

มาย่อยเนื้อปลาเพื่อตรวจหาเมตาเซอร์คาเรีย รวมทั้งหาสัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างน้ำสับประดและสารละลายเป็บชินต่อการนำไปใช้

การวัดปริมาณของเอนไซม์โบรเมลลินในน้ำสับประดพันธุ์ต่างๆ พบว่าน้ำสับประดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณเอนไซม์ 8.39 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าในน้ำสับประดพันธุ์ศรีราชาและพันธุ์นางแล น้ำสับประดพันธุ์ภูเก็ตจึงถูกนำมาศึกษาต่อถึงประสิทธิภาพในการใช้ย่อยเนื้อปลาคะเพียน (*Barbonymus gonionotus*) โดยการทำให้เป็นน้ำสับประดเข้มข้น (200%) แต่กลับพบว่าไม่อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยได้ดีกว่าน้ำสับประดคั้นสด อาจเนื่องจากในน้ำสับประดมีปริมาณของน้ำตาลอยู่สูง ทำให้น้ำสับประดที่เข้มข้นมากมีความหนืดมากขึ้นตามไปด้วย เอนไซม์โบรเมลลินที่อยู่ในน้ำสับประดจึงมีโอกาสสัมผัสกับเนื้อปลาน้อยลงและทำงานได้ไม่เต็มที่ หรืออาจเกิดจากการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ทำให้อัตราเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น แต่หลังจากที่ปฏิกิริยาเข้าสู่ภาวะสมดุลแล้วการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์จะไม่มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเอนไซม์จึงไม่มีผลทำให้สามารถย่อยเนื้อปลาได้ดีขึ้น

เมื่อใช้น้ำสับประดผสมกับสารละลายเป็บชิน พบว่าน้ำสับประดผสมสารละลายเป็บชินมีประสิทธิภาพการย่อยดีกว่าน้ำสับประดคั้นสดเพียงอย่างเดียว โดยน้ำสับประดผสมกับสารละลายเป็บชิน (25 : 75) สามารถย่อยเนื้อปลาจำนวน 10 กรัมได้ดีและพบจำนวนเมตาเซอร์คาเรียในปลากระมัง (*Puntioplites proctozysron*) มากกว่าสารละลายเป็บชินอย่างเดียว อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของน้ำสับประดและลดอัตราส่วนของสารละลายเป็บชินทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยเนื้อปลาลดลง

เมตาเซอร์คาเรียที่ได้จากการย่อยเนื้อปลาด้วยน้ำสับประดผสมกับสารละลายเป็บชิน (25 : 75) มีความอยู่รอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารละลายเป็บชินในวันที่ 1-4 แต่มีการเคลื่อนไหวมากกว่าในวันที่ 5-7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การสำรวจความชุกของเมตาเซอร์คาเรียจากการย่อยปลาด้วยสารชนิดต่างๆ พบเมตาเซอร์คาเรียของ *Haplorchis taichui* มากที่สุด (83.33 %) จากปลากระมังที่ได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล และไม่พบของพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini*) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำคั้นสับประดสามารถนำมาใช้เพื่อลดปริมาณการใช้เอนไซม์เป็บชิน ซึ่งมีประโยชน์ต่อวงการสาธารณสุขของประเทศกำลังพัฒนา

Thesis Title Detection of Infective Stage of Liver or Intestinal Flukes from Fish by a Digestion Method Using Pineapple Juice

Author Miss Duanghatai Sripakdee

Degree Master of Science (Parasitology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Kom Sukontason	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Kabkaew L. Sukontason	Member
Assoc. Prof. Dr. Udom Chaitong	Member

ABSTRACT

The liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, and minute intestinal flukes (MIF) of the family Heterophyidae are the two most common trematodes in Thailand. *O. viverrini* can cause opisthorchiasis and cholangiocarcinoma, while MIF can produce less severe diseases in humans than *O. viverrini*. However, MIF have been reported to cause pathological changes in patients. The prevalence of metacercariae in cyprinoid fish, the second intermediate host, can estimate the distribution of these flukes. Up to now, digestion by artificial pepsin solution for examination of metacercariae from fish is the most common method. However, pepsin powder is expensive and it must be imported. Hence, other substances with proteolytic effect have been merited to evaluate reduced usage of pepsin solution harvesting metacercariae. Among the common plants of Thailand, pineapple has proteolytic enzyme-bromelain in the fruit and stem. Thus, this study was performed to determine the enzyme concentration in different strains of pineapple using the highest enzyme concentration of pineapple juice, which could digest fish to harvest metacercariae. Moreover, this pineapple juice was studied for the appropriate ratio between pineapple juice and pepsin solution for further application.

The Phuket strain had the highest bromelain concentration (8.39 mg/ml), while Sriracha and Nang-lea had less enzyme concentration. Concentrated pineapple juice from the Phuket strain was used for digestion of common silver barb (*Barbonymus gonionotus*). Unfortunately, the concentrated pineapple juice (200%) gave the same efficacy as fresh pineapple juice, which could be explained by the high concentration of sugar in the pineapple juice that made the concentrated juice glutinous. Bromelain in concentrated pineapple juice could not make contact with the fish properly. The other possibility was the initial velocity of enzyme reaction that was affected by the concentration of enzyme. However, there was no effect on the equilibrium state. Thus, when the enzyme concentration increased, the digestive effect did not concurrently increase.

The mixture between pineapple juice and pepsin solution had a higher digestive property than fresh pineapple juice. The mixture of pineapple juice and pepsin solution (25 : 75) could produce the highest digestive property in digestion, with a higher number of metacercaria detections in Smith's barb (*Puntioplites proctozysron*) than that digested by pepsin solution. However, an increasing pineapple juice ratio reduced the digestive property of the mixture.

Viability of metacercariae harvested by using the mixture of pineapple juice and pepsin solution (25 : 75), and 1% pepsin solution was comparable at day 1-4. However, the metacercariae collected by using the former mixture were significantly more active than those gathered by the later solution at day 5-7.

Haplorchis taichui, the minute intestinal fluke, was prominently identified as metacercariae (83.33%) in Smith's barb from Mae-Ngad Somboon Chon Reservoir. No metacercaria of liver flukes were found. This study clearly showed that pineapple juice was able to decrease the usage of pepsin enzyme. It should be useful for public health in developing countries.