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทสแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 125 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

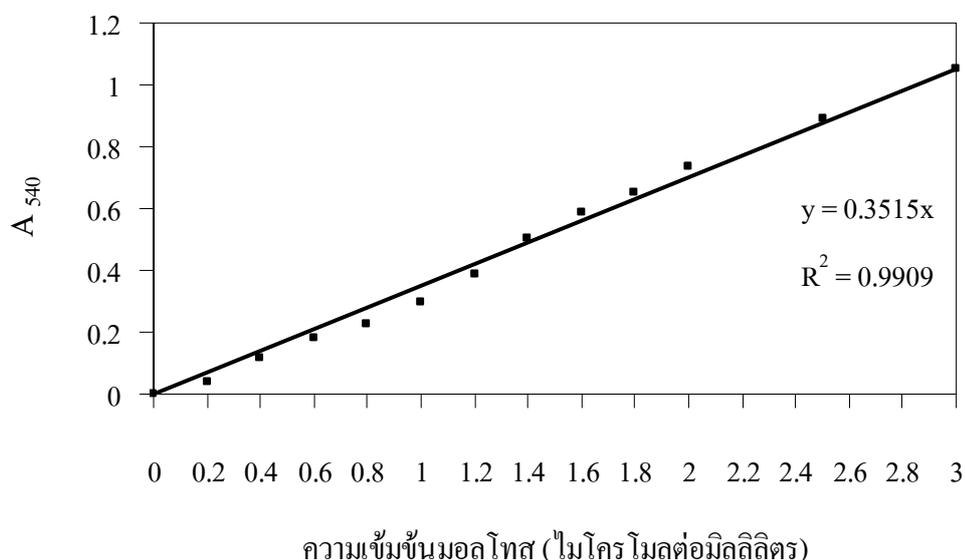
3. เติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

4. ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

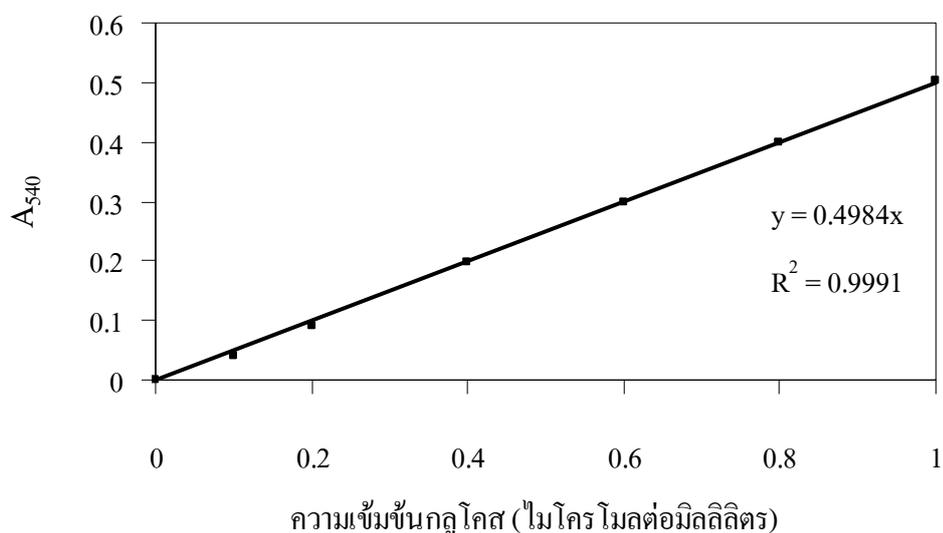


ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

(ค) การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

- สารเคมี: 1. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

- วิธีการ: 1. เจือจางสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 0.2-3.0 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 125 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

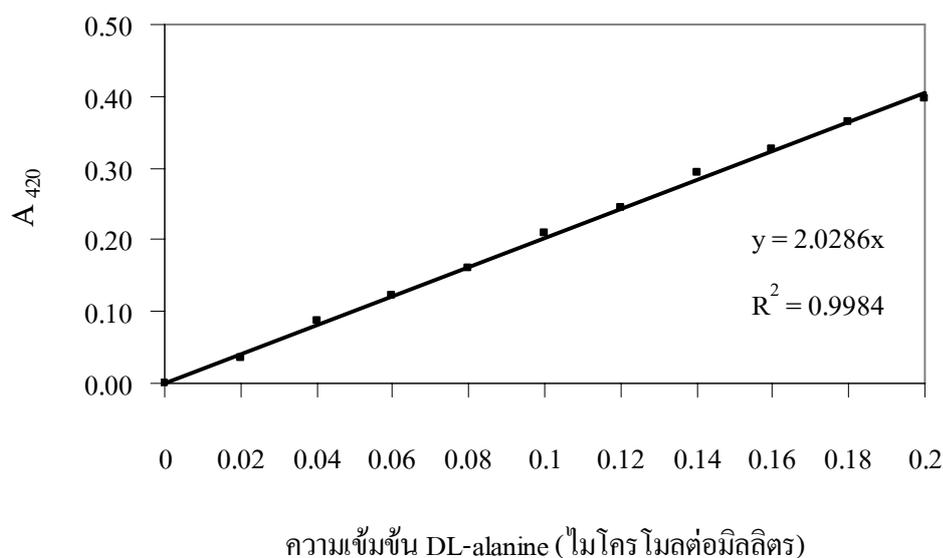


ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

(ง) การเตรียมกราฟมาตรฐาน DL-alanine สำหรับ *in vitro* digestibility

- สารเคมี: 1. สารละลาย มาตรฐาน DL-alanine เข้มข้น 0.02-0.20 ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร
 2. สารละลาย TNBS เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์
 3. กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 โมลาร์

- วิธีการ: 1. เจือจางสารละลาย มาตรฐาน DL-alanine ให้ได้ความเข้มข้น 0.2-3.0 ไมโคร โมลต่อ มิลลิลิตร
 2. ปิ่เปิดสารละลายมาตรฐาน DL-alanine แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย TNBS เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน
 3. บ่มในที่มืดอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
 4. หยุดปฏิกิริยาคด้วยกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร
 5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร
 6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความ เข้มข้นของ DL-alanine (ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

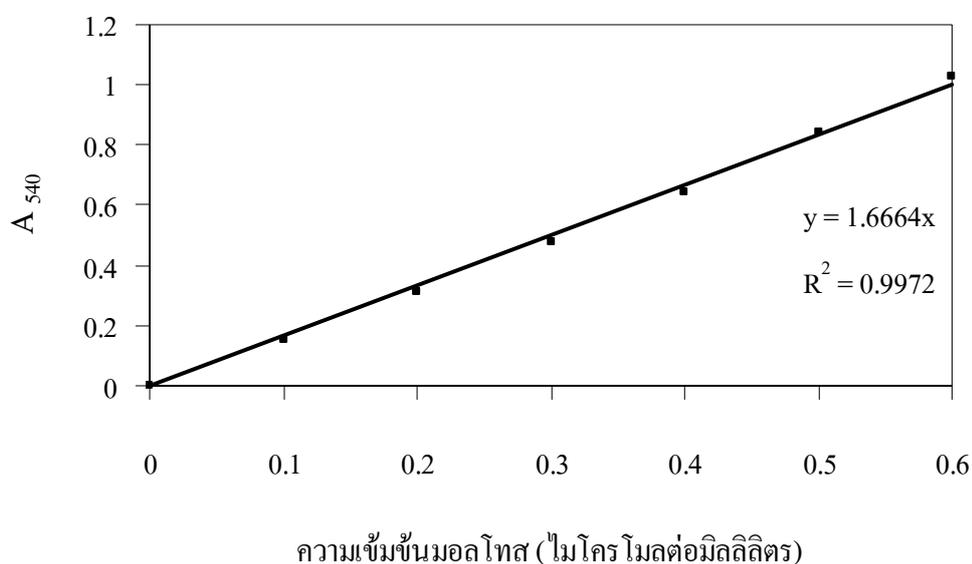


ภาพผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน DL-alanine (ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร

(จ) การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส สำหรับ *in vitro* digestibility

- สารเคมี: 1. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส เข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

- วิธีการ: 1. เจือจางสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทสให้ได้ความเข้มข้น 0.2-3.0 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทสแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลาย DNS เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

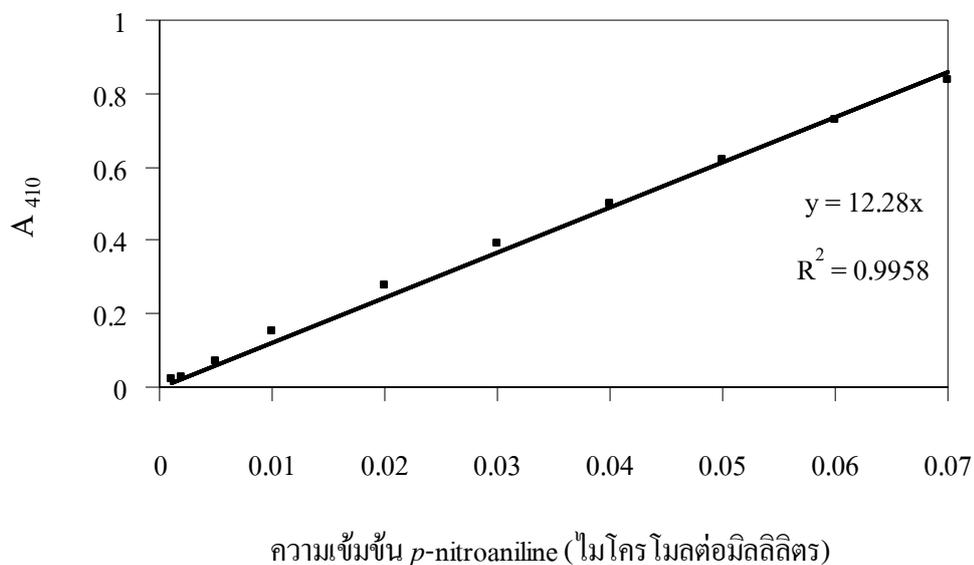


ภาพผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

(จ) การเตรียมกราฟมาตรฐาน *p*-nitroaniline

สารเคมี: 1. สารละลาย *p*-nitroaniline มาตรฐาน เข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรที่มีสารละลาย dimethylformamide เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 8.2

- วิธีการ: 1. เจือจางสารละลาย *p*-nitroaniline มาตรฐาน ให้ได้ความเข้มข้น 0.001-1.0 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลาย *p*-nitroaniline แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวต
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ *p*-nitroaniline (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร



ภาพผนวกที่ 6 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน *p*-nitroaniline (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร

(ข) การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาของอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสายหวน

ตารางผนวกที่ 1 อาหารชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ย่อยอาหาร ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสายหวนระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro* digestibility

วัตถุดิบอาหารสัตว์	อาหารสำเร็จรูป	อาหารที่พบในท้องทางเดินอาหาร
ปลาป่น 1	อาหารกุ้งเล็ก	เนื้อหอย
ปลาป่น 2	อาหารกุ้งโต	
ปลาป่น 3	อาหารปลา 1	
ไก่ป่น	อาหารปลา 2	
เปลือกกุ้งป่น	อาหารปลา 3	
โปรตีนข้าวโพด		
โปรตีนข้าวสาลี		
กากถั่วเหลือง		
กากถั่วลิสง		
กากมะพร้าว		
ปลาขี้ขาวเจ้านิ่ง		
รำละเอียด		
รำหยาบ		
ข้าวโพด		
ข้าวฟ่างขาว		
Red balloon		

หมายเหตุ ปลาป่น 1 คือ ปลาป่น โปรตีน 59% เนื้อหอย คือ เนื้อหอยสองฝา *Corbicula* sp.

ปลาป่น 2 คือ ปลาป่น โปรตีน 52%

ปลาป่น 3 คือ ปลาป่นผสมเปลือกกุ้ง โปรตีน 61%

กากถั่วเหลือง คือ กากถั่วเหลือง โปรตีน 44%

Red balloon คือ สารเหนียว (binder)

กากมะพร้าว คือ กากมะพร้าวคั้นกะทิ

อาหารกุ้งเล็ก คือ อาหารกุ้งก้ามกรามสำเร็จรูประยะวัยอ่อน

อาหารกุ้งโต คือ อาหารกุ้งก้ามกรามสำเร็จรูประยะตัวเต็มวัย

อาหารปลา 1 คือ อาหารปลาสำเร็จรูปสำหรับน้ำจืดและปลาสายหวนทุกชนิด ผสมสาหร่าย 10%

อาหารปลา 2 คือ อาหารปลาสำเร็จรูปสำหรับปลาอะโรวาน่า ผสม mollusks และ crustaceans 54%

อาหารปลา 3 คือ อาหารปลาสำเร็จรูปสำหรับปลาดีสคัส (*Discus*) ชนิดจมน้ำ

ตารางผนวกที่ 2 คุณค่าทางโภชนาของวัตถุดิบอาหารสัตว์บ้างชนิด

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้ง					
	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	ถั่ว	ความชื้น	คาร์โบไฮเดรต
ปลาป่น 55%	55.90	6.24	0.72	25.77	7.94	3.43
ปลาป่น 60%	63.90	6.80	0.60	17.60	7.10	4.00
กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน	39.60	6.93	7.29	6.75	10.00	29.43
ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (ไม่กะเทาะเปลือก)	44.00	1.00	7.00	6.00	10.00	32.00
ถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน (กะเทาะเปลือก)	48.50	1.00	3.50	6.00	10.00	31.00
กากถั่วลิสงอัดน้ำมัน	43.50	7.60	13.30	5.20	7.00	23.40
กากถั่วลิสงสกัดน้ำมัน	51.50	1.40	5.70	5.80	8.40	27.20
ปลายข้าวเจ้า	6.47	1.38	11.15	6.37	11.42	63.21
รำละเอียด	12.38	19.82	6.18	8.60	9.65	44.37
รำข้าวสาลี	16.40	4.50	10.00	6.10	9.90	53.10
กลูเตน	51.13	2.67	1.56	1.01	8.20	35.43
ข้าวฟ่าง	11.80	3.00	2.50	1.30	13.00	53.60
โทลูลาซิสต์	46.50	6.05	0.47	8.00	7.00	31.99
กึ่งป่น	46.70	2.80	11.10	1.30	10.30	27.80
หัวและเปลือกกึ่งป่น	40.60	2.60	14.20	30.00	10.00	2.60
เศษไก่อป่น	57.50	15.00	2.30	15.60	6.50	3.10

ที่มา: วีรพงศ์ (2536)

(ข.1) วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄)
2. ตัวเร่งปฏิกิริยา ประกอบด้วย CuSO₄ 7 กรัม และ K₂SO₄ 100 กรัม
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์
4. สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ผสมอินดิเคเตอร์ (ประกอบด้วยเมธิลเรด 20 มิลลิกรัม และโบรโมครีซอล กรีน 100 มิลลิกรัม ในสารละลายเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร) ประมาณ 4 หยด
5. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์

วิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการย่อยในเครื่องย่อย
 - 1.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหารที่แน่นอน ประมาณ 0.5-1.0 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อย (W1)
 - 1.2 ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยาประมาณ 8 กรัม ลงในหลอดย่อยแต่ละหลอด
 - 1.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นหลอดละ 12 มิลลิลิตร
 - 1.4 ตั้งอุณหภูมิเครื่องย่อยไว้ที่ 420 องศาเซลเซียส
 - 1.5 ตั้งหลอดย่อยบนที่ตั้งหลอด (stand) รอจนอุณหภูมิของเครื่องย่อยเป็น 420 องศาเซลเซียส จึงนำ stand พร้อมหลอดย่อยไปใส่ในเครื่องย่อย สวม exhaust manifold และ aspirator ลงที่ส่วนบนของหลอดย่อย
 - 1.6 เปิด power ของ exhaust manifold ปรับอัตราการดูดอากาศของ exhaust manifold ในช่วง 5 นาทีแรกของการย่อยให้มีอัตราการไหลของอากาศแรงที่สุด หลังจากนั้นจึงปรับลดอัตราการดูดอากาศให้เบาลง
 - 1.7 ย่อยต่อเป็นเวลา 30-45 นาที จนได้สารละลายสีเขียวใส แสดงว่าการย่อยเสร็จสมบูรณ์
 - 1.8 ยก stand พร้อมหลอดย่อยและ exhaust manifold ออกจากเครื่องย่อย
 - 1.9 เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยแต่ละหลอดซึ่งจะทำให้เกิดผลึก เขย่าจนได้สารละลายสีฟ้าใส

2. ขั้นตอนการกลั่นในเครื่องกลั่น รุ่น Kjeltac™ 2100
 - 2.1 เปิดก๊อกหล่อน้ำเย็นที่เครื่อง
 - 2.2 เปิด power ของเครื่องกลั่นตั้งเวลาในการกลั่น 4 นาที
 - 2.3 อุ่นเครื่องกลั่น โดยใช้ erlenmeyer flask เป่ารองรับ และใส่หลอดที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 1/4 ของหลอด เปิดให้อุ่นน้ำกลั่นประมาณ 4 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง
 - 2.4 ปิด power ของเครื่องแล้วเปิดเครื่องอีกครั้ง โดยตั้งเวลาที่ใช้ในการกลั่นประมาณ 4 นาที และปริมาตรค้างที่ใช้ประมาณ 50 มิลลิลิตร
 - 2.5 นำ flask ที่มีสารละลายกรดบอริก เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 50 มิลลิลิตร และอินดิเคเตอร์ ไปตั้งไว้ที่ฐาน โดยให้ปลายแท่งแก้วจุ่มในสารละลาย
 - 2.6 ใส่หลอดย่อยที่เตรียมไว้ในเครื่องกลั่น
 - 2.7 ปิดหน้าต่างป้องกันลงมา กด start เครื่องกลั่นจะเริ่มทำงาน
 - 2.8 เมื่อกลั่นเสร็จแล้วเลื่อนหน้าต่างป้องกันขึ้น และถอดหลอดย่อยออก
 - 2.9 นำ flask ออกมาไทเทรตกับสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนได้สารละลายสีชมพูอ่อน แสดงว่าถึงจุดยุติ จดปริมาตรกรดที่ใช้
 - 2.10 คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากความสัมพันธ์

$$\%N = \frac{1.4 \times (\text{ปริมาตรกรดที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง} - \text{ปริมาตรกรดที่ใช้ไทเทรต blank}) \times \text{ความเข้มข้นกรด (โมลาร์)}}{\text{น้ำหนักสารเริ่มต้น (W1)}}$$

$$\% \text{ โปรตีน} = \% N \times 6.25$$

%N คือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอาหาร ปริมาณ N ที่ได้จะนำมาคำนวณเป็นปริมาณโปรตีนในอาหารทั้งหมดได้ โดยเทียบปริมาณ N ในโปรตีนทั่วไป มีค่าเฉลี่ยเป็น 16 % (100/16 = 6.25)
W1 คือ น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (กรัม)

(ข.2) วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนบนกระดาษกรองเบอร์ 1 ประมาณ 2 กรัม (W1) ห่อให้มิดชิด
2. อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ นาน 15 นาที
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างพร้อมกระดาษกรอง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W2) ใส่งใน thimble
4. เปิด power ของเครื่อง extraction unit ตั้งอุณหภูมิเครื่องไว้ที่ 110 องศาเซลเซียส
5. เปิด cooling unit ซึ่งประกอบด้วยก๊อคน้ำเย็นสำหรับ condensers อุณหภูมิน้ำประมาณ 10 องศาเซลเซียส
6. นำ thimble ใส่งในเครื่องโดยใช้ adaptor สวม
7. เติมตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงใน extraction cups ประมาณ 50 มิลลิลิตร
8. ใส่ง extraction cups เข้าไปในเครื่องพร้อมทั้ง โยกคัน โยกกลาง
9. เลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง boiling ให้ thimble จุ่มอยู่ในตัวทำละลายประมาณ 20 นาที
10. โยกคันโยกมาที่ตำแหน่ง rinsing เพื่อ rinse เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
11. เลื่อนคันโยกขึ้น นำ extraction cups ออก
12. ถอด thimble ออกจากเครื่อง นำตัวอย่างอาหารพร้อมกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อไล่ปิโตรเลียมอีเทอร์ออกให้หมด
13. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์นาน 15 นาที
14. ชั่งน้ำหนักอาหารพร้อมกระดาษกรอง (W3) บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
15. คำนวณหาปริมาณไขมันจากความสัมพัทธ์

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{(W2 - W3)}{W1} \times 100$$

W1 คือ น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (กรัม)

W2 คือ น้ำหนักอาหารก่อนสกัด (กรัม)

W3 คือ น้ำหนักอาหารหลังสกัด (กรัม)

(ข.3) วิธีวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักวัตถุดิบอาหารที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม บันทึกน้ำหนัก (W1)
2. อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมงทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์นาน 15 นาที
3. อบ crucible ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง
4. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นาน 15 นาที ชั่งน้ำหนัก crucible บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W2)
5. เทวัตถุดิบอาหารลงใน crucible เเผาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์นาน 15 นาที
6. ชั่งน้ำหนัก crucible พร้อมเถ้าบันทึกน้ำหนัก (W3)
7. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากความสัมพันธ์

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{(W3-W2)}{W1} \times 100$$

W1 คือ น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (กรัม)

W2 คือ น้ำหนัก crucible (กรัม)

W3 คือ น้ำหนัก crucible รวมอาหารหลังเผา (กรัม)

(ข.4) วิธีวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายเอทานอล เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหารที่เหลือจากการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W1) เทใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 200 มิลลิลิตร
3. ต้มให้เดือดนาน 30 นาที (จับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือด)
4. กรองโดยผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ ใช้น้ำร้อนชะตัวอย่างออกจากบีกเกอร์ให้หมด เก็บตะกอนที่ได้ไว้ในบีกเกอร์เดิม
5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 200 มิลลิลิตร
6. ต้มให้เดือดนาน 30 นาที (จับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือด)
7. กรองโดยผ่านเครื่องกรองสุญญากาศ ใช้น้ำร้อนชะตัวอย่างออกจากบีกเกอร์ให้หมด เก็บตะกอนที่ได้ไว้ใน centrifuge glass
8. ชะด้วยเอทานอล เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 2 มิลลิลิตร กรองโดยผ่านเครื่องกรองสุญญากาศเพื่อไล่น้ำที่เหลือออกให้หมด
9. อบ centrifuge glass ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์
10. ชั่งน้ำหนักตะกอนพร้อมด้วย centrifuge glass บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนไว้ (W2)
11. เผาตะกอนพร้อมด้วย centrifuge glass ที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง
12. นำ centrifuge glass ออก มาอบที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์
13. ชั่งน้ำหนัก centrifuge glass บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W3)

14. คำนวณหาปริมาณเชื้อไขจากความสัมพัทธ์

$$\% \text{เชื้อไข} = \frac{(W2 - W3) \times 100}{W1}$$

W1 คือ น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (กรัม)

W2 คือ น้ำหนักอาหารก่อนเผา (กรัม)

W3 คือ น้ำหนักอาหารหลังเผา (กรัม)

(ข.5) วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่อง (เครื่องจะทำการทดสอบตัวเองโดยอัตโนมัติ)

2. ตั้งค่าโปรแกรมการทำงานของเครื่องดังนี้

อุณหภูมิ : 100 องศาเซลเซียส

เริ่มการทำงาน : โดยปิดฝาครอบ

เวลา : หยุดเองอัตโนมัติ เมื่อความชื้นคงที่

แสดงผล : 0 -100 เปอร์เซนต์ ความชื้น

3. วางจานอลูมิเนียมเปล่าที่อบแล้ว 4 ชั่วโมง อลูมิเนียม 70 องศาเซลเซียส บนแท่นวางงาน ปิดฝาครอบ กด ENTER คำว่า TAR จะหายไป ตัวเลขจะเป็น 0.000 g ถ้าไม่เป็น 0.000 g ให้ CF แล้ว กด ENTER อีกครั้ง

4. เปิดฝาครอบ ใส่ตัวอย่างประมาณ 2 กรัม เกลี่ยให้ทั่วงาน

5. ปิดฝาครอบ เครื่องจะทำงานเองโดยอัตโนมัติ

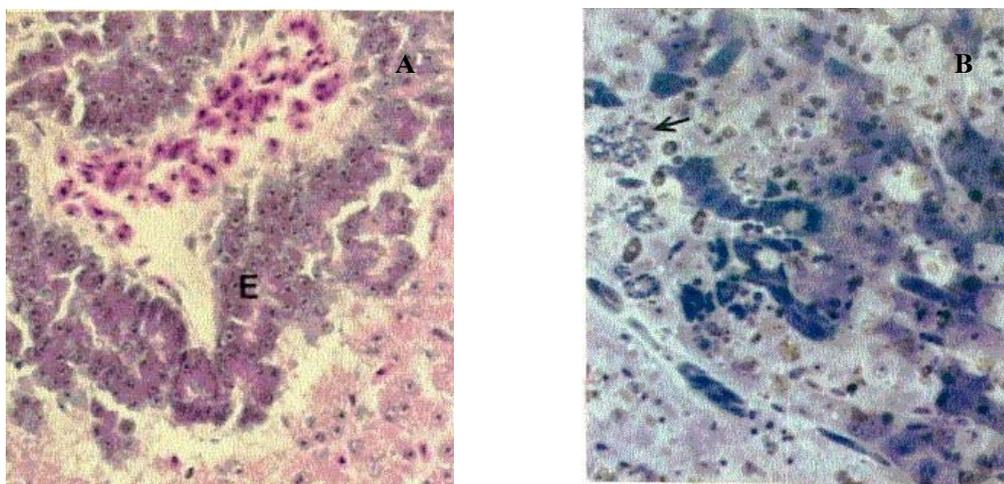
6. เมื่อความชื้นคงที่ เครื่องจะหยุดเองโดยอัตโนมัติ บันทึกความชื้นที่ปรากฏ

$$\% \text{ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

(ข.6) วิธีวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (NFE) (AOAC, 2000) จากความสัมพันธ์

$$\% \text{ คาร์โบไฮเดรต} = 100 - \% \text{ โปรตีน} - \% \text{ ไขมัน} - \% \text{ เยื่อใย} - \% \text{ เถ้า} - \% \text{ ความชื้น}$$

(ข) อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารของปลาสวายหนู



ภาพผนวกที่ 7 ตับของปลาบึกอายุ 3½ ปี ตัดหนาประมาณ 1 ไมครอน (A) exocrine pancreatic cells เรียงตัวอยู่รอบ ๆ เส้นเลือดภายในตับ เซลล์ติดสีเข้มกว่าเซลล์ตับที่อยู่ใกล้เคียง (B) แกรนูลขนาดเล็กภายใน exocrine pancreatic cell (ลูกระสี) (E คือ exocrine pancreatic cells)

ที่มา: คำพอง (2534)

(ณ) ประสิทธิภาพการย่อยอาหารชนิดต่างๆ ของเอนไซม์ย่อยอาหารที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสร้อยหนุระยะวัยอ่อนจนถึงตัวเต็มวัย โดยวิธี *in vitro* digestibility

ตารางผนวกที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่างๆ โดยเอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสร้อยหนุช่วงขนาดน้อยกว่า 5 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
< 5	บดทั้งตัว	ปลาป่น1	110.45±3.27 ^c	3.53±0.32 ^{ab}
		ปลาป่น2	54.84±0.00 ^b	10.13±1.17 ^{fgh}
		ปลาป่น3	105.98±0.00 ^c	9.15±0.21 ^{efg}
		ไก่ป่น	126.93±0.00 ^d	3.98±0.11 ^{ab}
		เนื้อหอย	484.48±1.09 ^l	40.28±0.53 ^l
		เปลือกกุ้งป่น	276.82±0.22 ^h	18.38±0.11 ^j
		โปรตีนข้าวโพด	313.64±0.87 ⁱ	11.63±0.11 ^{hi}
		โปรตีนข้าวสาลี	414.39±0.44 ^k	8.55±0.21 ^{def}
		กากถั่วเหลือง	182.85±0.22 ^f	10.88±0.32 ^{ghi}
		กากถั่วลิสง	253.25±0.00 ^g	5.03±0.74 ^{bc}
		กากมะพร้าว	42.52±0.00 ^a	8.03±0.74 ^{dc}
		ปลายข้าวเจ้านิ่ง	628.51±0.00 ^o	66.54±2.23 ^m
		รำละเอียด	479.70±0.00 ^l	5.33±0.32 ^{bc}
		รำหยาบ	407.61±0.44 ^k	2.85±1.06 ^a
		ข้าวฟ่างขาว	604.33±0.22 ⁿ	9.38±0.11 ^{efg}
		ข้าวโพด	591.23±1.31 ^m	11.48±2.23 ^{hi}
		Red Balloon	388.66±1.96 ^j	60.8±0.32 ^c
		อาหารกุ้งเล็ก	38.20±0.00 ^a	12.75±0.21 ⁱ
		อาหารกุ้งโต	31.43±0.00 ^a	6.68±0.53 ^{cd}
		อาหารปลา1	163.14±3.27 ^c	18.53±0.32 ^{jk}
อาหารปลา2	166.37±0.00 ^f	20.33±1.38 ^k		
อาหารปลา3	121.39±0.00 ^d	10.05±0.64 ^{fgh}		

หมายเหตุ *ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

ตารางผนวกที่ 4 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดย
 เอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาด 5-20 เซนติเมตร
 วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
5-20	HP	ปลาป่น1	192.25±10.46 ^c	15.53±0.53 ^{ef}
		ปลาป่น2	187.01±2.18 ^{bc}	13.20±0.00 ^d
		ปลาป่น3	182.70±4.79 ^b	11.55±0.21 ^c
		ไก่ป่น	228.45±3.27 ^c	7.35±0.21 ^b
		เนื้อหอย	502.66±0.65 ^{ij}	63.46±0.21 ^k
		เปลือกกุ้งป่น	545.63±1.31 ^k	14.85±1.06 ^{ef}
		โปรตีนข้าวโพด	509.90±2.18 ^j	33.61±0.85 ⁱ
		โปรตีนข้าวสาลี	556.42±4.36 ^l	25.58±0.11 ^h
		กากถั่วเหลือง	318.57±0.87 ^h	22.05±1.06 ^g
		กากถั่วลิสง	496.65±1.74 ⁱ	22.50±0.42 ^g
		กากมะพร้าว	29.42±4.14 ^a	10.28±0.53 ^c
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	787.49±0.00 ^p	142.97±0.64 ^l
		รำละเอียด	560.73±0.87 ^l	14.70±0.00 ^{de}
		รำหยาบ	554.88±1.31 ^l	8.40±0.00 ^b
		ข้าวฟ่างขาว	753.14±0.65 ^o	9.60±0.00 ^c
		ข้าวโพด	717.09±1.09 ⁿ	22.73±1.38 ^g
		Red Balloon	678.58±1.52 ^m	4.80±0.00 ^a
		อาหารกุ้งเล็ก	277.13±1.09 ^f	13.73±0.32 ^{de}
		อาหารกุ้งโต	216.28±0.87 ^d	16.05±0.64 ^f
		อาหารปลา1	319.65±0.51 ^h	56.78±0.74 ^j
อาหารปลา2	293.61±2.18 ^g	23.10±0.42 ^g		
อาหารปลา3	313.02±3.49 ^h	22.13±0.32 ^g		

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
5-20	S+I	ปลาป่น1	63.47±14.81 ^d	23.18±1.80 ⁱ
		ปลาป่น2	34.20±3.05 ^b	10.95±0.64 ^{igh}
		ปลาป่น3	51.45±1.31 ^c	17.33±1.17 ^{efg}
		ไก่ป่น	172.38±0.65 ^j	8.18±0.11 ^{ab}
		เนื้อหอย	490.49±1.74 ^r	42.83±1.59 ^l
		เปลือกกุ้งป่น	460.29±0.87 ^q	28.80±0.85 ^j
		โปรตีนข้าวโพด	432.72±38.12 ^l	18.98±0.11 ^{hi}
		โปรตีนข้าวสาลี	405.91±0.22 ^p	21.68±0.32 ^{def}
		กากถั่วเหลือง	64.70±0.87 ^d	29.33±0.32 ^{ghi}
		กากถั่วลิสง	266.96±1.52 ^m	16.95±0.64 ^{bc}
		กากมะพร้าว	2.16±0.44 ^a	6.90±0.42 ^{de}
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	295.92±1.09 ⁿ	86.79±0.11 ^m
		รำละเอียด	101.98±0.44 ^{fg}	10.73±0.53 ^{bc}
		รำหยาบ	96.74±0.87 ^{ef}	12.60±0.85 ^a
		ข้าวฟ่างขาว	395.13±0.22 ^o	9.75±0.21 ^{efg}
		ข้าวโพด	187.63±2.18 ^k	10.88±0.32 ^{hi}
		Red Balloon	106.60±0.87 ^g	20.18±0.95 ^c
		อาหารกุ้งเล็ก	225.37±1.09 ^l	31.05±0.21 ⁱ
		อาหารกุ้งโต	131.09±0.22 ^h	2.18±1.80 ^{cd}
		อาหารปลา1	150.20±0.65 ⁱ	22.28±0.32 ^{jk}
อาหารปลา2	89.35±0.87 ^c	19.35±0.21 ^k		
อาหารปลา3	183.93±1.31 ^k	15.45±0.64 ^{igh}		

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนแครีซ

S+I คือ กระเพาะอาหารรวมลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

ตารางผนวกที่ 5 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดย
 เอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาด 21-35 เซนติเมตร
 วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
21-35	HP	ปลาป่น1	687.17 \pm 1.80 ^{bc}	36.01 \pm 0.00 ^f
		ปลาป่น2	712.44 \pm 35.04 ^{bcd}	12.23 \pm 0.11 ^b
		ปลาป่น3	645.30 \pm 32.79 ^b	19.20 \pm 0.00 ^d
		ไก่ป่น	698.22 \pm 31.44 ^{bcd}	11.48 \pm 0.53 ^b
		เนื้อหอย	1249.86 \pm 26.95 ^{fg}	80.26 \pm 1.06 ^l
		เปลือกกุ้งป่น	1302.42 \pm 6.29 ^{fgh}	16.20 \pm 0.00 ^c
		โปรตีนข้าวโพด	984.02 \pm 40.88 ^e	59.78 \pm 0.95 ^k
		โปรตีนข้าวสาลี	1259.37 \pm 148.68 ^{fgh}	49.43 \pm 1.59 ^j
		กากถั่วเหลือง	1023.69 \pm 43.57 ^c	11.18 \pm 0.95 ^b
		กากถั่วลิสง	814.21 \pm 58.84 ^d	44.63 \pm 0.74 ⁱ
		กากมะพร้าว	60.02 \pm 8.98 ^a	6.30 \pm 0.42 ^a
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	1381.13 \pm 95.68 ^{gh}	207.63 \pm 1.70 ⁿ
		รำละเอียด	1289.63 \pm 40.88 ^{fgh}	16.65 \pm 1.06 ^c
		รำหยาบ	1298.71 \pm 89.39 ^{fgh}	11.48 \pm 2.23 ^b
		ข้าวฟ่างขาว	1388.77 \pm 74.56 ^h	41.48 \pm 0.32 ^h
		ข้าวโพด	1370.48 \pm 87.14 ^{gh}	81.31 \pm 2.12 ^l
		Red Balloon	1187.08 \pm 93.43 ^f	9.75 \pm 0.21 ^b
		อาหารกุ้งเล็ก	660.52 \pm 26.95 ^{bc}	39.08 \pm 0.32 ^g
		อาหารกุ้งโต	638.98 \pm 34.14 ^b	36.53 \pm 0.32 ^f
		อาหารปลา1	761.98 \pm 26.95 ^{bcd}	96.47 \pm 1.91 ^m
อาหารปลา2	672.28 \pm 0.45 ^{bc}	82.96 \pm 0.64 ^l		
อาหารปลา3	782.38 \pm 44.02 ^{cd}	29.63 \pm 1.59 ^c		

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
21-35	S	ปลาป่น1	140.34 \pm 9.37 ⁱ	39.68 \pm 1.17 ^h
		ปลาป่น2	28.50 \pm 2.40 ^b	9.60 \pm 1.70 ^b
		ปลาป่น3	51.45 \pm 3.92 ^d	11.55 \pm 2.76 ^b
		ไก่ป่น	11.38 \pm 3.27 ^g	14.33 \pm 1.17 ^c
		เนื้อหอย	361.55 \pm 7.19 ⁿ	83.97 \pm 0.54 ^m
		เปลือกกุ้งป่น	439.96 \pm 5.23 ^o	21.23 \pm 0.95 ^d
		โปรตีนข้าวโพด	38.67 \pm 1.52 ^c	57.46 \pm 1.06 ^j
		โปรตีนข้าวสาลี	367.56 \pm 2.18 ⁿ	44.82 \pm 0.80 ⁱ
		กากถั่วเหลือง	69.32 \pm 3.05 ^c	41.59 \pm 0.80 ^h
		กากถั่วลิสง	106.91 \pm 3.92 ^g	30.18 \pm 0.20 ^c
		กากมะพร้าว	12.79 \pm 3.70 ^a	9.90 \pm 0.42 ^b
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	214.28 \pm 5.88 ^l	137.05 \pm 1.59 ⁿ
		รำละเอียด	152.97 \pm 1.09 ^j	19.88 \pm 0.32 ^d
		รำหยาบ	125.09 \pm 0.87 ^h	10.13 \pm 0.53 ^b
		ข้าวฟ่างขาว	202.11 \pm 5.23 ^k	40.66 \pm 0.64 ^h
		ข้าวโพด	239.39 \pm 0.44 ^m	73.78 \pm 0.01 ^l
		Red Balloon	34.81 \pm 2.18 ^{bc}	6.29 \pm 1.45 ^a
		อาหารกุ้งเล็ก	221.06 \pm 1.52 ^l	37.06 \pm 1.49 ^g
		อาหารกุ้งโต	56.84 \pm 5.88 ^d	9.15 \pm 1.91 ^b
		อาหารปลา1	110.45 \pm 1.52 ^g	65.34 \pm 0.32 ^k
		อาหารปลา2	126.63 \pm 9.15 ^h	45.53 \pm 0.32 ⁱ
อาหารปลา3	87.65 \pm 1.09 ^f	34.06 \pm 0.64 ^f		

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
21-35	I	ปลาป่น1	271.28 \pm 4.57 ^h	45.20 \pm 0.47 ^k
		ปลาป่น2	224.29 \pm 5.23 ^c	17.25 \pm 0.21 ^b
		ปลาป่น3	263.88 \pm 1.09 ^{gh}	25.35 \pm 0.64 ^d
		ไก่ป่น	152.20 \pm 0.87 ^c	12.68 \pm 0.32 ^a
		เนื้อหอย	640.99 \pm 4.14 ⁿ	122.12 \pm 0.42 ^f
		เปลือกกุ้งป่น	565.51 \pm 9.80 ^m	29.51 \pm 0.24 ^c
		โปรตีนข้าวโพด	257.57 \pm 0.00 ^{fg}	86.49 \pm 0.36 ^p
		โปรตีนข้าวสาลี	975.58 \pm 1.96 ^p	53.31 \pm 0.80 ^l
		กากถั่วเหลือง	189.17 \pm 6.10 ^d	36.71 \pm 0.33 ^e
		กากถั่วลิสง	380.96 \pm 1.09 ^k	40.13 \pm 0.32 ^h
		กากมะพร้าว	8.78 \pm 8.93 ^a	18.23 \pm 0.11 ^b
		ปลายข้าวเจ้านิ่ง	441.65 \pm 5.01 ^l	198.56 \pm 0.53 ^s
		รำละเอียด	272.82 \pm 2.18 ^h	31.66 \pm 0.21 ^f
		รำหยาบ	231.38 \pm 3.49 ^c	18.08 \pm 0.53 ^b
		ข้าวฟ่างขาว	667.95 \pm 6.54 ^o	59.52 \pm 0.62 ^m
		ข้าวโพด	340.44 \pm 2.18 ^j	75.54 \pm 0.32 ^o
		Red Balloon	249.86 \pm 3.27 ^f	22.58 \pm 0.74 ^c
		อาหารกุ้งเล็ก	289.15 \pm 2.61 ⁱ	43.70 \pm 0.65 ^j
		อาหารกุ้งโต	67.16 \pm 1.31 ^b	41.55 \pm 0.30 ⁱ
		อาหารปลา1	158.67 \pm 1.31 ^c	100.10 \pm 0.37 ^q
อาหารปลา2	151.27 \pm 3.27 ^c	64.81 \pm 0.85 ⁿ		
อาหารปลา3	193.95 \pm 0.00 ^d	32.93 \pm 0.32 ^f		

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนแครีซ

S คือ กระเพาะอาหาร

I คือ ลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

ตารางผนวกที่ 6 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ โดย
 เอนไซม์ที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาสวายหนูช่วงขนาดมากกว่า 35
 เซนติเมตร วิเคราะห์โดยวิธี *in vitro* digestibility

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
>35	HP	ปลาป่น1	986.05±225.49 ^{bc}	49.77±2.17 ^{bcd}
		ปลาป่น2	977.81±0.22 ^{bc}	21.81±2.47 ^{ab}
		ปลาป่น3	1095.53±5.17 ^{bcd}	21.60±0.42 ^{ab}
		ไก่ป่น	1097.95±90.51 ^{bcd}	7.01±1.33 ^a
		เนื้อหอย	1417.41±198.32 ^{efg}	139.22±7.21 ^h
		เปลือกกุ้งป่น	1427.40±229.76 ^{efg}	39.66±3.47 ^{abcd}
		โปรตีนข้าวโพด	1281.48±6.06 ^{def}	98.02±3.32 ^{abcd}
		โปรตีนข้าวสาลี	1424.70±208.20 ^{efg}	67.40±4.51 ^{cdefg}
		กากถั่วเหลือง	1135.33±305.67 ^{cd}	46.43±2.02 ^{bcd}
		กากถั่วลิสง	1211.39±28.07 ^{cd}	43.30±2.47 ^{abcd}
		กากมะพร้าว	285.37±3.82 ^{dc}	16.97±0.61 ^{abcd}
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	1522.94±348.34 ^a	327.16±2.39 ^j
		รำละเอียด	1413.02±201.46 ^{efg}	34.34±2.10 ^{abc}
		รำหยาบ	1437.99±251.77 ^{efg}	14.96±1.54 ^{ab}
		ข้าวฟ่างขาว	1451.82±240.09 ^{fg}	72.24±2.23 ^{ddefg}
		ข้าวโพด	1440.99±287.03 ^{efg}	82.18±10.02 ^{efg}
		Red Balloon	867.24±17.52 ^b	14.21±1.01 ^{ab}
		อาหารกุ้งเล็ก	861.09±47.84 ^b	60.53±2.65 ^{cdef}
		อาหารกุ้งโต	868.78±23.58 ^b	88.63±3.77 ^{fg}
		อาหารปลา1	1240.79±14.60 ^{def}	188.66±69.70 ⁱ
อาหารปลา2	911.45±25.60 ^{bc}	93.39±3.71 ^{fg}		
อาหารปลา3	1118.43±2.25 ^{cd}	43.54±5.04 ^{abcd}		

ตารางผนวกที่ 6 (ต่อ)

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
>35	S	ปลาป่น1	161.06 \pm 3.59 ^c	62.29 \pm 2.82 ^h
		ปลาป่น2	211.51 \pm 1.09 ^{gh}	13.84 \pm 1.86 ^{bc}
		ปลาป่น3	229.07 \pm 1.96 ^{ij}	24.49 \pm 0.58 ^d
		ไก่ป่น	131.56 \pm 0.87 ^d	5.69 \pm 0.54 ^a
		เนื้อหอย	570.13 \pm 6.75 ⁿ	155.45 \pm 2.40 ^m
		เปลือกกุ้งป่น	569.05 \pm 1.31 ⁿ	29.94 \pm 2.45 ^c
		โปรตีนข้าวโพด	83.19 \pm 1.74 ^{bc}	92.37 \pm 0.99 ^k
		โปรตีนข้าวสาลี	471.08 \pm 3.05 ^m	61.30 \pm 1.41 ^h
		กากถั่วเหลือง	131.25 \pm 1.31 ^d	46.62 \pm 0.69 ^g
		กากถั่วลิสง	154.82 \pm 2.83 ^c	45.70 \pm 0.61 ^g
		กากมะพร้าว	20.49 \pm 0.65 ^a	12.88 \pm 0.93 ^b
		ปลายข้าวเจ้านึ่ง	305.32 \pm 3.49 ^l	316.33 \pm 2.02 ⁿ
		รำละเอียด	178.08 \pm 2.18 ^f	36.00 \pm 0.2 ^f
		รำหยาบ	219.21 \pm 1.09 ^{hi}	16.04 \pm 0.33 ^{bc}
		ข้าวฟ่างขาว	287.91 \pm 8.50 ^k	72.22 \pm 0.34 ⁱ
		ข้าวโพด	313.95 \pm 1.74 ^l	81.75 \pm 0.09 ^j
		Red Balloon	94.89 \pm 4.79 ^c	16.87 \pm 0.44 ^c
		อาหารกุ้งเล็ก	236.31 \pm 1.74 ^j	60.69 \pm 0.84 ^h
		อาหารกุ้งโต	70.55 \pm 0.87 ^b	93.22 \pm 0.56 ^k
		อาหารปลา1	224.45 \pm 1.96 ^{hij}	118.58 \pm 3.69 ^l
		อาหารปลา2	202.42 \pm 0.87 ^g	78.69 \pm 3.50 ^j
		อาหารปลา3	95.36 \pm 1.09 ^c	36.55 \pm 1.19 ^f

ตารางผนวกที่ 6 (ต่อ)

ขนาด (เซนติเมตร)	อวัยวะที่ ทดสอบ	*ชนิดอาหาร	ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน $\mu\text{mol DL-alanine/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)	ประสิทธิภาพการย่อย คาร์โบไฮเดรต $\mu\text{mol maltose/mg substrate}$ ($\times 10^{-3}$)
>35	I	ปลาป่น1	321.34±66.66 ^f	63.37±4.45 ^{cd}
		ปลาป่น2	439.34±28.32 ^h	10.71±2.17 ^a
		ปลาป่น3	490.02±14.16 ⁱ	19.43±1.27 ^a
		ไก่ป่น	193.64±0.65 ^c	6.75±0.61 ^a
		เนื้อหอย	1060.15±0.00 ^c	156.74±15.77 ^h
		เปลือกกุ้งป่น	785.18±9.80 ^m	33.11±4.07 ^b
		โปรตีนข้าวโพด	347.68±1.96 ^g	90.14±1.40 ^f
		โปรตีนข้าวสาลี	1226.83±11.33 ^p	59.24±7.92 ^c
		กากถั่วเหลือง	286.37±5.88 ^c	44.96±0.60 ^b
		กากถั่วลิสง	627.43±0.65 ^l	45.72±0.19 ^b
		กากมะพร้าว	53.30±1.31 ^a	12.43±0.79 ^a
		ปลาข้าวเจ้านี้้ง	577.98±1.74 ^k	294.19±41.86 ⁱ
		รำละเอียด	374.33±0.87 ^g	36.59±3.68 ^b
		รำหยาบ	358.31±10.46 ^g	16.95±0.87 ^a
		ข้าวฟ่างขาว	1012.40±0.44 ⁿ	73.51±2.18 ^{dc}
		ข้าวโพด	552.57±6.32 ^j	80.49±3.05 ^{ef}
		Red Balloon	229.68±0.22 ^d	18.86±0.99 ^a
		อาหารกุ้งเล็ก	290.22±2.61 ^{be}	61.33±0.55 ^{cd}
		อาหารกุ้งโต	156.05±0.22 ^b	90.13±1.44 ^f
		อาหารปลา1	176.54±0.44 ^{bc}	111.96±6.38 ^g
อาหารปลา2	350.92±4.36 ^g	73.45±5.32 ^{dc}		
อาหารปลา3	195.18±1.09 ^d	35.03±1.37 ^b		

หมายเหตุ HP คือ เฮฟาโตแพนแครีซ

S คือ ภาวะอาหาร

I คือ ลำไส้

*ดูรายละเอียดที่ตารางผนวกที่1

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจันทกานต์ นุชสุข
วัน เดือน ปี ที่เกิด	11 มิถุนายน พ.ศ. 2525
สถานที่เกิด	จังหวัดนครสวรรค์
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2548
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-