วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

ประสิทธิภาพการย่อยมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารของปลานิลเพื่อการใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารปลา

In vitro digestibility of native yam with digestive enzymes of tilapia for utilization in food production

จุลทรรศน์ คีรีแลง[1]*, เชาวลีย์ ใจสุข[1], บรรจง อูปแก้ว[1], บุษบา มะโนแสน[1], จิรรัชต์ กันทะขู้[1], ภาณุพงศ์ สิทธิวุฒิ[1], พัชรา นิธิโรจน์ภักดี[2] และ กรรณิกา กังคำ[3]

Julatat Keereelang[1]*, Chaowalee Jaisuk[1], Bunjong Oupkaew[1], Busaba Manosan[1], Jirarat Kantakoo[1], Panupong Sitiwut[1], Patchara Nithirojpakdee[2] and Kanika Kungkum[3]

[1] *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน จังหวัดน่าน 55000*
[1] *Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Nan Campus, Nan, 55000, Thailand*
[2] *คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 22210*
[2] *Faculty of Argo-Industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-Ok, Chanthaburi Campus, Chanthaburi, 22210, Thailand*
[3] *สำนักงานประมงจังหวัดน่าน 55000*
[3] *Nan provincial fisheries office, Nan, Thailand*

บทคัดย่อ: การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบจากมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารของปลานิลเพื่อการใช้ประโยชน์เพื่อเป็นโมเดลในการผลิตอาหารเพื่อลดต้นทุนสำหรับเลี้ยงปลาเศรษฐกิจ โดยได้ทำการศึกษาเอนไซม์ย่อยอาหารในปลานิล จากการศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ทริปซิน และไคโมทริปซิน ที่สกัดจากลำไส้ปลานิล พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1703 ± 0.02, 0.4057 ± 0.05, 0.1244 ± 0.02 และ 0.3371 ± 0.06 umol/mg protein ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิด พบว่า เอนไซม์ย่อยอาหารในปลานิลมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในมันพื้นบ้านได้ดีที่สุด 5 อันดับแรก คือ มันออน มันเหยือก มันอ้อนบ่อเกลือ มันปลา และมันเลือดนก โดยมีค่าเท่ากับ 2,361.7 ± 82.6, 2,344.1 ± 260.6, 2,254.4 ± 144.6, 2,131.0 ± 79.8 และ 2,003.9 ± 24.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มันออน มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันเหยือก มันอ้อนบ่อเกลือ มันปลา มันเลือดนก มันซา มันมือเสือ และมันพร้าวยาว ส่วนประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลานิลสามารถย่อยมันพื้นบ้านได้ดีที่สุด 5 อันดับแรก คือ มันอ้อนบ่อเกลือ มันออน มันเหลี่ยม มันเลือดนก และมันกล่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 7,940.4 ± 600.7, 6,777.5 ± 36.6, 6,736.9 ± 477.1, 6,524.1 ± 109.7 และ 5,574.0 ± 4.2 umol maltose/ g feed/ amylase activity ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มันอ้อนบ่อเกลือ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันออน โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1,617.0 ± 388.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และ 4,974.7 ± 973.2 umol maltose/g feed/amylase activity ตามลำดับ กล่าวได้ว่าผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิดมันพื้นบ้านที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิล คือ มันออน และมันอ้อนบ่อเกลือ

คำสำคัญ: มันพื้นบ้าน; เอนไซม์; ปลานิล; การผลิตอาหาร

* Corresponding author: julatat999@gmail.com

Received: date; August 10, 2023 Revised: date; January 23, 2024

Accepted: date; March 19, 2024 Published: date; July 8, 2024

ABSTRACT: The Study of digestion efficiency of native yams with Nile tilapia digestive enzymes can be used as a model for feed cost reduction in economic fish culture. Activity of amylase, protease, trypsin, and chymotrypsin from tilapia intestines was investigated. It was found that the enzyme activity had average values of 0.1703 ± 0.02, 0.4057 ± 0.05, 0.1244 ± 0.02 and 0.3371 ± 0.06 umol/mg protein, respectively. The efficiency of protein and carbohydrate digestion of 30 different native yams shows that the tilapia digestive enzymes exhibited the best efficiency in digesting protein of the top five native yams- including Man On, Man Yueak, Man Aon Bokluea, Man Pla and Man Lueat Nok. The values were 2,361.7 ± 82.6, 2,344.1 ± 260.6, 2,254.4 ± 144.6, 2,131.0 ± 79.8 and 2,003.9 ± 24.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity, respectively. Based on the statistical analysis, Man On exhibited no significant difference compared to Man Yueak, Man Aon Bokluea, Man Pla, Man Lueat Nok, Man Sa, Man Mue Suea and Man Phrao Yao. Additionally, the top five native yams showing the highest carbohydrate-digesting enzyme activity were Man Aon Bokluea, Man On, Man Liam, Man Lueat Nok and Man Klam with values of 7,940.4 ± 600.7, 6,777.5 ± 36.6, 6,736.9 ± 477.1, 6,524.1 ± 109.7 and 5,574.0 ± 4.2 umol maltose/ g feed/ amylase activity, respectively. Man Aon Bokluea exhibited no significant difference in carbohydrate digestion efficiency compared to Man On. The Average protein and carbohydrate digestion efficiency in 30 different native yams were equivalent to 1,617.0 ± 388.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity and 4,974.7 ± 973.2 umol maltose/g feed/amylase activity, respectively. Based on the results, the protein and carbohydrate digestion efficiency of all 30 native yams are variable. Among them, two the most suitable yams for tilapia feed production were Man On and Man Aon Bokluea.
Keywords: native yam; digestive enzymes; tilapia; feed production

บทนำ

ปลานิลจัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญมีความต้องการอย่างต่อเนื่องและมากขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพและมีความนิยมบริโภค โดยในปี 2565 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะเลี้ยงปลานิล 436,500 ไร่ มีผลผลิตปลานิล 246,192 ตัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 564 กิโลกรัม ลดลงจากปี 2564 (253,489 ตัน) เนื่องจากเกษตรกรลดการเลี้ยงลง อันเนื่องมาจากปัจจัยด้านการผลิตสูง เช่น ค่าอาหาร ค่าเชื้ออเพลิง และสภาพอากาศแปรปรวน ทำให้เกษตรกรในพื้นที่เลี้ยงปลานิลได้รับผลกระทบ (สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย, 2566) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงปลานิลต้นทุนสำคัญคืออาหารสำเร็จรูป แต่ด้วยการเปลี่ยนแปลงของสถานการณ์เศรษฐกิจของโลกได้ส่งผลกระทบในหลาย ๆ กิจการ รวมถึงอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำซึ่งส่งผลให้ราคาอาหารสำเร็จรูปมีราคาสูงขึ้น เนื่องจากการผลิตอาหารสัตว์น้ำวัตถุดิบหลายชนิดเป็นสินค้านำเข้า เช่น ปลาป่น ราคา 40 - 60 บาทต่อกิโลกรัม กากถั่วเหลืองมีราคา 20 - 30 บาทต่อกิโลกรัม (กรมการค้าภายใน, 2566) ซึ่งปัจจุบันมีราคาสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำกล่าวได้ว่าอาหารนับได้ว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อต้นทุนในการเลี้ยง โดยมากกว่า 50% ของต้นทุนการผลิตทั้งหมดเป็นค่าอาหารในการเลี้ยงสัตว์น้ำ (ธนาภรณ์, 2557) หากเกษตรกรสามารถลดต้นทุนค่าอาหารจากการเลี้ยงได้ จะทำให้มีผลกำไรเพิ่มมากขึ้น การนำวัตถุดิบที่มีคุณค่าทางโภชนะ ซึ่งเป็นวัตถุดิบท้องถิ่นที่มีราคาถูกและหาได้ง่าย จึงเหมาะที่จะนำมาทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาแพง ทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงได้ (อรพินท์, 2554)

การใช้มันพื้นบ้านทดแทนวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารเลี้ยงปลานิลเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดต้นทุนในการผลิต โดยในประเทศไทยพบมันพื้นบ้านในกลุ่ม Dioscorea ในบางภูมิภาคของประเทศไทย โดยมันที่พบจะมีชื่อสามัญเรียกแตกต่างกันไปตามท้องถิ่น ในจังหวัดน่านสามารถพบมันพื้นบ้านได้ทั่วไปหลากหลายชนิด และบางชนิดมีจำนวนมาก ในการเพาะปลูกมันพื้นบ้านจะมีการปลูกในระดับครัวเรือนสำหรับใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภคโดยตรง และอาจมีเหลือเกินการบริโภคเพราะมันบางชนิดมีขนาดหัวใหญ่ โดยหนึ่งหัวจะมีขนาดแตกต่างกันไปตั้งแต่ขนาด 1 - 5 กิโลกรัมขึ้นอยู่กับชนิดของมัน นอกจากนี้มันพื้นบ้านยังเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ดีแล้ว มันพื้นบ้านยังมีโปรตีนสูง โดยมีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 60 – 80 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนประมาณ 8 – 12 เปอร์เซ็นต์ (สมนึก และคณะ, 2561) มีหลายการศึกษาที่พัฒนาแนวทางการผลิตอาหารสัตว์น้ำราคาประหยัด ลดต้นทุนการผลิต และมีการพัฒนาสูตรอาหารสัตว์น้ำให้มีประสิทธิภาพในการเลี้ยงที่ให้อัตราการเจริญเติบโตดี โดยใช้ทรัพยากรธรรมชาติและเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น มีจำนวนมากเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบผลิตอาหารสัตว์น้ำ ทดแทนหรือลดการใช้วัตถุดิบอาหารที่มีราคาแพง ดังเช่น สิทธิชัย และคณะ (2562) ได้ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังและเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในสูตรอาหารปลานิลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้และการเจริญเติบโต พบว่าสามารถใช้ทดแทนปลายข้าวในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลได้ 8% นอกจากนี้ได้มีการใช้เมล็ดถั่วพลูป่นในสูตร

อาหารเลี้ยงปลานิล พบว่า สามารถใช้เมล็ดถั่วพูป่นในสูตรอาหารเลี้ยงปลานิลได้ถึง 30% โดยไม่ส่งผล กระทบต่อการเจริญเติบโตและการรอดตาย (สราววุธ และ พรพรรณ, 2563) โฉมอนันต์ และคณะ (2564) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบจากกล้วยด้วยเอนไซม์จากอวัยวะย่อยอาหารของปลาหมอไทยด้วยวิธี *in vitro* digestibility เพื่อคัดเลือกวัตถุดิบที่ถูกย่อยได้ดีที่สุด นำไปผลิตอาหารปลาหมอ พบว่าวัตถุดิบที่เอนไซม์ของปลาหมอไทยสามารถย่อยได้ดีและเหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นอาหารปลาหมอไทย คือ กล้วยไข่สุก กล้วยน้ำว้าสุก และกล้วยหอมดิบ

การศึกษานี้จึงได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการย่อยมันพื้นบ้านโดยวิธี *in vitro* digestibility ด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารของปลานิลโดยวิธี *in vitro* digestibility ซึ่งเป็นเทคนิคที่เหมาะสมต่อการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยเนื่องจากสามารถควบคุมปัจจัยจากสภาพแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการย่อย สะดวก ใช้เวลาน้อย (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002) เพื่อทราบถึงแนวทางการนำมันพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ ลดการใช้วัตถุดิบอาหารที่มีราคาแพง หรือสามารถใช้ทดแทนวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำในการผลิตอาหารเม็ดใช้เองเพื่อลดต้นทุนค่าอาหาร และเป็นการช่วยเหลือเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

วิธีการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD : completely randomize designed) โดยปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา คือ ชนิดของมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิล ด้วยการวัดค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต วิเคราะห์หาความแตกต่างของข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และเปรียบเทียบ ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละชุดการทดลอง ด้วยวิธี Duncan New's Multiple Range Test

1. การเตรียมปลาทดลอง

ในการเตรียมปลาทดลองได้ได้ปฏิบัติตามหลักการทำการจริยธรรมสัตว์ทดลอง โดยได้ขอ และได้รับอนุมัติให้ใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา โดยมีขั้นตอนการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองดังนี้ นำปลานิลที่ต้องการศึกษามาพักไว้ในบ่อซีเมนต์เพื่อกักโรคเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ระหว่างพักปลามีการให้อากาศในน้ำ ให้อาหารวันละ 2 มื้อ และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 2 วันต่อครั้ง จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างระบบทางเดินอาหาร (ลำไส้) ของปลานิล ขนาด 50 - 60 กรัม จำนวน 10 ตัว หลังจากให้อาหารเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อนำไปสกัดเอนไซม์ย่อยอาหาร ในการดำเนินงานจะจับและควบคุมปลา โดยการใช้ผ้าชุบน้ำจับ และปิดตาปลา แล้วนำมาใส่ในถังน้ำที่มีน้ำมันกานพลูความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อทำให้ปลาสลบ จากนั้นนำปลาที่สลบมาผ่าท้องเพื่อเก็บลำไส้ปลา โดยใช้กรรไกรตัดบริเวณท้องของปลา

2. การเตรียม Crude enzyme extract

นำลำไส้ปลานิลมาใส่ในหลอดทดลองที่มี 50 mM Tris-HCl buffer pH 8 (200 mM NaCl) ในอัตราส่วน 1:1 (w/v) และบดให้เอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (homogenizer) ขณะที่บดจะแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 15,000 × g นาน 60 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสที่อยู่ด้านบน และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น Crude enzyme extract สำหรับใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์โดยวิธี *in vitro* digestibility และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร

3. การเตรียมมันพื้นบ้าน

รวบรวมมันพื้นบ้านจำนวน 30 ชนิด ได้แก่ 1. มันเลือดนก (Man Lueat Nok) 2. มันข้าว (Man Khao) 3. มันเจ้า (Man Chao) 4. มันชา (Man Sa) 5. มันเหยือก (Man Yueak) 6. มันหมี (Man Mi) 7. มันเหน็บ (Man Nep) 8. มันแซง (Man Saeng) 9. มันจาวพร้าว (Man Chao Phrao) 10. มันอ้อน (Man Aon) 11. มันกล่ำ (Man Klam) 12. มันเลือด (Man Lueat) 13. มันอ้อนบ่อเกลือ (Man Aon Bokluea) 14. มันปลา (Man Pla) 15. มันหวาย (Man Wai) 16. มันแกลบ (Man Klaep) 17. มันหูช้าง (Man Hu Chang) 18. มันพร้าวยาว (Man Phrao Yao) 19. มันมือเสือ (Man Mue Suea) 20. มันเหลี่ยม (Man Liam) 21. มันออน (Man On) 22. มันกู้ (Man Ku) 23. มันเสาร์ (Man Sao) 24. มันแปลง (Man Plaeng) 25. มันกองข้าว (Man Kong Khao) 26. มันเห็บ (Man Hep) 27. มันกองขี้ (Man Kong Khi) 28. มันหัวช้าง (Man Hua Chang) 29. มันเหลือง (Man Lueang) 30. มันพร้าวปู่ (Man Phrao Pu) (**Figure 1**) จากไร่มันพื้นบ้านในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน นำมันพื้นบ้านแต่ละชนิดมาปอกและล้างให้สะอาด

จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปตากแดดให้แห้ง จากนั้นนำมันพื้นบ้านที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นแล้วใส่ถุงซิปปิดให้สนิทนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

A

B

C

D

E

F

G

H

I

J

K

L

M

N

O

P

Q

R

S

T

U

V

W

X

Y

Z

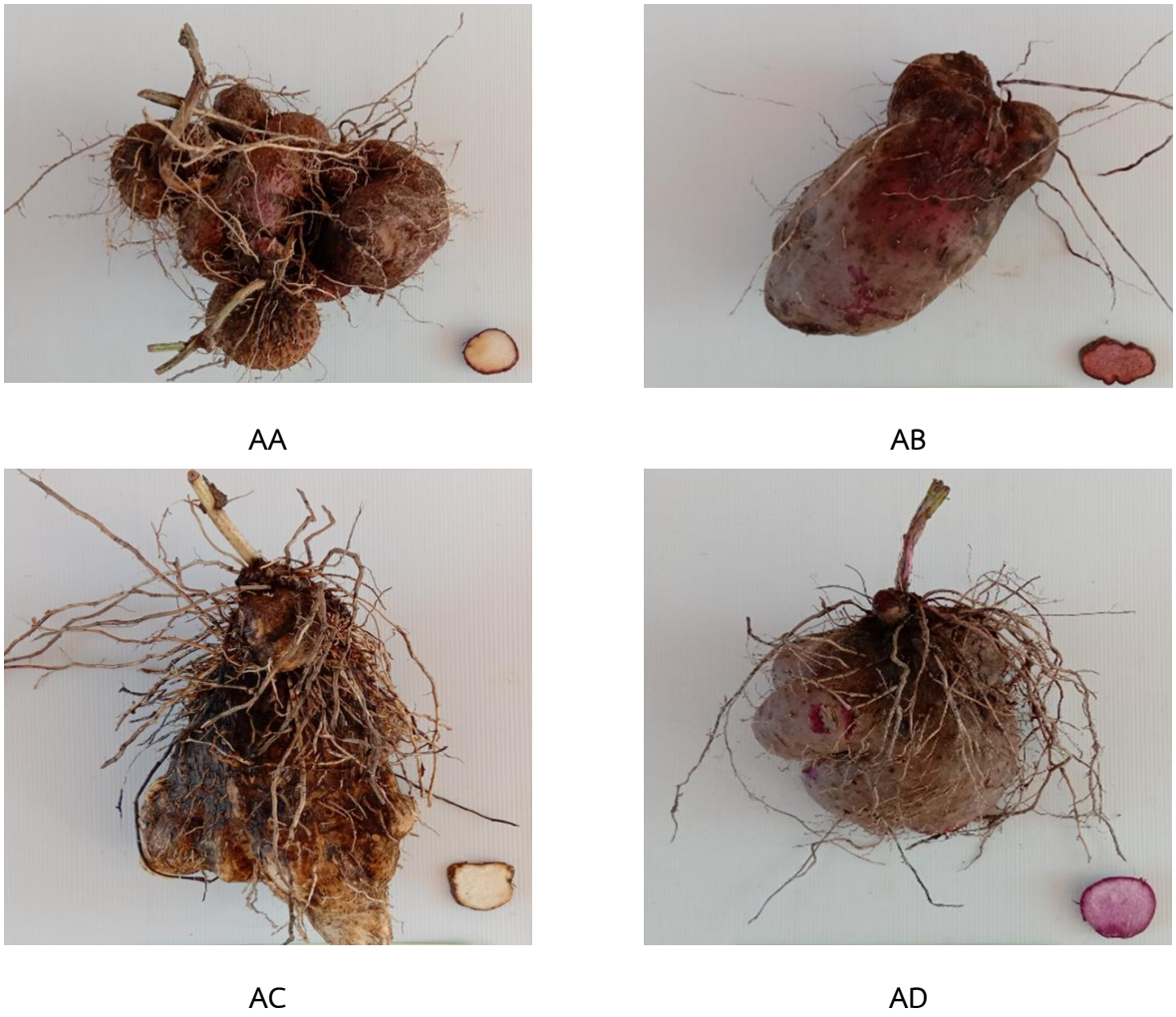

Figure 1 Native yams **(A)** Man Lueat Nok, **(B)** Man Khao, **(C)** Man Chao, **(D)** Man Sa, **(E)** Man Yueak, **(F)** Man Mi, **(G)** Man Nep, **(H)** Man Saeng, **(I)** Man Chao Phrao, **(J)** Man Aon, **(K)** Man Klam, **(L)** Man Lueat, **(M)** Man Aon Bokluea, **(N)** Man Pla, **(O)** Man Wai, **(P)** Man Klaep, **(Q)** Man Hu Chang, **(R)** Man Phrao Yao, **(S)** Man Phrao Yao, **(T)** Man Liam, **(U)** Man On, **(V)** Man Ku, **(W)** Man Sao, **(X)** Man Plaeng, **(Y)** Man Kong Khao, **(Z)** Man Hep, **(AA)** Man Kong Khi, **(AB)** Man Hua Chang, **(AC)** Man Lueang, and **(AD)** Man Phrao Pu.

4. การศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร

4.1 กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส อ้างอิงตามวิธีการของ Areekijseree et al. (2004) โดยเติมน้ำแป้ง 1% ปริมาตร 125 µl ใน crude enzyme extract ปริมาตร 125 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการทดสอบเป็นเวลา 15 นาที เติม DNS 1% 250 µl นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำกลั่น 2.5 ml และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร หาค่าปริมาณน้ำตาลที่ลดลง โดยเปรียบเทียบกับ maltose standard curve โดยมีหน่วยเป็น (µmol maltose/hr./mg. protein)

4.2 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส อ้างอิงตามวิธีการของ Areekijseree et al. (2004) โดยเติม Azocasein 5% 50 µl ใน crude enzyme extract ปริมาตร 125 µl นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการทดสอบ เป็นเวลา

15 นาที เติม TCA 10% ปริมาตร 1.2 ml เพื่อหยุดปฏิกิริยา ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นที่ความเร็ว 8000 x g เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใสปริมาตร 1.2 ml ผสมกับ1 M NaOH ปริมาตร 1.4 ml วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 440 นาโนเมตร มีหน่วยเป็น (unit/hr./mg. protein)

4.3 กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซิน อ้างอิงตาม วิธีการของ Rungruangsak-Torrissen et al. (2002) โดยดูด crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เติม trypsin substrate ปริมาตร 1,000 µl วัดค่าการดูดแสงที่ 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-10 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง A410 กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (Vi) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน p-nitroaniline เพื่อหา p-nitroaniline ที่เกิดขึ้นต่อวินาที เนื่องจากการย่อยเอนไซม์

4.4 กิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไคโมทริปซิน อ้างอิงตาม วิธีการของ Rungruangsak-Torrissen et al. (2002) โดยดูด crude enzyme extract ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในคิวเวต เติม chymotrypsin substrate ปริมาตร 1,000 µl วัดค่าการดูดแสงที่ 410 นาโนเมตร ที่เวลา 0-10 วินาที เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง A410 กับเวลา (วินาที) เพื่อหาค่าอัตราเร็วเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยา (Vi) จากความชัน เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน p-nitroaniline เพื่อหา p-nitroaniline ที่เกิดขึ้นต่อวินาที เนื่องจากการย่อยเอนไซม์

5. การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยมันพื้นบ้านโดยวิธี *in vitro* digestibility

5.1 นำผงมันพื้นบ้านที่บดจากข้อ 3 ไปทดสอบประสิทธิภาพการย่อยมันด้วยเอนไซม์โดยวิธี *in vitro* digestibility โดยดัดแปลงวิธีการของ Rungruangsak-Torrissen et al. (2002) โดยชั่งผงมัน 20 มิลลิกรัม เติม 40 ml mM Phosphate buffer, pH 8.2 แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) เติม 200 µl 0.5% Chloramphenicol แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายแล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อพร้อมเขย่า (Shaking incubator) 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 1.5 ml เป็นชุดควบคุม (Control) แล้วเติม 250 µl Dialyzed crude enzyme extract ที่ได้จากปลานิลผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายแล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อพร้อมเขย่า 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 1,000 µl นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วนำไปแช่แข็งทันทีที่ -20 องศาเซลเซียส

5.2 วิเคราะห์หาความสามารถในการย่อยโปรตีน โดยวิธี TNBS (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002) ผสม Control ที่ละลายแล้วให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายใช้ 200 µl Control เติม 2 ml 50 mM Phosphate buffer pH 8.2 ผสมให้เข้าด้วยกันเติม 1 ml 0.1% TNBS ใน 50 mM Phosphate buffer pH 8.2 แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย นำไปบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แล้วจึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 1 ml HCl แล้วผสมให้เข้า ด้วยกันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง 420 nm หาค่าปริมาณ Free amino group โดย เปรียบเทียบกับ DL-Alanine standard curve วิธีคำนวณ แสดงหน่วยของค่า *in vitro* digestibility ของโปรตีนโดย µmol DL-Alanine equivalent/ g feed /trypsin activity ใช้ค่า trypsin activity ที่ใช้ในการย่อยไปหารเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

5.3 วิเคราะห์ความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรต โดยวิธีการ DNS (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002) โดยการผสม Control ที่ละลายแล้วให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ นาน 10 นาที ใช้ปิเปตดูดสารละลายชุด Control มา 250 µl เติม 250 µl 1% DNS ละลายใน 2 M NaOH และ 0.6% Sodium potassium tartrate ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายแล้วนำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำกลั่น 2.5 ml ผสมให้เข้ากันเครื่องผสมสารละลายแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm หาปริมาณ Reducing sugar โดยเทียบกับ Maltose standard curve วิธีคำนวณ แสดงหน่วยของค่า *in vitro* digestibility ของคาร์โบไฮเดรตโดย µmol maltose/g feed/amylase activity ใช้ค่า amylase activity ที่ใช้ในการย่อยไปหาร เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

ผลการศึกษา

1. กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ทริปซิน ไคโมทริปซิน และค่า T/C ratio

จากการศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ทริปซิน และไคโมทริปซิน ที่สกัดจากลำไส้ปลานิลขนาด 50 – 60 กรัม พบว่า กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1703 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.4057 ± 0.05 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1244 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3371 ± 0.06 umol/mg protein และค่า T/C ratio มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3862 ± 0.12 (**Figure 1)**

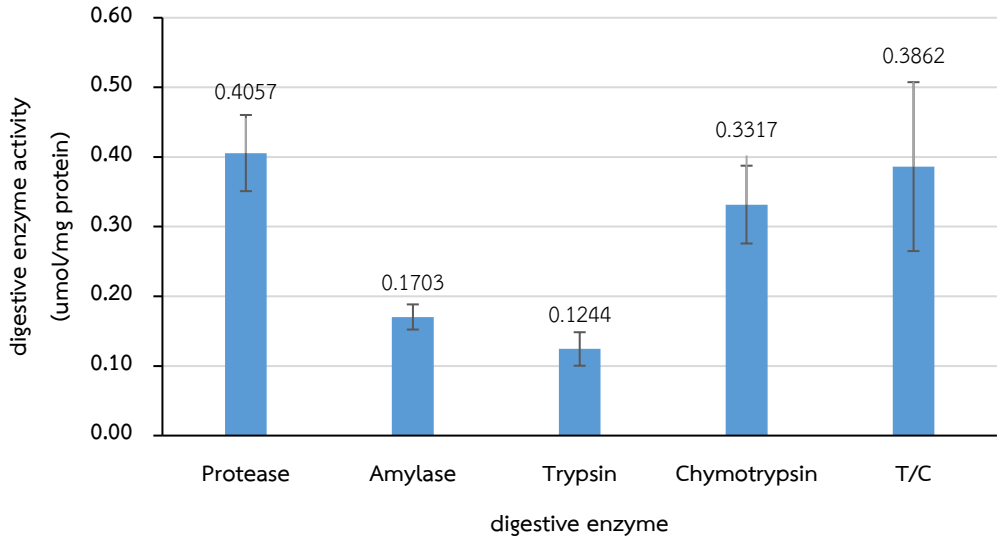

Figure 1 Digestive enzymes activity of Nile tilapia

2. ประสิทธิภาพการย่อยมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิล

2.1 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลานิล

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิลด้วยวิธี *in vitro* digestibility ในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิด พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิล มีค่ามากที่สุดในมันออน มีค่าเท่ากับ 2,361.7 ± 82.6 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity รองลงมาคือ มันเหยือก มีค่าเท่ากับ 2,344.1 ± 260.6 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity อ้อนบ่อเกลือ มีค่าเท่ากับ 2,254.4 ± 144.6 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันปลา มีค่าเท่ากับ 2,131.0 ± 79.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเลือดนก มีค่าเท่ากับ 2,003.9 ± 24.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันชา มีค่าเท่ากับ 1,971.9 ± 152.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันมือเสือ มีค่าเท่ากับ 1,964.6 ± 140.7 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันพร้าวยาว มีค่าเท่ากับ 1,953.8 ± 28.9 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันกล่ำ มีค่าเท่ากับ 1,853.6 ± 53.7 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันหมี มีค่าเท่ากับ 1,703.4 ± 77.2 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันหูช้าง มีค่าเท่ากับ 1,687.3 ± 79.9 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเลือด มีค่าเท่ากับ 1,653.2 ± 53.7 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันหวาย มีค่าเท่ากับ 1,646.0 ± 16.5 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันแปลง มีค่าเท่ากับ 1,628.2 ± 59.0 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันแกลบ มีค่าเท่ากับ 1,603.1 ± 41.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเสาร์ มีค่าเท่ากับ 1,581.6 ± 4.1 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันอ้อน มีค่าเท่ากับ 1,560.2 ± 115.7 umol DL-alanine/g

feed/trypsin activity มันเห็บ มีค่าเท่ากับ 1,452.8 ± 78.5 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเจ้า มีค่าเท่ากับ 1,424.2 ± 62.0 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันข้าว มีค่าเท่ากับ 1,402.7 ± 16.5 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันแซง มีค่าเท่ากับ 1,395.6 ± 62.0 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันจาวพร้าว มีค่าเท่ากับ 1,359.8 ± 5.2 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันกองขี้ มีค่าเท่ากับ 1,302.5 ± 74.4 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเหน็บ มีค่าเท่ากับ 1,273.9 ± 24.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันกองข้าว มีค่าเท่ากับ 1,238.1 ± 53.7 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันพร้าวปู้ มีค่าเท่ากับ 1,195.2 ± 62.0 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันกู้ มีค่าเท่ากับ 1,188.0 ± 16.5 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันเหลี่ยม มีค่าเท่ากับ 1,134.4 ± 100.7 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity มันหัวช้าง มีค่าเท่ากับ 1,130.8 ± 41.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และมันเหลือง ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1,109.3 ± 86.8 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1,617.0 ± 388.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มันออน ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนมากที่สุด ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันเหยือก มันอ้อนบ่อเกลือ มันปลา มันเลือดนก มันซา มันมือเสือ และมันพร้าวยาว ($P>0.05$) แต่มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแตกต่างกับมันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) **(Table 1)**

Table 1 Protein digestion efficiency (umol DL-alanine/g feed/trypsin activity) with digestive enzymes of the Nile tilapia on 30 native yams

	Type of Yam	Average ± SE		Type of Yam	Average ± SE
1	Man On	2,361.7 ± 82.6^{a}	16	Man Sao	1,581.6 ± 4.1^{defghi}
2	Man Yueak	2,344.1 ± 260.6^{a}	17	Man Aon	1,560.2 ± 115.7^{defghi}
3	Man Aon Bokluea	2,254.4 ± 144.6^{ab}	18	Man Hep	1,452.8 ± 78.5^{efghi}
4	Man Pla	2,131.0 ± 79.8^{abc}	19	Man Chao	1,424.2 ± 62.0^{efghi}
5	Man Lueat Nok	2,003.9 ± 24.8^{abcd}	20	Man Khao	1,402.7 ± 16.5^{efghi}
6	Man Sa	1,971.9 ± 152.8^{abcd}	21	Man Saeng	1,395.6 ± 62.0^{efghi}
7	Man Mue Suea	1,964.6 ± 140.7^{abcd}	22	Man Chao Phrao	1,359.8 ± 5.2^{fghi}
8	Man Phrao Yao	1,953.8 ± 28.9^{abcd}	23	Man Kong Khi	1,302.5 ± 74.4^{fghi}
9	Man Klam	1,853.6 ± 53.7^{bcde}	24	Man Nep	1,273.9 ± 24.8^{fghi}
10	Man Mi	1,703.4 ± 77.2^{cdef}	25	Man Kong Khao	1,238.1 ± 53.7^{fghi}
11	Man Hu Chang	1,687.3 ± 79.9^{cdef}	26	Man Phrao Pu	1,195.2 ± 62.0^{ghi}
12	Man Lueat	1,653.2 ± 53.7^{cdefg}	27	Man Ku	1,188.0 ± 16.5^{ghi}
13	Man Wai	1,646.0 ± 16.5^{cdefg}	28	Man Liam	1,134.4 ± 100.7^{hi}
14	Man Plaeng	1,628.2 ± 59.0^{defg}	29	Man Hua Chang	1,130.8 ± 41.3^{hi}
15	Man Klaep	1,603.1 ± 41.3^{defgh}	30	Man Lueang	1,109.3 ± 86.8^{i}
Average protein digestion efficiency of 30 native yams = 1,617.0 ± 388.3					

Note The values with different superscripts are significantly ($P<0.05$)

2.2 ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลานิล

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิลด้วยวิธี *in vitro* digestibility ในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิด พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากทางเดินอาหารของปลานิล มีค่ามากที่สุดใน มันอ้อนบ่อเกลือ มีค่าเท่ากับ 7,940.4 ± 600.7 umol maltose/g feed/amylase activity รองลงมาคือ มันออน มีค่าเท่ากับ 6,777.5 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันเหลี่ยม มีค่าเท่ากับ 6,736.9 ± 477.1 umol maltose/g feed/amylase activity มันเลือดนก มีค่าเท่ากับ 6,524.1 ± 109.7 umol maltose/g feed/amylase activity มันกล่ำ มีค่าเท่ากับ 5,574.0 ± 4.2 umol maltose/g feed/amylase activity มันกู้ มีค่าเท่ากับ 5,384.0 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันแปลง มีค่าเท่ากับ 5,335.6 ± 121.5 umol maltose/g feed/amylase activity มันเหยือก มีค่าเท่ากับ 5,320.6 ± 73.2 umol maltose/g feed/amylase activity มันชา มีค่าเท่ากับ 5,193.9 ± 73.1 umol maltose/g feed/amylase activity มันเห็บ มีค่าเท่ากับ 5,090.1 ± 602.9 umol maltose/g feed/amylase activity มันกองข้าว มีค่าเท่ากับ 5,003.9 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันพร้าวปู มีค่าเท่ากับ 5,003.9 ± 109.7 umol maltose/g feed/amylase activity มันหัวช้าง มีค่าเท่ากับ 5,003.9 ± 182.8 umol maltose/g feed/amylase activity มันเหลือง มีค่าเท่ากับ 4,940.6 ± 73.2 umol maltose/g feed/amylase activity มันเจ้า มีค่าเท่ากับ 4,843.8 ± 175.4 umol maltose/g feed/amylase activity มันข้าว มีค่าเท่ากับ 4,813.9 ± 146.3 umol maltose/g feed/amylase activity มันอ้อน มีค่าเท่ากับ 4,810.3 ± 257.3 umol maltose/g feed/amylase activity มันเสาร์ มีค่าเท่ากับ 4,750.6 ± 109.7 umol maltose/g feed/amylase activity มันหวาย มีค่าเท่ากับ 4,678.0 ± 131.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันหมี มีค่าเท่ากับ 4,497.2 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันเลือด มีค่าเท่ากับ4,487.9 ± 59.3 umol maltose/g feed/amylase activity มันหูช้าง มีค่าเท่ากับ 4,448.8 ± 57.3 umol maltose/g feed/amylase activity มันพร้าวยาว มีค่าเท่ากับ 4,433.8 ± 73.1 umol maltose/g feed/amylase activity มันแซง มีค่าเท่ากับ 4,243.8 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันมือเสือ มีค่าเท่ากับ 4,180.5 ± 73.2 umol maltose/g feed/amylase activity มันปลา มีค่าเท่ากับ 4,147.0 ± 91.4 umol maltose/g feed/amylase activity มันเหน็บ มีค่าเท่ากับ 3,990.5 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity มันกองขี้ มีค่าเท่ากับ 3,927.1 ± 292.5 umol maltose/g feed/amylase activity มันจาวพร้าว มีค่าเท่ากับ 3,673.8 ± 73.1 umol maltose/g feed/amylase activity และมันแกลบซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 3,483.7 ± 36.6 umol maltose/g feed/amylase activity โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 4,974.7 ± 973.2 umol maltose/g feed/amylase activity และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มันอ้อนบ่อเกลือ ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันออน ($P>0.05$) แต่มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกับมันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) **(Table 2)**

Table 2 Carbohydrate digestion efficiency (umol maltose/ g feed/ amylase activity) with digestive enzymes of the Nile tilapia on 30 native yams

	Type of Yam	Average ± SE		Type of Yam	Average ± SE
1	Man Aon Bokluea	7,940.4 ± 600.7^{a}	16	Man Khao	4,813.9 ± 146.3^{efghij}
2	Man On	6,777.5 ± 36.6^{ab}	17	Man Aon	4,810.3 ± 257.3^{efghij}
3	Man Liam	6,736.9 ± 477.1^{bc}	18	Man Sao	4,750.6 ± 109.7^{efghij}
4	Man Lueat Nok	6,524.1 ± 109.7^{bcd}	19	Man Wai	4,678.0 ± 131.6^{efghij}
5	Man Klam	5,574.0 ± 4.2^{cde}	20	Man Mi	4,497.2 ± 36.6^{efghijk}
6	Man Ku	5,384.0 ± 36.6^{def}	21	Man Lueat	4,487.9 ± 59.3^{efghijk}
7	Man Plaeng	5,335.6 ± 121.5^{efg}	22	Man Hu Chang	4,448.8 ± 57.3^{efghijk}
8	Man Yueak	5,320.6 ± 73.2^{efg}	23	Man Phrao Yao	4,433.8 ± 73.1^{efghijk}
9	Man Sa	5,193.9 ± 73.1^{efgh}	24	Man Saeng	4,243.8 ± 36.6^{fghijk}
10	Man Hep	5,090.1 ± 602.9^{efgh}	25	Man Mue Suea	4,180.5 ± 73.2^{ghijk}
11	Man Kong Khao	5,003.9 ± 36.6^{efghi}	26	Man Pla	4,147.0 ± 91.4^{hijk}
12	Man Phrao Pu	5,003.9 ± 109.7^{efghi}	27	Man Nep	3,990.5 ± 36.6^{ijk}
13	Man Hua Chang	5,003.9 ± 182.8^{efghi}	28	Man Kong Khi	3,927.1 ± 292.5^{ijk}
14	Man Lueang	4,940.6 ± 73.2^{efghi}	29	Man Chao Phrao	3,673.8 ± 73.1^{jk}
15	Man Chao	4,843.8 ± 175.4^{efghi}	30	Man Klaep	3,483.7 ± 36.6^{k}
Average carbohydrate digestion efficiency of 30 native yams = 4,974.7 ± 973.2					

Note The values with different superscripts are significantly (P<0.05)

วิจารณ์

การใช้เทคนิค *in vitro* digestibility สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาวัตถุดิบอาหารและการย่อยได้ โดยสามารถตรวจสอบประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของอาหาร และสามารถปรับปรุงวัตถุดิบราคาถูกให้เป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารที่ดี โดยข้อดีของเทคนิค *in vitro* digestibility คือ สะดวก ใช้เวลาน้อย ค่าใช้จ่ายไม่แพง สามารถเลือกใช้วัตถุดิบที่สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง (การุณ และ อุทัยวรรณ, 2555) ซึ่งมีผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย ลดต้นทุนการผลิต และลดปัญหาสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังใช้ทำนายการเจริญเติบโตของปลา และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยอาหารของสัตว์ทั้งชนิดเดียวกัน และต่างชนิดกันได้ (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002) ในกระบวนการย่อยอาหารซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญในการทำให้เกิดสารอาหารเพื่อไปใช้ในการเจริญเติบโต และสร้างภูมิคุ้มกัน (Moyano et al., 2014) โดยการย่อยอาหารของสัตว์น้ำจะมีประสิทธิภาพหรือไม่ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารของปลาเองด้วย เนื่องจากเอนไซมที่มีประสิทธิภาพในการย่อยอาหารมีผลตอการใช่ประโยชน์ของอาหารที่ปลาได้รับอย่างเต็มที่ (รุ่งกานต์ และคณะ, 2551) จากการศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ทริปซิน และไคโมทริปซิน ที่สกัดจากลำไส้ปลานิลขนาด 50 – 60 กรัม พบว่า กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1703 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.4057 ± 0.05 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1244 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3371 ± 0.06 umol/mg protein และค่า T/C ratio มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3862 ± 0.12 การศึกษาในครั้งนี้มีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ วีรพงศ์ และคณะ (2561) ได้ศึกษากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซิน และไคโมทริปซินของปลานิลที่มีอายุต่างกัน รุ่งกานต์ และคณะ (2551) พบว่า กิจกรรมการทำงานของเอนไซมโปรติเอส อะไมเลส และไลเปส ที่สกัดจาก

กระเพาะ ลำไสส่วนต้น ลำไสสวนปลาย และตับในปลานิลเพศผู้ขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม พบว่า กิจกรรมของเอนไซมโปรติเอสที่สกัดจากลำไสสวนตน และลำไสสวนปลาย มีคาสูงสุดที่ pH 12, และ 9 ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซมอะไมเลสที่พบในปลาขนาด 5.7, 35.8 และ 92.1 กรัม มีคาสูงสุดที่ pH 6, 7 และ 2 ตามลำดับ

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิด ด้วยเอนไซม์ย่อยอาหารจากลำไส้ปลานิลโดยใช้เทคนิค *in vitro* digestibility พบว่าชนิดมันที่สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลได้ดีที่สุด คือ มันออน และมันอ้อนบ่อเกลือ เนื่องจากมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่สูง และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ทั้งมันออน และมันอ้อนบ่อเกลือ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างกับมันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ของมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1,617.0 ± 388.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และ 4,974.7 ± 973.2 umol maltose/ g feed/ amylase activity ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในวัตถุดิบประเภทที่ให้พลังงาน พบว่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ สุดาพร และดวงพร (2556) พบว่า เอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ปลานิลเต็มวัยสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตในรำข้าวได้ถึง 2,179 umol maltose/ g feed/ amylase activity และมีค่ามากกว่าการศึกษาของ จุลทรรศน์ และคณะ (2565) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตจากเอนไซม์ย่อยอาหารในทางเดินอาหารของปลากาดำ พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในแป้งสาลี มีค่าเท่ากับ 38.77 ± 2.28 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และ 43.96 ± 2.96 umol maltose/ g feed/ amylase activity ตามลำดับ และในลำต้นใต้ดินของบัวหิมะ มีค่าเท่ากับ 48.55 ± 1.74 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity และ 62.48 ± 15.89 umol maltose/ g feed/ amylase activity ตามลำดับ ในขณะที่โฉมอนันต์ และคณะ (2564) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์จากอวัยวะย่อยอาหารของปลาหมอไทย พบว่า ประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในปลายข้าว และรำละเอียด มีค่าเท่ากับ 274.18 และ 24.19 umol maltose/ g feed/ amylase activity ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในปลายข้าว และรำละเอียด มีค่าเท่ากับ 0.0592 และ 0.0526 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity ตามลำดับ ธนาวัฒน์ และคณะ (2557) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยด้วยวิธี *in vitro* protein digestibility ในวัตถุดิบอาหาร ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง ข้าวโพด และรำ โดยทดลองในปลาโมง 2 ขนาด คือขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ พบว่าประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในปลาป่นของเอนไซม์ที่สกัดได้จากกระเพาะอาหารและลำไส้ในปลาขนาดเล็กมีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับวัตถุดิบอาหารชนิดอื่น แต่ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในวัตถุดิบอาหารทุกชนิดมีค่าใกล้เคียงกันในปลาโมงขนาดใหญ่ และปลาโมงขนาดเล็ก มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบจากสัตว์ได้ดีกว่าวัตถุดิบจากพืช ส่วนปลาโมงขนาดใหญ่มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนจากวัตถุดิบอาหารทุกชนิดได้ดี โดยปกติในปลาส่วนใหญ่จะย่อยและดูดซึมน้ำตาลได้ดีกว่าแป้ง แต่ปลาใช้ประโยชน์จากแป้งได้ดีกว่าน้ำตาล ดังนั้นแป้งจึงเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีความสำคัญต่อการนำมาทำอาหารปลามากกว่าน้ำตาล ซึ่งสัตว์น้ำมีความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรตได้แตกต่างกัน (ธนาภรณ์, 2557) ในการนำมันพื้นบ้านซึ่งจัดเป็นแหล่งอาหารประเภทแป้งที่ให้พลังงาน หรือเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนต่ำจากพืช มาใช้ทดแทนวัตถุดิบอาหารประเภทเดียวกัน อย่างเช่น ข้าวโพด ปลายข้าว หรือรำข้าว ที่มีราค่าแพงกว่า มาผลิตเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิล การใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานในอาหารจะทำให้ช่วยลดการใช้โปรตีนเพื่อเป็นส่วนประกอบของอาหารลงได้ ซึ่งความสามารถนี้เรียกว่า Protein-sparing effect ทำให้เป็นที่สนใจอย่างมากในการใช้ประกอบสูตรอาหารสัตว์น้ำ เพราะโปรตีนเป็นส่วนประกอบของอาหารที่มีราคาแพงเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งคาร์โบไฮเดรต ดังนั้น Protein-sparing effect จึงช่วยลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์น้ำได้ (วีรพงศ์, 2536) ซึ่งมันพื้นบ้านในจังหวัดน่านถือเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตอีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นทางเลือกในการผลิตอาหารสำหรับเลี้ยงปลาต้นทุนต่ำ ซึ่งถือเป็นแหล่งให้พลังงานแก่สิ่งมีชีวิตที่มีราคาถูกที่สุด และหาง่าย (ราคากิโลกรัมละ 1-2 บาท) ได้มีการศึกษาการใช้วัตถุดิบในท้องถิ่นเพื่อทดแทนวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารสัตว์น้ำที่มีราคาแพง Gonzalez-Felix et al. (2010) ได้ศึกษาการปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลโดยพัฒนาสูตรอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากพืชในท้องถิ่นมาทดแทนปลาป่น ซึ่งผลของการศึกษาแสดงถึงความเป็นไปได้ในการลดปริมาณของปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลานิล และสามารถใช้แหล่งโปรตีนจากพืชในท้องถิ่นมาปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงปลานิล ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ามันพื้นบ้านเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ ทดแทนในการผลิตอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลได้

เนื่องจากมันพื้นบ้านมีราคาถูก และหาได้ง่ายในท้องถิ่นโดยเฉพาะในจังหวัดน่าน ซึ่งมันพื้นบ้านสามารถใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารเลี้ยงปลาเพื่อลดต้นทุนได้ โดยผลการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำมันพื้นบ้านไปใช้ในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และนำไปปรับปรุงสูตรอาหารให้เหมาะสมกับการเลี้ยงปลานิลต่อไป

สรุป

จากการศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ทริปซิน และไคโมทริปซิน ที่สกัดจากลำไส้ปลานิลขนาด 50 – 60 กรัม พบว่า กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1703 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.4057 ± 0.05 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1244 ± 0.02 umol/mg protein กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3371 ± 0.06 umol/mg protein และค่า T/C ratio มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.3862 ± 0.12 ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้งหมด 30 ชนิด พบว่า เอนไซม์ย่อยอาหารในปลานิลมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนได้ดีที่สุดในมันอออน เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า มันออน มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันเหยือก มันอ้อนบ่อเกลือ มันปลา มันเลือดนก มันซา มันมือเสือ และมันพร้าวยาว (P>0.05) แต่มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนแตกต่างกับมันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1,617.0 ± 388.3 umol DL-alanine/g feed/trypsin activity ส่วนประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตของเอนไซม์ย่อยอาหารจากปลานิลสามารถย่อยในมันอ้อนบ่อเกลือได้ดีที่สุด เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มันอ้อนบ่อเกลือ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับมันออน (P>0.05) แต่มีค่าประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกับมันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรตในมันพื้นบ้านทั้ง 30 ชนิด มีค่าเท่ากับ 4,974.7 ± 973.2 umol maltose/g feed/amylase activity จากข้างต้นสรุปได้ว่ามันพื้นบ้านที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิล คือ มันออน และมันอ้อนบ่อเกลือ เนื่องจากมันทั้ง 2 ชนิด เอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้อาหารของปลานิลสามารถย่อยได้ดีกว่ามันชนิดอื่น

การอนุญาตวิจัยในสัตว์

การทดลองนี้ได้รับอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ตามเอกสารอนุญาตเลขที่ (approval number) RMUTL-IACUC 003/2023

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา (อพ.สธ.-มทร.ล้านนา) ประจำปีงบประมาณ 2565 และอุปกรณ์ ครุภัณฑ์ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา และมหาวิทยาลัยแม่โจ้

เอกสารอ้างอิง

การุณ ทองประจุแก้ว และอุทัยวรรณ โกวิทวที. 2555. เอนไซม์ย่อยอาหารกับการพัฒนาอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 22(3): 710-720.

กรมการค้าภายใน. 2566. ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์. แหล่งข้อมูล: https://agri.dit.go.th/index.php/department_doc/3/. ค้นเมื่อ 15 มกราคม 2566.

จุลทรรศน์คีรีแลง, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, ชนกันต์ จิตมนัส, Hien Van Doan และสุดาพร ตงศิริ. 2565. ผลของการเสริมลำต้นใต้ดินของบัวหิมะ (*Smallanthus sonchifolius*) ในอาหารต่อประสิทธิภาพการย่อยในหลอดทดลอง การเจริญเติบโต และการใช้

ประโยชน์จากอาหารของปลากาดำ (*Labeo chrysophekadion*). วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 14(2): 418-429.

โฉมอนันต์ โพธิวงค์, ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล, สุดาพร ตงศิริ และชนกันต์ จิตมนัส. 2564. ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบจากกล้วยด้วยเอนไซม์จากอวัยวะย่อยอาหารของปลาหมอไทย. แก่นเกษตร. 49(3): 733-739.

ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์. 2557. การสร้างสูตรอาหารสัตว์น้ำและสูตรอาหารสัตว์น้ำเศรษฐกิจ. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ธนาวัฒน์ ศิริปริญญานันต์, บัณฑิต ยวงสร้อย, สุธี วงศ์มณีประทีป และสุทธิศักดิ์ บุญยัง. 2557. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบอาหารในปลาโมงด้วยวิธี *in vitro* protein digestibility. แก่นเกษตร. 42(ฉบับพิเศษ 1): 32-37.

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

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, ศิรินาถ หอประเดิมนุสรณ์, ตรีรัตน์ สุขสวัสดิ์ และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2561. กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่มีอายุต่างกัน และทดสอบที่อุณหภูมิต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 36(2): 125-142.

สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย. 2566. บทสรุปอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่เยือกแข็งไทย ไตรมาส 4/2565. แหล่งข้อมูล: https://www.thai-frozen.or.th/Content/Images/Insights-file/IndustrySummary/2023-16-2--17-18-09บทสรุปอุตสาหกรรมอาหารแช่เยือกแข็งไทย Q4 65.pdf. ค้นเมื่อ 15 มกราคม 2566.

สิทธิชัย ฮะทะโชติ, เกตุนภัส ศรีไพโรจน์, อรพินท์ จินตสถาพร และศรีน้อย ชุ่มคำ. 2562. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังและเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในสูตรอาหารปลานิลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้และการเจริญเติบโต. แก่นเกษตร. 47(ฉบับพิเศษ 1): 1187-1194.

สุดาพร ตงศิริ และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2556. การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบพื้นบ้านเพื่อการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงปลานิลแบบลดต้นทุน และเป็นอาหารปลอดภัย. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

สมนึก พรมแดง, รงรอง หอมหวน, มณฑา วงศ์มณีโรจน์, รัตนา เอการัมย์ และสุลักษณ์ แจ่มจำรัส. 2561. สารสำคัญทางโภชนาการของมันเลือด. วารสารวิชาการเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน สายวิทยาศาสตร์. 1(1): 19-27.

อรพินท์ จิตสถาพร, ทัศนีย์ คชสีห์, ประทักษ์ ตาบทิพย์วรรณ และส่งศรี มหาสวัสดิ์. 2546. การใช้ดักไหมบ้านทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดุกลูกผสม. น. 94-120. ใน รายงานเรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 41 ประจำปี พ.ศ. 2546 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Areekijseree, M., A. Engkagul, U. Kovitvadhi, A. Thongpan, M. Mingmuang, P. Pakkong, and K. Rungruangsak-Torrissen. 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinases of adult freshwater pearl mussel, *Hyriopsis* (*Hyriopsis*) *bialatus* Simpson 1900. Journal of Aquaculture. 234: 575–587.

Gonzalez-Felix, M.L., M. Perez-Velazquez, A.G. Villava-Villalba, R. Civera-Cerecedo, J.M. Ezquerra, and E. Goytortua-Bores. 2010. Tailoring a diet for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in Northwest Mexico. Journal of Marine Science and Technology. 18(5): 674-681.

Moyano, F.J., M.A. Saénz-de Rodrigáñez, M. Díaz, and A.G.J. Tacon. 2014. Application of *in vitro* digestibility methodsin aquaculture: constraints and perspectives. Review. Aquaculture. 6: 1-20.

Rungruangsak-Torrissen, K., 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. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82: 644-654.