รหัสโครงการ: RSA3980010

ชื่อโครงการ: The Analysis of Muscle Proteins, Plasma Proteins, and VNTR Specific for Apolipoprotein in

Diploid and Triploid Asian Catfish Clarias macrocephalus

**ผู้ดำเหินการวิจัย:** นายธนิต ผิวนิ่ม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ อ. เมือง นครปฐม ๗๓๐๐๐

Email address: thanit@su.ac.th, thanit@UNSWalumni.com

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาเชิงเปรียบเทียบระหว่างปลาดุกอุยดิปพลอยด์ (โครโมโซม 2 ชุด) และปลาดุกอุยทริปพลอยด์ (โครโมโซม 3 ชุด) เริ่มด้วยการศึกษาลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสีขาว กล้อง จุลทรรศน์เอพิฟลูออเรสเซนต์ และ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงและ นิวเคลียสของปลาดุกอุยทริปพลอยด์ มีขนาดใหญ่กว่าของปลาดุกอุยดิปพลอยด์อย่างชัดเจน แต่ว่าเลือดของปลาดุกอุยทริปพลอยด์มีความหนาแน่นของเม็ดเลือดน้อยกว่าเลือดของปลาดุกอุยดิปพลอยด์ (1.03 ± 0.04 x 10<sup>7</sup> และ 1.57 ± 0.05 x 10<sup>7</sup> cells/ml ตามลำดับ)

จากนั้นพบว่าเนื้อปลาดุกอุยทริปพลอยด์มีปริมาณของไขมันสูงกว่าปลาดุกอุยดิปพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (6.26 ± 0.52 และ 5.37 ± 0.47 g lipid/100g tissue ตามลำดับ, p<0.01) ในขณะที่ปริมาณของโปรตีนนั้นไม่ แตกต่างกัน (18.93 ± 0.88 และ 18.58 ± 0.31 g protein/100g tissue ตามลำดับ, p > 0.05) ถ้าพิจารณา ปริมาณเฉลี่ยต่อปลาหนึ่งตัวแล้ว พบว่าปลาดุกอุยทริปพลอยด์มีไขมันและโปรตีน สูงกว่าปลาดุกอุยดิปพลอยด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เป็นเพราะว่าปลาดุกอุยทริปพลอยด์มีขนาดใหญ่กว่าปลาดุกอุยดิปพลอยด์ การศึกษาชนิดและรูปแบบของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าปลาทั้งสองกลุ่มมีชนิดและรูปแบบของ โปรตีนเหมือนกัน โดยมีมวลโมเลกุลอยู่ในช่วง 18.6 – 120.2 kD อีกทั้งยังไม่พบโปรตีนขนาด 12.5 kD ซึ่งเป็น ขนาดของโปรตีนชื่อ Gad cl ซึ่งพบในปลาคอดที่ทำให้ผู้บริโภคบางกลุ่มมีอาการแพ้ปลาบางชนิดของปลากลุ่มนี้ ดังนั้นปลาดุกอุยจึงเป็นปลาที่ผู้บริโภคสามารถวางใจได้ ซึ่งสอดคล้องกับความจริงที่ว่ายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการ แพ้ในหมู่ผู้บริโภคปลาดุกอุยเลย

เมื่อศึกษา omega-3 fatty acids ชนิด eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) พบว่า เนื้อปลาดุกอุยดิปพลอยด์มีปริมาณ EPA และ DHA เท่ากับ 14.5 ± 4.5 and 130.5 ± 48.2 mg/100g tissue ในขณะที่ปลาดุกอุยทริปพลอยด์มีปริมาณ EPA และ DHA เท่ากับ 38.5 ± 12.4 and 134.8 ± 50.1 mg/100g tissue ตามลำดับ ข้อมูลนี้ชี้ให้ทราบและควรตระหนักว่าปลาดุกอุยควรเป็นปลาชนิดหนึ่งซึ่งผู้บริโภคควรพิจารณา ปลาดุกอุยจึงมีคุณค่าเด่นทางโภชนาการ ด้าน omega-3 fatty acids นี้ด้วย

เมื่อทำการศึกษากัมมันตภาพของเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ในเนื้อปลา ปริมาณไคนูเรนินในเลือด ปลา และ variable number tandem repeat (VNTR) ของอะโปไลโปโปรตีนบีที่ดีเอ็นเอซึ่งสกัดจากเม็ดเลือด ไม่ พบความแตกต่างของสิ่งทั้งสามนี้ในปลาดุกอุยดิปพลอยด์ และ ปลาดุกอุยทริปพลอยด์

คำหลัก (keywords): Diploid, Triploid, Catfish, Proteins, Lipids, VNTR

Project Code: RSA3980010

**Project Title:** The Analysis of Muscle Proteins, Plasma Proteins, and VNTR Specific

for Apolipoprotein in Diploid and Triploid Asian Catfish Clarias

macrocephalus.

**Investigator:** Dr Thanit Pewnim, Department of Chemistry at Silpakorn University,

Sanamchandra Palace Campus, Nakorn Pathom 73000, Thailand

Email address: thanit@su.ac.th, thanit@UNSWalumni.com

## Abstract

Diploid (2n) and cold-shocked triploid (3n) Asian catfish *Clarias macrocephalus* at eight months of age were comparatively studied by initially examining the cytological appearances of erythrocytes under a light microscope, an Epifluorescence microscope, and a scanning electron microscope (SEM). It was found that while the size of erythrocytes from triploids including their nuclei were larger than the diploids, cell density in the triploids was lower than cell density in diploids having the values of  $1.57 \pm 0.05 \times 10^7$  cells/ml blood and  $1.03 \pm 0.04 \times 10^7$  cells/ml blood, respectively.

When lipid contents were assessed it was found that flesh of triploids contained  $6.26 \pm 0.52$  g lipid/100g tissue which was significantly higher than the value of  $5.37 \pm 0.47$  g lipid/100g tissue in diploids (p<0.01). Analysis of protein content showed that triploid catfish contained  $18.93 \pm 0.88$  g protein/100g tissue which was about the same level as the value of  $18.58 \pm 0.31$  g protein/100g tissue in diploid catfish (p>0.05). When the average amount of lipid and protein were considered per individual fish it was evident that triploids had significantly more lipid, as well as more protein than diploids. This was in agreement with the fact that the triploid fish were significantly bigger than the diploid fish. Analysis of proteins by SDS-PAGE revealed that triploids and diploids contained the same pattern of proteins, having molecular weights ranging from 18.6 - 120.2 kD. Also, both triploid and diploid Asian catfish did not exhibit the 12.5 kD protein band, the well-known Gad cI allergen protein of codfish. This finding would assure consumer confidence in taking Asian catfish as part of the protein source.

Detailed investigation of fatty acid composition showed that both diploids and triploids contained substantial amount of the two important omega-3 fatty acids, the eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). The values for EPA and DHA were  $14.5 \pm 4.5$  and  $130.5 \pm 48.2$  mg/100g tissue in diploids, and  $38.5 \pm 12.4$  and  $134.8 \pm 50.1$  mg/100g tissue in triploids, respectively. These finding implicates the Asian catfish as an important and economical source for omega-3 fatty acids.

When lactate dehydrogenase (LDH) activities in fillet, kynurenine (a tryptophan metabolite) in plasma, and variable number tandem repeat (VNTR) specific for apolipoprotein B in DNA isolated from nuclei of blood cells were analyzed, it was found that there were no differences in those parameters between diploid and triploid Asian catfish.

Keywords: Diploid, Triploid, Catfish, Proteins, Lipids, VNTR