รหัสโครงการ SUT3-303-55-24-12

รายงานการวิจัย

การทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารโปรตีนจากพืชที่เสริมด้วยเอ็นไซม์ไฟเตส

(Replacement of fish meal with plant-based protein source and phytase supplementation)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-303-55-24-12

รายงานการวิจัย

การทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบอาหารโปรตีนจากพืชที่เสริมด้วยเอ็นไซม์ไฟเตส

(Replacement of fish meal with plant-based protein source and phytase supplementation)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร บุญอนันธนสาร

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555-2556

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เมษายน 2558

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบผลของการเสริมไฟเตสในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าพารามิเตอร์ทางสุขภาพ และปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำ ในการเลี้ยงปลานิลระยะวัยรุ่น (*Oreochromis niloticus*) การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 มีกลุ่มทดลอง 5 กลุ่ม (แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ) ประกอบไปด้วยกลุ่มทดลองที่ใช้อาหารพื้นฐานที่มีกากถั่วเหลืองสูง (B) อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 750 และ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร (B + 750P และ B + 1500P ตามลำดับ) อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมแร่ธาตุ disodium phosphate 1.5 % (B + Na_2HPO_4) และ อาหารที่มีปลาป่นสูง (FM) ทำการทดลองเลี้ยงปลาในกระชังที่ผูกในอ่างเก็บน้ำเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าปลาในกลุ่มทดลอง B มีค่าน้ำหนักตัวสุดท้ายและค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่ม FM การเสริมไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารส่งผลให้ปลามีค่าน้ำหนักตัวสุดท้ายและค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้นและไม่ต่างจากกลุ่ม FM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่าปลาในกลุ่ม B + Na_2HPO_4 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงไม่ต่างจากกลุ่ม FM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่า FCR และอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา ได้แก่ ค่าความชื้น ไขมัน และเถ้าของปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม ปลาในกลุ่ม B มีระดับโปรตีนในเนื้อปลาต่ำที่สุด และการสริมไฟเตส (B + 1500P) ส่งผลให้ปลามีระดับโปรตีนในเนื้อเพิ่มสูงขึ้น ปลาในกลุ่ม B + 1500P มีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงที่สุดในขณะที่ปลาในกลุ่ม FM มีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ของค่ากลูโคส คอเลสเตอรอล โปรตีน ค่ายูเรียในเลือด (BUN) แคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ระหว่างปลาทุกกลุ่มทดลอง ปลาในกลุ่ม FM มีค่าไตรกลีเซอไรด์สูงที่สุดในขณะที่ปลาในกลุ่ม B มีค่าไตรกลีเซอไรด์ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ปลาในกลุ่ม B + 1500P มีค่าเหล็กในเลือดสูงที่สุดในขณะที่ปลาในกลุ่ม B และ FM มีค่าเหล็กในเลือดต่ำที่สุด ($P < 0.05$) นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด ได้แก่ กลูโคส คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีน BUN แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และเหล็กในเลือดปลาหลังจากปลาได้กินอาหารแล้ว 3 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับก่อนปลากินอาหาร ผลการศึกษาพบว่าปลามีค่ากลูโคส BUN และแมกนีเซียมในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ($P < 0.05$) หลังจากปลากินอาหาร พบว่าปลาในกลุ่มทดลอง B + 1500P และ FM มีค่า alternative complement activity สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่ม B ค่าปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวมและค่าการทำงานของไลโซไซม์มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) การทดลองที่ 2 มีกลุ่มทดลอง

4 กลุ่ม (แต่ละกลุ่มทดลองมีจำนวนซ้ำ 4 ซ้ำ) ประกอบไปด้วยกลุ่ม B กลุ่ม B+750P กลุ่ม B+750P และกลุ่ม B + Na_2HPO_4 เพื่อประเมินค่าฟอสฟอรัสในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา ทำการทดลองเลี้ยงปลาในตู้กระจกโดยมีการให้อากาศในน้ำตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุก ๆ 3 วันก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าฟอสฟอรัสรวม ค่าฟอสเฟต และค่าแอมโมเนียรวม ผลการศึกษาพบว่ากลุ่ม กลุ่ม B + Na_2HPO_4 มีค่าค่าฟอสฟอรัสรวมและค่าฟอสเฟตสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ค่าแอมโมเนียรวมของทุกกลุ่มทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน และค่าคุณภาพน้ำด้านอื่น ๆ ได้แก่ ค่า pH และค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำก็มีค่าใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลอง ผลการศึกษาสรุปได้ว่าการเสริมไฟเตสที่ระดับ1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารในสูตรอาหารที่มีกากถั่วเหลืองในปริมาณสูงช่วยเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตในปลาให้เทียบเคียงได้กับอาหารที่มีปลาป่นสูง โดยไม่มีผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพและคุณภาพน้ำ

Abstract

This study evaluated the effects of dietary phytase on growth performances, several health parameters and P discharge of culture system for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). This study was divided into 2 experiments. In experiement I, five dietary treatments (each diet in four replicates) were designed including high-level-soybean basal diet (B), basal diet incorporated with phytase at 750 and 1500 FTU kg kg^{-1} (B + 750P and B + 1500P, respectively), basal diet incorporated with disodium phosphate at 1.5 % (B + Na_2HPO_4) and high-level fishmeal diet (FM). Fish were reared in hapas for 5 weeks, which were located in water reservoir. Comparing with fish on FM, fish fed B had lowest final weight and specific growth rate ($P < 0.05$). Supplementation of phytase at 1500 FTU kg kg^{-1} led to increase final weight and specific growth rate as similar to fish on FM group. In addition, fish on B + Na_2HPO_4 had similar specific growth rate to that on FM group. There were no significant differences in FCR and survival rates among experimental groups ($P > 0.05$). Fillet composition including moisture, lipid and ash were similar among experimental groups. However, fish fillet on B diet had lowest protein content ($P < 0.05$), and supplementation of phytase led to increase protein content in fillet. Fish on B + 1500P group had highest red blood cell number while fish on FM group had lowest red blood cell number. There were no significant differences in hemoglobin and hematocrit among experimental groups ($P > 0.05$). No significant differences in glucose, cholesterol, protein, blood urea nitrogen (BUN), calcium, phosphorus and magnesium in blood among experimental groups were observed ($P > 0.05$). Fish on FM diet had highest triglyceride whereas fish on B diet had lowest triglyceride ($P < 0.05$). The highest iron in blood was found in fish on B + 1500P diet; however, low iron in blood was detected in fish on B and FM diets ($P < 0.05$). In addition, blood chemical including glucose, cholesterol, protein, BUN, calcium, phosphorus, magnesium and iron was determined to compare before and after feeding for 3 hours. The results showed that glucose, BUN and magnesium in blood were increased after feeding ($P < 0.05$). Comparing with fish on B diet, fish on B + 1500P and FM diets had higher alternative complement activity ($P < 0.05$). There were no significant differences in total immunoglobulin and lysozyme activity among experimental groups ($P > 0.05$). In experiment II, four dietary treatments (each diet in four replicates) were designed including B, B + 750P, B + 1500P and B + Na_2HPO_4 to evaluate the P discharge of fish culture system. Fish were reared in glass aquaria under continuous aeration for 3 weeks. Water was sampling before the water changing which

was performed every three days to determine total phosphorus, phosphate, and ammonia. The results showed that the total phosphorus and phosphate in the discharge water of B + Na_2HPO_4 was highest comparing with other diets in all sampling days. Total ammonia tended to be similar in all experimental diets. Other water qualities such as pH and dissolved oxygen appeared to be similar in all experimental groups. In conclusion, supplementation of phytase at 1500 FTU kg kg^{-1} on diet which contained high amount of soybean meal improved growth performances to be comparable to high-level fishmeal diet without negative effects on health and water quality.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก
บทคัดย่อ ..... ข
Abstract ..... ง
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญภาพ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
การตรวจเอกสารทางวิชาการ 3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 16
ขอบเขตของการวิจัย 16
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย 16
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย 17
บทที่ 3 ผลการวิจัย
3.1 ผลการศึกษา 28
3.2 อภิปรายผลการศึกษา 51
บทที่ 4 บทสรุป
สรุปผลการวิจัย 60
ข้อเสนอแนะ 62
บรรณานุกรม 63
ประวัติผู้วิจัย 60

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบ (เปอร์เซนต์) ของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) ในวัตถุดิบอาหารประเภทโปรตีนที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์น้ำ 4
ตารางที่ 1.2 การใช้ปลาป่นในการผลิตสัตว์ 5
ตารางที่ 1.3 ผลผลิตปลาป่นจากประเทศต่าง ๆ ที่มีการผลิตปลาป่นมาก 6 อันดับแรก (ค.ศ. 2005 - 2009) 6
ตารางที่ 1.4 การเปรียบเทียบการทำงานของเอ็นไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์และราต่าง ๆ 10
ตารางที่ 1.5 ผลของการอัดอาหารเม็ดที่อุณหภูมิสูงต่อการเสียสภาพของเอ็นไซม์ไฟเตส 11
ตารางที่ 1.6 การเปรียบเทียบปริมาณมลพิษจากการเพาะเลี้ยงปลานิลและกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด 13
ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐาน (basal diet) และอาหารที่มีปลาป่นในระดับสูง และองค์ประกอบทางเคมีในอาหาร 18
ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองและอาหารในแต่ละกลุ่มทดลอง 19
ตารางที่ 2.3 กลุ่มทดลองและอาหารในแต่ละกลุ่มทดลอง 26
ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลานิล 29
ตารางที่ 3.2 ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาของปลาทดลอง 30
ตารางที่ 3.3 ค่าทางโลหิตวิทยาของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 31
ตารางที่ 3.4 สมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงในตู้กระจก ... 47
ตารางที่ 3.5 คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงปลาในตู้กระจก 48

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 ไฟเตท (phytate) กรดไฟติก (phytic acid) ประกอบด้วยน้ำตาล myo-inositol ที่มีหมู่ฟอสเฟต (PO_4) อยู่รอบและจับกันด้วยพันธะโควาเลนต์..... 9

ภาพที่ 1.2 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง.....15

ภาพที่ 3.1 ระดับของกลูโคสในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 34

ภาพที่ 3.2 ระดับของคอเลสเตอรอลในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 35

ภาพที่ 3.3 ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 36

ภาพที่ 3.4 ระดับของโปรตีนในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 37

ภาพที่ 3.5 ระดับของ Blood Urea Nitrogen (BUN)ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 38

ภาพที่ 3.6 ระดับของแคลเซียมในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 39

ภาพที่ 3.7 ระดับของฟอสฟอรัสในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 40

ภาพที่ 3.8 ระดับของแมกนีเซียมในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 41

ภาพที่ 3.9 ระดับของเหล็กในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 42

ภาพที่ 3.10 ระดับของ Alternative complement activity (ACH50)ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 43

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 3.11 ระดับของอิมมูโนโกลบูลินรวม (Total immunoglobulin)ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 44

ภาพที่ 3.12 ระดับของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (Lysozyme)ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง..... 45

ภาพที่ 3.13 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำ (total phosphorus) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง..... 49

ภาพที่ 3.14 ปริมาณฟอสเฟตในน้ำ (total phosphorus) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง..... 50

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ปลาป่นจัดเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญสำหรับการผลิตอาหารเลี้ยงปลา เพราะปลาป่นมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ในปริมาณสูง และสัตว์น้ำสามารถนำโปรตีนในปลาป่นไปใช้ประโยชน์ได้ดี และยังเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Polyunsaturated fatty acid; PUFA) และแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำเพื่อการเจริญเติบโต เช่น แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส ที่เหมาะสม มีกลิ่นและรสกระตุ้น ทำให้ปลายอมรับอาหารที่มีปลาป่นเป็นองค์ประกอบ อย่างไรก็ตามได้มีการวิจัยและพัฒนาเพื่อหาวัตถุดิบโปรตีนอื่นแทนปลาป่นในสูตรอาหาร โดยเฉพาะในอาหารสัตว์บก เช่น อาหารไก่ อาหารหมู อาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง ที่ได้มีการลดการใช้ปลาป่นในสูตรอาหาร ซึ่งอาหารสัตว์บกหลายชนิดในปัจจุบันไม่มีส่วนผสมของปลาป่นในสูตรอาหาร ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำในปัจจุบัน มุ่งหวังที่จะลดการใช้ปลาป่น หรือหาวัตถุดิบอาหารอื่น ๆ ที่มาใช้ทดแทนปลาป่น ถึงแม้ว่าการใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนจากพืชเพื่อนำมาทดแทนการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารปลา อาจจะไม่สามารถทำได้ทั้งหมด แต่การลดการใช้ปลาป่นลงได้บางส่วนก็จะส่งผลให้ลดต้นทุนค่าอาหารปลาได้ การลดต้นทุนค่าอาหารปลาเป็นการลดต้นทุนในการเลี้ยงปลาที่สำคัญมาก เพราะต้นทุนหลักของการเลี้ยงปลานั้นเป็นค่าอาหารปลาเกินกว่า 60 เปอร์เซ็นต์

แหล่งโปรตีนจากพืชเป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในสูตรอาหารสัตว์น้ำเพื่อทดแทนปลาป่น โดยเฉพาะกากเมล็ดธัญพืช ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมัน จึงมีส่วนประกอบโปรตีนในปริมาณสูง จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอาหารสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามการทดแทนปลาป่นด้วยเมล็ดธัญพืชมีข้อจำกัด เนื่องจากองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีนจากพืชและเมล็ดธัญพืชหลายชนิดยังขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด ซึ่งในปัจจุบันได้มีกรดอะมิโนสังเคราะห์จำนวนมาก ที่สามารถนำกรดอะมิโนเหล่านี้มาเสริมในสูตรอาหารเพื่อให้สามารถใช้วัตถุดิบโปรตีนเหล่านี้แทนปลาป่นได้สูงขึ้น แต่ถึงกระนั้นกากเมล็ดธัญพืชหลายชนิดอาจมีเยื่อใยสูง และมักมีสารขัดขวางโภชนะที่สำคัญ ซึ่งก็คือไฟเตท (Phytate or phytic acid) ทำให้การทดแทนปลาป่นด้วยเมล็ดธัญพืชมีข้อจำกัด เพราะไฟเตทจัดเป็นสารขัดขวางโภชนะ (antinutritional factors) ขัดขวางการทำงานของการย่อยและการดูดซึมสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งสารประกอบเชิงซ้อนไฟเตทยังทำให้ปลาไม่ได้รับแร่ธาตุอาหารอย่างเต็มที่ ทำให้ต้องมีการเติมสารอาหารและแร่ธาตุลงไปในสูตรอาหาร ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียในเชิงคุณภาพน้ำ

เอ็นไซม์ไฟเตส (phytase) เป็นเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยไฟเตท ทำให้ได้ฟอสฟอรัสอิสระ ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric animals) รวมทั้งปลาหลายชนิด ไม่มีเอ็นไซม์ไฟเตสในระบบทางเดินอาหาร หรือมีการงานของเอ็นไซม์ไฟเตสที่มาจากจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร แต่มีในระดับต่ำ ซึ่งไม่

เพียงพอที่จะสามารถย่อยไฟเตทจากพืชและกากเมล็ดธัญพืช เมื่อได้รับในปริมาณที่สูงได้ การใช้เอ็นไซม์ไฟเตส (phytase) เพื่อย่อยไฟเตทจะทำให้ปลาใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุอาหารได้มากขึ้น โดยเฉพาะจะทำให้ได้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้น และทำให้ไฟเตทเปลี่ยนรูป จึงไม่มีผลต่อการขัดขวางการทำงานของน้ำย่อย จึงเป็นการลดผลเสียของการขัดขวางการใช้ประโยชน์จากสารอาหารด้วยไฟเตท

ถึงแม้ว่าการเลี้ยงปลาจะส่งผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งแวดล้อมทางน้ำ แต่ผลผลิตปลาก็มีความสำคัญเพราะเป็นอาหารโปรตีนที่มีคุณภาพดีสำหรับมนุษย์ นอกจากนี้ประชากรโลกที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ความต้องการอาหารของโลกมากขึ้น ประเทศไทยเป็นประเทศที่สำคัญที่ผลิตอาหารให้กับโลกโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องพัฒนาเป็นการเลี้ยงในระบบเข้มข้น (intensive system) ซึ่งเป็นระบบการเลี้ยงที่มีการปล่อยปลาในความหนาแน่นสูง และมีการให้อาหารสมทบซึ่งเป็นอาหารสำเร็จรูป (complete feed) อย่างเต็มที่ การพัฒนาอาหารปลาให้เป็นไปในเชิงที่เป็นทั้งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนะที่ครบถ้วน ปลาสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ ลดการใช้โปรตีนจากปลาป่น และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงเป็นหัวข้อวิจัยที่สำคัญในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาแบบยั่งยืน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

การศึกษาวิจัยการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารปลาที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในสูตรอาหารแทนปลาป่นสูงขึ้น โดยที่ปลายังคงมีสมรรถนะการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับการใช้ปลาป่นในสูตรอาหาร และมีสุขภาพที่ดี ทำให้ปลาใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสได้มากขึ้นจึงไม่จำเป็นต้องเสริมแร่ธาตุในสูตรอาหาร ส่งผลให้ปลาขับถ่ายฟอสฟอรัสออกสู่แหล่งน้ำน้อยลง วิธีการดังกล่าวนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการเลี้ยงปลาให้เป็นไปในระบบที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมได้อย่างดี เพราะเป็นการจัดการที่ระบบต้นทาง สามารถลดต้นทุนค่าอาหาร เพิ่มการใช้ประโยชน์ในอาหารของปลา เป็นวิธีการที่น่าจะเป็นทางเลือกสำหรับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาเพื่อลดมลภาวะของแหล่งน้ำ เอื้อการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่า

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นปลาที่มีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคทั้งภายในประเทศ และการส่งออกไปขายยังต่างประเทศ โดยทั่วไปปลานิลจัดเป็นปลากินพืช (herbivores) ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีส่วนประกอบของวัตถุดิบโปรตีนจากพืชได้ดี อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงการค้า เพื่อให้ปลานิลมีสมรรถนะการเจริญเติบโตที่สูง จึงใช้อาหารที่มีระดับโปรตีนสูง การขยายตัวของการเพาะเลี้ยงปลานิลก่อให้เกิดการขยายตัวของอุตสาหกรรมอาหารปลานิลอย่างมาก ดังนั้นการวิจัยเพื่อพัฒนาอาหารปลานิลให้มีคุณภาพดี มีคุณค่าทางโภชนะที่ทำให้ปลานิลมีสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ดี มีสุขภาพดี สามารถใช้วัตถุดิบต่าง ๆ ได้หลากหลายชนิด จึงเป็นการวิจัยที่มีประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลานิล และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการผลิตปลานิลของประเทศไทย ผลการวิจัยนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตปลานิล หรือนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิลอย่างยั้งยืน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมได้ต่อไป

การตรวจเอกสารวิชาการ

ปลาป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปลาหลายชนิด ส่วนใหญ่ได้จาก anchovies herrings menhaden sardines shads smelts ที่ผลิตจากประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก โดยประเทศที่มีการผลิตปลาป่นมากเป็น 10 อันดับแรกของโลก ได้แก่ เปรู (Peru) ชิลี (Chile) จีน (China) ไทย (Thailand) สหรัฐอเมริกา (United State of America) สหภาพยุโรป (European Union) ไอซ์แลนด์และนอร์เวย์ (Iceland and Norway) เดนมาร์ก (Denmark) ญี่ปุ่น (Japan) แอฟริกาใต้ (South Africa) ตารางที่ 1.1 แสดงผลผลิตปลาป่นในประเทศที่มีการผลิตปลาป่นมาก 6 อันดับแรก ดังนั้นปลาป่นที่ใช้ในอาหารสัตว์ได้จากการผลิตในประเทศและการนำเข้าจากต่างประเทศ ปลาป่นที่ผลิตในประเทศได้จากอุตสาหกรรมต่อเนื่องการประมง อุตสาหกรรมห้องเย็น การแปรรูปปลา ได้แก่ โรงงานปลากระป๋อง และโรงงานซูริมิ ปลาป่นคุณภาพดีโดยทั่วไปจะมีโปรตีนอยู่ประมาณ 62 - 72 เปอร์เซ็นต์ ปลาป่นส่วนใหญ่ที่ผลิตได้ในประเทศจึงเป็นปลาป่นที่คุณภาพแบบกลาง ๆ หรือมีองค์ประกอบโปรตีนประมาณ 50 - 60 เปอร์เซ็นต์

ปลาป่น (fish meal) เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทโปรตีนที่สำคัญในการผลิตอาหารสัตว์ทั้งสัตว์บกและสัตว์น้ำ เนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่ให้โปรตีนคุณภาพดีในปริมาณที่สูง สำหรับอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์บกได้แก่ อาหารสัตว์ปีก และอาหารสุกร ได้มีการลดการใช้ปลาป่นลง จนแทบจะไม่ใช้เลย เนื่องจากสามารถใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนจากพืชแทน แต่ในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ อาหารปลา และอาหารกุ้ง ยังคงใช้ปลาป่นในสูตรอาหารอยู่ อาหารปลาบางชนิดอาจมีปลาป่นเป็นองค์ประกอบถึง 32 - 45 เปอร์เซ็นต์ โดยที่อาหารปลากินพืช ได้แก่ ปลาไน ปลาทิลาเปีย (tilapia) อาจมีปลาป่นเป็นส่วนประกอบประมาณ 5 – 7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารของ ปลาเทร้า ปลาซาลมอน และปลาทะเลหลายชนิด อาจมีปลาป่นเป็นองค์ประกอบถึง 40 – 50 เปอร์เซนต์ อาหารกุ้งอาจมีปลาป่นเป็นองค์ประกอบถึง 25 – 42 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารทำให้เกิดกลิ่นกระตุ้นให้สัตว์น้ำกินอาหารเป็นปกติ อีกทั้งปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนที่มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นที่สัตว์น้ำต้องการ (ตารางที่ 1.2) ดังนั้นการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงทำให้มีการใช้ปลาป่นเพิ่มมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1.3 แสดงถึงการใช้ปลาป่นที่เพิ่มมากขึ้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ในขณะที่การผลิตสัตว์อื่น ๆ มีแนวโน้มใช้ปลาป่นน้อยลง ดังนั้นจึงควรมีการวิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ เพื่อนำไปสู่การหาแหล่งโปรตีนทางเลือกอื่น ๆ เพื่อใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารสัตว์น้ำ

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบ (เปอร์เซนต์) ของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) ในวัตถุดิบอาหารประเภทโปรตีนที่นิยมใช้ในอาหารสัตว์น้ำ

กรดอะมิโน	ปลาป่น (fish meal)	เนื้อป่น (rendered meat meal)	ผลพลอยได้จากไก่ (poultry-by-product meal)	เลือดป่น (blood meal)	กากถั่วเหลือง (soy bean meal)
อาร์จินีน	3.82	3.60	4.06	3.75	3.67
ฮีสติดีน	1.45	0.89	1.09	5.14	1.22
ไอโซลิวซีน	2.66	1.64	2.30	0.97	2.14
ลิวซีน	4.48	2.85	4.11	10.82	3.63
ไลซีน	4.72	2.93	3.06	17.45	3.08
เมทไธโอนีน + ซีสตีน[1]	2.31	1.25	1.94	2.32	1.43
ฟีนิลอลานีน + ไทโรซีน[2]	4.35	2.99	3.97	8.47	4.20
ทรีโอนีน	2.31	1.64	0.94	3.76	1.89
ทริปโตฟาน	0.57	0.34	0.46	1.04	0.69
วาลีน	2.77	2.52	2.86	7.48	2.55
โปรตีน (%)	64.5	55.6	59.7	89.2	50.0

[1] ซีสตีนที่ถูกสังเคราะห์จากเมทไธโอนีน

[2] ไทโรซีนที่ถูกสังเคราะห์จากฟีนิลอลานีน

ที่มา : Miles and Chapman, 2005

ตารางที่ 1.2 การใช้ปลาป่นในการผลิตสัตว์

การผลิตสัตว์	ค.ศ. 2002	ค.ศ. 2010
การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	46 %	56 %
สุกร	24 %	20 %
สัตว์ปีก	22 %	12 %
สัตว์เคี้ยวเอื้อง	1 %	< 1 %
อื่น ๆ	7 %	12 %

ที่มา : Miles and Chapman, 2005

ตารางที่ 1.3 ผลผลิตปลาป่นจากประเทศต่าง ๆ ที่มีการผลิตปลาป่นมาก 6 อันดับแรก (ค.ศ. 2005 - 2009)

ประเทศ	2005	2006	2007	2008	2009
เปรู	2,019,900	1,378,000	1,407,000	1,430,300	1,346,900
ชิลี	870,400	854,700	781,900	729,700	641,000
ไทย	473,400	461,200	428,000	468,000	381,200
สหรัฐอเมริกา	268,600	232,000	251,500	216,200	249,000
ญี่ปุ่น	221,900	219,600	210,000	202,900	192,000
เดนมาร์ก	213,100	209,400	166,000	161,300	180,900
อื่น ๆ	1,955,400	1,794,100	1,808,400	1,798,400	1,784,200
รวม	6,022,700	5,230,000	5,052,800	5,006,800	4,775,200

ที่มา : www.seafish.org

โปรตีนทางเลือกที่ได้มีการศึกษานำมาใช้ในการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลา ได้แก่ ผลพลอยได้จากผลิตภัณฑ์สัตว์ต่าง ๆ ซึ่งสามารถนำมาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (El-Sayed et al., 1998; Hernandez et al., 2010; Cavalheiro et al., 2007) ผลพลอยได้จากการหมัก เช่น Distiller's dried grain with soluble (DDGS) ที่ได้มีการทดสอบการนำมาใช้ในสูตรอาหารปลานิล ได้ถึง 200 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เพื่อแทนกากถั่วและกากคาโนลา กากสาโทที่ได้มีการทดสอบการนำมาใช้ในสูตรอาหารปลานิลได้ถึง ได้ถึง 225 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยไม่ส่งผลเสียต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยา และสุขภาพปลานิล (Vechklang et al., 2011) นอกจากนี้ได้มีการทดสอบการนำผลพลอยได้จากพืช (plant-based aquafeed) และกากเมล็ดธัญพืช (grain by-products) มาใช้ในสูตรอาหารปลานิล โดยระดับที่นำมาใช้ในสูตรอาหารปลานิลโดยไม่ส่งผลกระทบด้านลบการสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพปลาจะมีระดับค่อนข้างกว้าง อยู่ในช่วง 100 - 450 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ขึ้นกับพืชแต่ละชนิด (Richter et al., 2003; Soltan et al., 2008)

การใช้โปรตีนจากพืชและผลพลอยได้จากกากเมล็ดธัญพืชยังมีข้อจำกัดอยู่มาก ทั้งในด้านองค์ประกอบของกรดอะมิโน เพราะชนิดของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับปลาส่วนใหญ่ ได้แก่ อาร์จินีน (Arginine) ฮีสติดีน (Histidine) ไอโซลิวซีน (Isoleucine) ลิวซีน (Leucine) ไลซีน (Lysine) เมทไธโอนีน (Methionine) ฟีนิลอลานีน (Phenylalanine) ทรีโอนีน (Threonine) ทริปโตฟาน (Tryptophan) วาลีน (Valine) และปริมาณของกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นปัจจัยที่สำคัญที่เป็นข้อจำกัดในการใช้ผลพลอยได้จากกากธัญพืชในสูตรอาหารปลา ซึ่งอาจใช้กรดอะมิโนสังเคราะห์เสริมในอาหารปลาเพื่อปรับให้อาหารปลามีคุณค่าทางโภชนะครบถ้วนตามความต้องการของปลาได้ อย่างไรก็ตามแหล่งวัตถุดิบจากพืชและกากเมล็ดธัญพืชยังมีเยื่อใยในปริมาณสูง และอาจมีสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งปลาไม่สามารถจะย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ และสารประกอบเชิงซ้อนยังเป็นสาร

ขัดขวางโภชนะ (antinutritional factors) ที่ไปจับกับสารโภชนะอื่น ๆ แล้วขัดขวางการใช้ประโยชน์ เช่น สารประกอบเชิงซ้อนของฟอสฟอรัสที่ขัดขวางไม่ให้ปลานำฟอสฟอรัสในอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งถ้าปลาขาดฟอสฟอรัสหรือได้รับไม่เพียงพอ จะมีการเจริญเติบโตช้า จึงได้มีการเติมสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสลงไปในอาหารในรูปต่าง ๆ กัน เช่น การเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตในอาหารปลานิลของ Dato-Cajegas and Yakupitiyage (1996) การเสริมไดแคลเซียมฟอสเฟตในอาหารในผลการวิจัยของ Viola และคณะ (1994) และการเสริมโมโนแคลเซียมฟอสเฟต (Wee and Shu, 1989) แต่ก็จะทำให้ไฟเตทที่ปลาไม่ได้ใช้ประโยชน์ถูกขับออกมาเป็นของเสียในแหล่งน้ำ

ไฟเตท (phytate) หรือ ไฟติคเอซิด (phytic acid) เป็น myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphates ประกอบด้วยฟอสฟอริค 6 กลุ่มจับอยู่กับ myo-inositol ด้วยพันธะเอสเตอร์ ทำให้มีโครงสร้างเป็นรูปหกเหลี่ยม (ภาพที่ 1.1) ซึ่งไฟเตทจะมีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 28.2 ของน้ำหนักโมเลกุล พืชอาหารสัตว์ส่วนใหญ่จะมีปริมาณไฟเตทโดยปริมาณที่มีอาจจะแตกต่างกัน (Cao et al., 2007) เนื่องจากไฟเตทมีองค์ประกอบของหมู่ฟอสเฟตจำนวนมาก หมู่ฟอสเฟตที่มีประจุลบจะจับกับแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ เช่น โปตัสเซียม (K) แมกนีเซียม (Mg) แคลเซียม (Ca) สังกะสี (Zn) เหล็ก (Fe) ทองแดง (Cu) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำยาก ซึ่งทำให้ปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุเหล่านี้ในอาหารได้ และเกลือของไฟเตท หรือไฟตินจับกับหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนและโปรตีน (protein-phytate interaction) ทำให้ขัดขวางการใช้ประโยชน์ของโปรตีน (Pointillart et al., 1987) การทดลองในหลอดทดลองรายงานว่าไฟเตทสามารถจับกับเอ็นไซม์ทริปซิน (trypsin) ซึ่งส่งผลต่อการลดการทำงานในการย่อยโปรตีน (Singh and Krikorian, 1982)

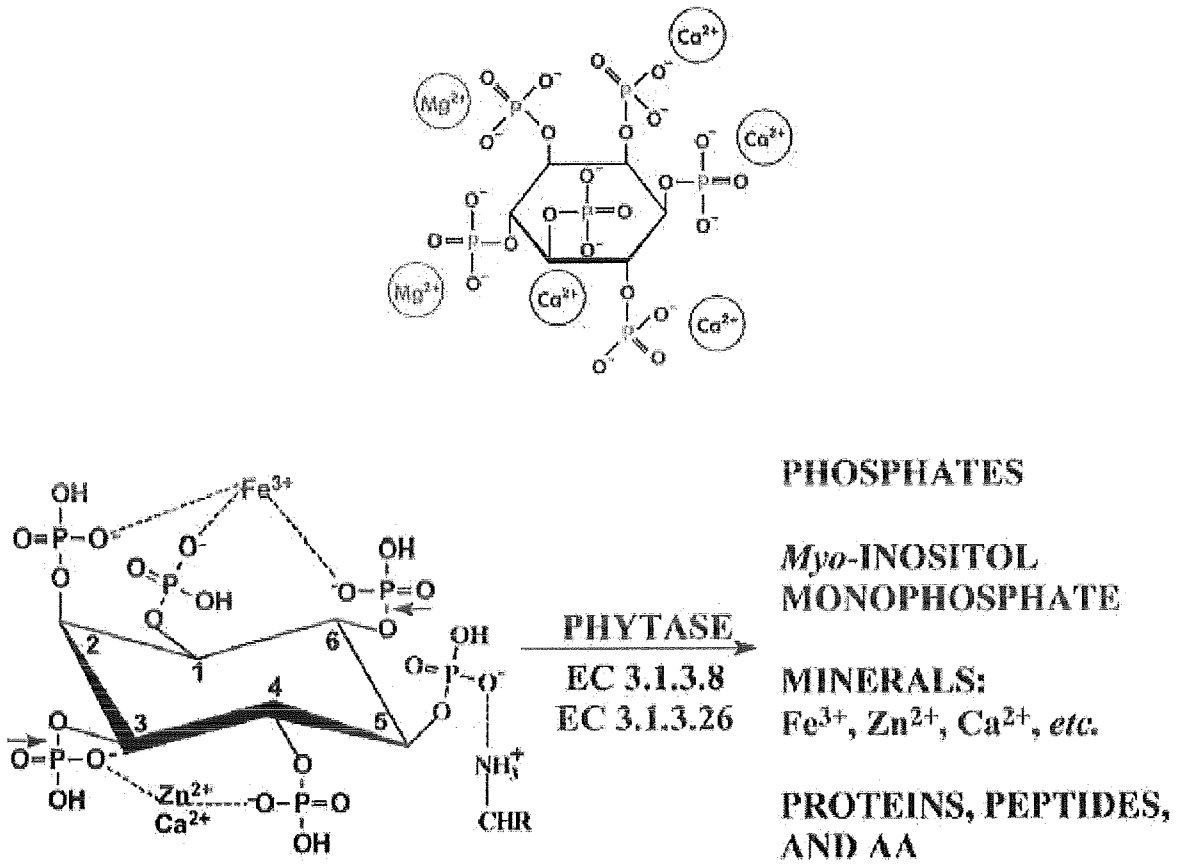
ไฟเตทที่ปลาไม่สามารถนำไปใช้ได้จะถูกขับออกมาในรูปของมูลปลา ต่อมาเมื่อถูกย่อยสลายหรือแตกตัวโดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติจะให้ฟอสฟอรัส ซึ่งเป็นมลภาวะแหล่งน้ำโดยตรง แนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากพืชคือ การใช้เอ็นไซมไฟเตส เอ็นไซม์ไฟเตสทำหน้าที่ในการไฮโดรไลซีสไฟเตท (ภาพที่ 1.1) ทำให้ฟอสเฟตหลุดออก ทำให้ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสเหล่านี้ได้ โดยไม่ต้องเพิ่มสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเข้าไปในอาหารปลาอีก นอกจากนี้ยังการใช้ไฟเตสเอื้อต่อการลดต้นทุนอาหารปลา เพราะเป็นตัวช่วยในการลดการใช้ปลาป่น หรือเพิ่มการใช้ประโยชน์จากพืชเป็นวัตถุดิบในอาหารปลา ลดการเสริมสารอนินทรีย์ฟอสเฟต ช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ

ไฟเตส (phytase or myo-inositol-hexaphosphate phosphohydrolase (Class3: Hydrolases)) เป็นเอ็นไซม์ที่มีอยู่ในธรรมชาติพบได้ในจุลินทรีย์และรา (ตารางที่ 1.4) ช่วง pH ที่เอ็นไซม์ไฟเตสทำงานได้จะอยู่ในช่วง pH 4.0 – 6.0 หน่วยของเอ็นไซม์ไฟเตส นิยมใช้ FTU คือ ปริมาณของเอ็นไซม์ที่สามารถย่อย 0.0015 mol/L sodiuphytate ได้เป็นสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (inorganic phosphorus) 1 ไมโครโมล (micromol) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 5.5 (Von Sheuermann et al., 1988) ปัจจุบันสามารถผลิตเอ็นไซม์ไฟเตสได้ในระดับอุตสาหกรรม โดยกระบวนการหมัก เพราะได้มีการนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพการตัดต่อยีนเข้ามาใช้ในการพัฒนาไฟเตสให้มีคุณสมบัติการทำงานได้ดีขึ้น ทนความร้อน ความชื้น มีการ

ทำงานในช่วงพีเอชที่กว้างขึ้น (ตารางที่1.4) นอกจากนี้ยังมีการนำเอาเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ในการตัดต่อยีน โดยการนำยีนของเอ็นไซม์ไฟเตสไปใส่ไว้ในแบคทีเรียที่สามารถผลิตได้จำนวนมากในกระบวนการหมักในถังหมัก ทำให้ผลิตได้ปริมาณมากเพียงพอที่จะนำไปใช้ในอาหารสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด ในอาหารไก่เนื้อซึ่งทำจากวัตถุดิบพืชทั้งหมดก็มีการใช้ไฟเตสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้อาหารในการเลี้ยงไก่เนื้อ (Cao et al., 2007) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารสัตว์ปีกและอาหารสุกรช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสจากพืชอาหารสัตว์ได้ (Han et al. 1997; Nernberg, 1998) และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ของทองแดงและสังกะสีในอาหารสุกร (Adeola et al., 1995) และอาหารสัตว์ปีก (Yi et al., 1996) การศึกษาในสัตว์ปีกรายงานว่าไฟเตสช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ของโปรตีนและกรดอะมิโน โดยการที่ไฟเตสทำลายการจับกันของสารประกอบเชิงซ้อน ไฟตินและโปรตีน (kornegay, 1995)

การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสในอาหารปลาเรนโบว์เทร้า (Rodehutscord et al., 1995) ปลา channel catfish (Li and Robinson, 1997) ปลาอุกแอฟริกัน (Van Weerd et al., 1998) ปลา *Pangasius pangasius* (Devnath, 2003) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารช่วยเพิ่มแร่ธาตุ แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมงกานีส และ สังกะสี ในพลาสมา กระดูก และร่างกายปลา (Vielma et al., 1998) การเสริมไฟเตสในอาหารปลาทำให้ไฟเตทที่มีอยู่ในวัตถุดิบอาหารถูกย่อยไปอยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ Schafer and Koppe (1995) ได้ใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเสริมในอาหารปลาไนที่มีกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบที่ระดับ 500 และ 1000 U/kg พบว่าทำให้ฟอสฟอรัสอิสระหลุดออกจากไฟเตทได้ 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ Sugiura และคณะ (2001) พบว่าเมื่อเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาเรนโบว์เทร้า ทำให้ปลาสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสจากอาหารไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นถึง 90-93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารปลาที่ไม่ได้เสริมเอ็นไซม์ ปลามีการดูดซึมแร่ธาตุฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้เพียง 27 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้รายงานการวิจัยการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาก็สนับสนุนถึงการใช้ประโยชน์ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นในร่างกายปลา (Ai et al., 2007) ในการผลิตอาหารปลาส่วนใหญ่ที่เป็นอาหารเม็ดลอยน้ำ ต้องผ่านขั้นตอนการอัดอาหารที่ใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งเอ็นไซม์ไฟเตสจะถูกทำลายในสภาวะที่อุณหภูมิสูงได้ ตารางที่ 1.5 แสดง ผลของการอัดอาหารที่อุณหภูมิสูงต่อการเสียสภาพของเอ็นไซม์ไฟเตส

ของเสียที่ถูกปล่อยจากฟาร์มเลี้ยงปลา ได้แก่ ของเสียที่เป็นของแข็งในน้ำ (solid waste) ของเสียที่ละลายน้ำ (dissolved waste) สารเคมีที่ใช้ในระหว่างการเลี้ยงปลา (chemical) และจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตที่เป็นสาเหตุของโรคปลา (pathogenic waste) เป็นต้น (Miller and Semmens, 2002) ของแข็งในน้ำที่ถูกปล่อยจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมักจะเป็นของแข็งที่แขวนลอยในน้ำ (suspended solid waster) เนื่องจากปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์จากไฟเตทที่อยู่ในอาหารได้ ปลาจึงขับถ่ายไฟเตทออกมาในแหล่งน้ำ



ภาพที่ 1.1 ไฟเตท (phytate) กรดไฟติก (phytic acid) ประกอบด้วยน้ำตาล myo-inositol ที่มีหมู่ฟอสเฟต (PO_4) อยู่รอบและจับกันด้วยพันธะโควาเลนต์

ที่มา : http://ip-6.net/faq.html; http://en.engormix.com/

ตารางที่ 1.4 การเปรียบเทียบการทำงานของเอ็นไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์และราต่าง ๆ

แหล่งไฟเตส	Phytase activity (37 ^{0}C) (U/mg)	ช่วงพีเอชที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน (^{0}C)
Fungi			
Aspergillus fumigatus	23-28	5.0-6.0	60
A. niger	50.103	5.0-5.5	55-58
A. oryzae	11	5.5	50
Penicillium simplicissimum	3	4	55
Bacteria			
Bacillus amylaliquefaciens	20	7.0-8.0	70
B. subtilis	9.0	6.5-7.5	55-60
Klebsiella terrigena	15	5	58
Yeast			
Candida krusei	1200	4.6	40

ที่มา : Cao et al. (2007)

ตารางที่ 1.5 ผลของการอัดอาหารเม็ดที่อุณหภูมิสูงต่อการเสียสภาพของเอ็นไซม์ไฟเตส

อุณหภูมิในอาหารก่อนอัดเม็ด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิในระหว่างการอัดเม็ดอาหาร (องศาเซลเซียส)	Phytase acitivity (U/กิโลกรัมอาหาร)	ประสิทธิการทำงานที่คงเหลือหลังจากผ่านการอัดเม็ด (%)
ก่อนอัดเม็ดอาหาร		250	100
50	78	240	96
50	81	234	94
65	84	208	83
65	87	115	46

ที่มา : Simons et al., 1990

ไฟเตทที่ถูกขับออกสู่แหล่งน้ำจะถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำทำให้ได้ฟอสเฟตในแหล่งน้ำ ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะในแหล่งน้ำได้ จะทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณสารอาหารและมีความเข้มข้นของของแข็งมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดปัญหายูโทรฟิเคชั่น (Camargo, 1992; Renert, 1994) ทำให้แหล่งน้ำเน่าเสีย คุณภาพน้ำของแหล่งน้ำลดลง ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ และมีผลต่อการใช้ประโยชน์ของมนุษย์เพื่อนำไปใช้ในการอุปโภคและบริโภค ดังนั้นในการพัฒนาอาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบโปรตีนจากพืช หรือกากเมล็ดธัญพืช นอกจากจะพิจารณาด้านโภชนะศาสตร์ของปลาแล้ว ควรคำนึงถึงการพัฒนาอาหารที่ปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ และลดสิ่งขับถ่ายที่อาจก่อให้เกิดมลภาวะของสิ่งแวดล้อม (Environmentally-friendly aquafeed) จึงควรทดสอบการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตส (phytase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่ย่อยไฟเตท ทำให้เพิ่มการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร เพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ ลดการขับถ่ายแร่ธาตุออกมากับของเสียของปลา ทำให้เป็นลดของเสียในน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปลา จึงจะเป็นการพัฒนาการเลี้ยงปลาเพื่อการลดต้นทุนและได้ผลผลิตไม่ต่ำไปจากเดิม เพิ่มการใช้ประโยชน์จากแหล่งวัตถุดิบอาหารจากพืชให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงจะเป็นประโยชน์ต่อการเลี้ยงปลาทั้งในเชิงเศรษฐกิจ และในเชิงอนุรักษ์แหล่งน้ำ

ข้อจำกัดของพื้นที่แหล่งน้ำในประเทศไทย ทำให้การขยายตัวของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำพัฒนาไปสู่ระบบการเลี้ยงในระบบเข้มข้น (intensive aquaculture system) มีการเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่น ซึ่งจะส่งผลให้มีของเสียถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำโดยตรง โดยปกติมาตรการการควบคุมการปล่อยของเสียในประเทศมักจะเข้มงวดกับโรงงานอุตสาหกรรมมากกว่าการเกษตรกรรม การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจัดเป็นการเกษตรอีกชนิดหนึ่ง จึงยังไม่มีมาตรการหรือข้อกำหนดที่เข้มงวดต่อการเพาะเลี้ยงปลานิล ในขณะที่แนวโน้มในต่างประเทศกำลังจะให้ความเข้มงวดและตรวจระวังการปล่อยของเสียของภาคเกษตรกรรมมากขึ้น โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะเป็นกิจกรรมที่มีการปล่อยของเสียลงสู่แหล่งน้ำได้โดยตรงกว่ากิจกรรมเกษตรอย่างอื่น ถึงแม้ว่าในประเทศไทยจะยังไม่มีมาตรการที่เป็นรูปธรรมที่ชัดเจน แต่ก็มีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่มีการเก็บรวบรวมข้อมูลการประเมินมลพิษจากแหล่งกำเนิดที่เป็นบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่ รายงานปริมาณมลพิษจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดของ ส่วนน้ำเสียเกษตรกรรม สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ แสดงดังตารางที่ 1.6

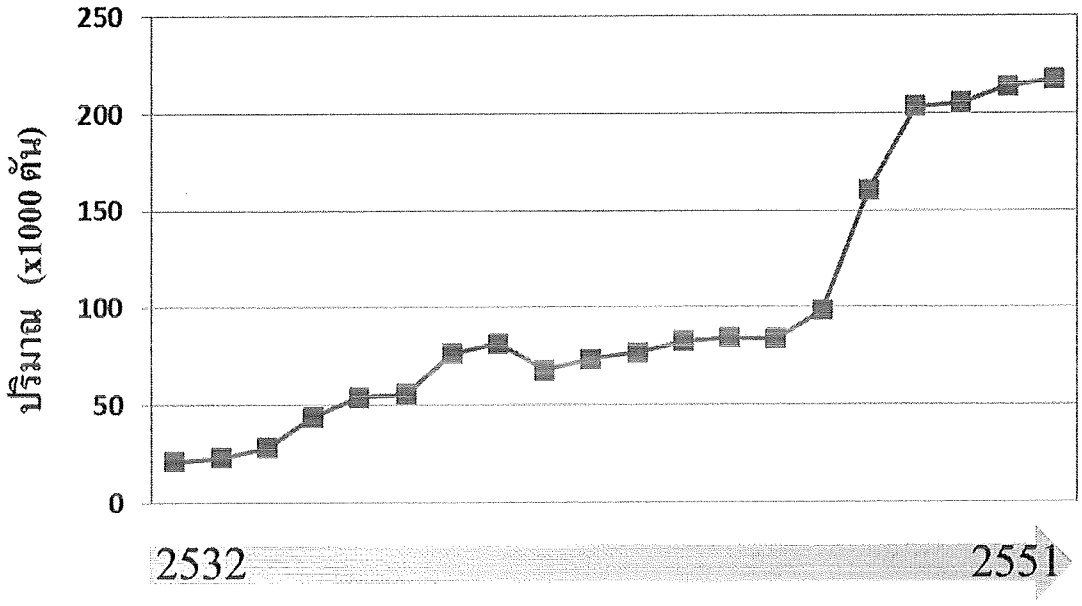
ตารางที่ 1.6 การเปรียบเทียบปริมาณมลพิษจากการเพาะเลี้ยงปลานิลและกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด

ค่าคุณภาพน้ำ	ปริมาณของเสียจากบ่อเลี้ยงปลานิล[1]	มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง[2]
บีโอดี	87.2 (กก./ไร่/ปี)	ไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร
ไนโตรเจนรวม	8.2 (กก./ไร่/ปี)	ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ฟอสฟอรัสรวม	2 (กก./ไร่/ปี)	ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ของแขวนลอยในน้ำ	590 (กก./ไร่/ปี)	ไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อลิตร
ปริมาณน้ำที่ทิ้ง	2,779.70 (ลบม./ไร่/ปี)	

[1]ส่วนน้ำเสียเกษตรกรรม สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ (2550)

[2]ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2551)

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) เป็นปลาน้ำจืดที่มีการเลี้ยงอยู่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ไทย และมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจโดยเป็นปลาที่มีผลผลิตเป็นอันดับหนึ่งของไทย (ภาพที่ 1.2) ดังจะเห็นได้จากสถิติผลผลิตของการเพาะเลี้ยงปลานิลปี 2552 มีปริมาณ 258,500 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9881.5 ล้านบาท (ส่วนเศรษฐกิจการประมง, 2553) เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายและเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สามารถกินอาหารได้หลากหลาย อีกทั้งยังเป็นปลาที่มีรสชาติดี สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท จึงได้มีการเพิ่มการผลิตการเพาะเลี้ยงปลานิลเพื่อให้ได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้นเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค การเลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่ในปัจจุบันจะพัฒนาไปในระบบของการแขวนกระชัง ซึ่งหมายถึงการเลี้ยงปลาในแหล่งน้ำเปิดภายในวงกั้นของที่กักขัง แหล่งน้ำเปิด ได้แก่ บึง อ่างเก็บน้ำ คลอง และแม่น้ำ การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นที่นิยมเพราะว่าเลี้ยงปลาได้หนาแน่น เป็นการใช้ประโยชน์จากแหล่งน้ำซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดูแลจัดการได้สะดวก การเก็บเกี่ยวผลผลิตทำได้ง่าย การลงทุนต่ำผลตอบแทนต่อพื้นที่สูง แต่ปัญหาใหญ่ของการเลี้ยงปลาในกระชังก็คือ เรื่องปัญหามลภาวะแวดล้อม ผู้เลี้ยงต้องมีการจัดการเรื่องอาหารอย่างดี จึงจะลดปัญหามลภาวะแวดล้อมได้ การเลี้ยงปลาในกระชังนิยมปล่อยปลาระยะวัยรุ่นขนาดประมาณ 50-60 กรัม ในอัตราความหนาแน่น 1000 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร เลี้ยงปลานิลใช้ระยะเวลา 4 เดือน (อุดม, 2549) ก็สามารถจับปลาขายสู่ตลาดผลิตภัณฑ์เนื้อปลาได้ บางจังหวัดของประเทศไทยที่มีแหล่งน้ำอุดมสมบูรณ์ สามารถเลี้ยงปลานิลได้ตลอดทั้งปี ดังนั้นการเลี้ยงปลานิลจึงควรจะให้ความสำคัญต่อการลดของเสียที่ปลานิลขับถ่ายออกมา และควบคุมคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงมากขึ้น



ภาพที่ 1.2 ผลผลิตของปลานิลจากการเพาะเลี้ยง

ที่มา: www.fisheries.go.th/it-stat/yearbook/data_2551/menu.2551.htm

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเพิ่มประสิทธิภาพการทดแทนปลาป่นด้วยพืชอาหารสัตว์ในอาหารปล
2. เพื่อใช้เอ็นไซม์ไฟเตสในการลดการขับถ่ายฟอสฟอรัสลงสู่ระบบน้ำที่เลี้ยงปลา ในระบบการเลี้ยงปลาที่ใช้วัตถุดิบโปรตีนจากพืชอาหารสัตว์

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเสริมในอาหารปลาที่ประกอบขึ้นโดยใช้วัตถุดิบอาหารจากพืช คือกากถั่วเหลือง ทดแทนสัดส่วนของปลาป่นในสูตรอาหาร เพื่อลดการขับถ่ายฟอสฟอรัสลงสู่ระบบน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปลา และไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเลี้ยงปลา โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ **การทดลองที่ 1** เป็นการศึกษาเกี่ยวกับผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในในสูตรอาหารปลาที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนพืชในแง่ของผลผลิต สมรรถนะของการผลิตปลานิล จะเป็นการวิเคราะห์เปรียบเทียบทางด้านการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพื่อเป็นค่าบ่งบอกถึงต้นทุนอาหารที่ใช้ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยนี้จะครอบคลุมถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา และค่าเคมีในเลือด ได้แก่ กลูโคส คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีนรวมในเลือด blood urea nitrogen แร่ธาตุในเลือด เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ในเลือดปลานิล และสุขภาพปลาในเชิงโลหิตวิทยาและค่าภูมิคุ้มกันบางประการ **การทดลองที่ 2** เป็นการศึกษาปริมาณฟอสฟอรัส ในรูปฟอสฟอรัสทั้งหมดและออโธฟอสเฟต และปริมาณแอมโมเนียในน้ำทิ้ง เมื่อมีการเลี้ยงปลาด้วยสูตรอาหารที่เสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาที่มีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบในระดับสูง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การทดลองนี้จะทำให้ได้ทราบข้อมูลถึงผลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเสริมในอาหารปลานิลในระยะปลานิลวัยรุ่น ซึ่งเป็นระยะที่ใช้อาหารที่มีโปรตีนสูง และมีการใช้ปลาป่นในระดับสูงเพื่อให้ได้ปลาที่เจริญเติบโตเร็ว การศึกษาถึงผลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเป็นสารเสริมในสูตรอาหารที่มีกากถั่วเหลืองอยู่ในปริมาณสูง เพื่อลดการใช้ปลาป่นโดยใช้กากถั่วเหลืองทดแทนในสูตรอาหาร ซึ่งข้อมูลการศึกษาในด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าทางภูมิคุ้มกันที่บ่งบอกสุขภาพปลา รวมทั้งค่าคุณภาพน้ำ จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลา อุตสาหกรรมการเลี้ยงปลานิล และอุตสาหกรรมอาหารปลานิล

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาเป็นการศึกษาถึงผลการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง ต่อการเพาะเลี้ยงปลานิลในระยะวัยรุ่น และคุณภาพน้ำ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ใช้ปลาป่นในปริมาณสูง และอาหารที่มีการเสริมแร่ธาตุ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพปลานิล และการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงต่อระดับฟอสฟอรัสในน้ำ และค่าคุณภาพน้ำบางประการ

<u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลาด้วยวัตถุดิบโปรตีนจากพืชที่เสริมด้วยเอ็นไซม์ไฟเตสต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพปลานิล

1. การเตรียมปลาทดลองและการเตรียมกระชังปลาทดลอง

ปลาทดลองในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นปลานิลเพศผู้ล้วน (*Oreochromis niloticus*) สายพันธุ์จิตรลดา 3 ขนาดประมาณ 35 – 44 กรัม ซึ่งได้รับจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นำมาเลี้ยงในกระชังทดลองขนาน 2 * 2 * 2 ลูกบาศ์กเมตร จำนวน 30 กระชัง ที่แขวนไว้ในอ่างเก็บน้ำฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยทำการสุ่มปลาลงกระชัง กระชังละ 30 ตัว เลี้ยงปลาเพื่อปรับสภาพก่อนเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนเข้าสู่การทดลอง

2. การเตรียมอาหารปลาทดลอง การวางแผนการทดลอง และการเลี้ยงปลาทดลอง

อาหารปลาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จะเป็นอาหารปลาที่ประกอบเอง โดยใช้เครื่องบด เครื่องผสม และเครื่องอัดเม็ดของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วัตถุดิบอาหารที่ใช้ซื้อจากโรงงานอาหารสัตว์และบริษัทที่จำหน่ายวัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ กากถั่วเหลือง รำ มันเส้น ข้าวโพด และใช้ปลาป่นเสริมเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่า 32 เปอร์เซ็นต์ โดยตารางที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบของอาหารพื้นฐาน

การทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design) โดยแต่ละทรีทเมนต์มีจำนวนซ้ำ (กระชัง) ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ รายละเอียดของทรีทเมนต์แสดงดังตารางที่ 2.2 ปรับสภาพปลานิลให้เข้ากับสภาพการทดลอง โดยการให้อาหารพื้นฐาน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดลองตามกลุ่มทดลอง โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐาน (basal diet) และอาหารที่มีปลาป่นในระดับสูง และองค์ประกอบทางเคมีในอาหาร

วัตถุดิบ (%)	อาหารพื้นฐาน (basal diet)	อาหารที่มีปลาป่นในระดับสูง
ปลาป่น	9	30
กากถั่วเหลือง	48	27
รำ	15	15
มันเส้น	18	12
ข้าวโพด	7	15
น้ำมันพืช	1.5	-
พรีมิกซ์[ก]	0.5	0.5
วิตามินซี	0.5	0.5
DL-methionine	0.5	-
องค์ประกอบทางเคมีในอาหาร (%)		
ความชื้น	77.8	78.7
โปรตีน	32.4	32.0
ไขมัน	6.2	6.8
ไฟเบอร์	11.2	3.9

[ก] Vitamin and trace mineral mix provided the following (IU kg^{-1} or g kg^{-1}diet): biotin, 0.25 g; folic acid, 0.003 g; inositol, 0.25 mg; niacin, 0.0215 g; pantothenic acid, 0.03 g; vitamin A, 5,000 IU; vitamin B1, 0.0025 g; vitamin B2, 0.0012 g; vitamin B6, 0.0075 g; vitamin B12 0.00005 mg; vitamin C, 1 g; vitamin D3, 1,000 IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K, 0.008 g; copper, 0.02 g; iron, 0.2 g; selenium, 0.3 mg; zinc, 0.32 g

ตารางที่ 2.2 กลุ่มทดลองและอาหารในแต่ละกลุ่มทดลอง

กลุ่มทดลอง	อาหารปลา
1	อาหารพื้นฐาน [กลุ่มควบคุม (Basal diet)]
2	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส[1] 750 FTU
3	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส[1] 1500 FTU
4	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4 1.5 %
5	อาหารที่มีปลาป่นในระดับสูง

[1] ไฟเตสที่ใช้ในการทดลองนี้คือ Natuphos® 10000 G (BASF)

วันละ 2 มื้อ เช้า – เย็น ตลอดการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ สภาพอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิน้ำตลอดระยะเวลาการทดลองอยู่ในช่วงระหว่าง 27 – 33 องศาเซลเซียส และ 26 – 28 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO) อยู่ในช่วง 4.98 – 5.98 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.52–8.10

3. การเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การทดลองนี้ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ และทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต โดยทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 5 ตัว มาชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ดังต่อไปนี้

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ [Specific growth rate, SGR (%/day)]

$$= \frac{[(\text{Ln น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{Ln น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})] \times 100}{\text{ระยะเวลาการทดลอง}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

ทำการนับจำนวนปลาที่เหลือในทุก ๆ ซ้ำ ของทุกกลุ่มทดลองเพื่อคำนวณอัตรารอด

อัตรารอด [Survival rate (%)]

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$$

4. การเก็บตัวอย่างเลือด

เมื่อเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ได้ทำการอดอาหารปลาเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง ทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองกระชังละมา 5 ตัว เพื่อทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลา โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือด Caudal vein ด้วยเข็มขนาด 21G ความยาว 1 นิ้ว ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร แบ่งเก็บเลือดในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยหลอดที่ 1 มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เพื่อใช้วิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและเก็บพลาสมา การเก็บพลาสมาทำโดยนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง ส่วนหลอดที่ 2 เป็นหลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ทำการเก็บซีรัมโดยปล่อยให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บซีรัมที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด และค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

หลังจากเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาหลังจากให้อาหารปลากินอิ่มเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือด ได้แก่ ค่ากลูโคส คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ โปรตีน BUN แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และเหล็กในเลือด

5. การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

5.1 การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง

ก่อนการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงได้ทำการเจือจางเลือดปลาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ด้วยสารละลาย Gower's solution (Sodium sulfate 12.5 กรัม, Glacial acetic acid 33.3 มิลลิลิตร ปรับน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร)โดยใช้ปิเปตสำหรับเจือจางเพื่อนับเม็ดเลือดแดง (Thoma diluting red cell pipette) ดูดเลือดถึงขีด 0.5 จากนั้นดูด Gower's solution ถึงขีด 101 จะได้อัตราส่วนเจือจาง 1:200 เขย่าให้เข้ากัน 2 – 3 นาที หยดสารละลายทิ้ง 3 หยด จากนั้นหยดลงบน Hemocytometer chamber ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ นับในช่องพื้นที่ใหญ่ตรงกลาง ซึ่งมีพื้นที่เล็ก 25 ช่อง นับเพียง 5 ช่อง ตรงมุมบน ล่าง ซ้าย ขวา และตรงกลาง

จำนวนเม็ดเลือดแดง (*cell mm^{-3}) = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมดใน 5 ช่อง x 10 x 5 x 200

5.2 การวัดค่าฮีโมโกลบิน

การวัดค่าฮีโมโกลบินใช้ชุดน้ำยา Hemoglobin set (Cyanmethemoglobin method) (บริษัท Biotechnical) เติมน้ำยา Drabkin reagent ลงในหลอดแก้ว 5 มิลลิลิตร ใส่เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของ

เลือด (EDTA) ลงในหลอด 20 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และทำการสร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารเคมีที่มาพร้อมกับชุดน้ำยา นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ Drabkin reagent เป็น Blank นำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าฮีโมโกลบิน โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

5.3 การวัดค่าฮีมาโตคริต

ทำการเขย่าหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดให้แน่ใจว่าเม็ดเลือดไม่ตกตะกอน จากนั้นนำปลายหลอด Microhematocrit capillary tube จุ่มลงในหลอดเก็บเลือดให้เลือดไหลเข้ามาใน Capillary tube ประมาณ 4 ใน 5 ของความยาวหลอด แล้วอุดปลายด้วยดินน้ำมัน นำไปปั่นด้วยเครื่อง Haematocrit centrifuge ที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที วัดความยาวของการอัดตัวเม็ดเลือดแดง และความยาวทั้งหมดของเม็ดเลือดแดง แล้วคำนวณจากสูตร

$$\% \text{ ฮีมาโตคริต} = \frac{\text{ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เซนติเมตร) x 100}}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด (เซนติเมตร)}}$$

6. การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีของโลหิต

6.1 การวิเคราะห์ค่า Serum Glucose

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือดใช้วิธี Enzyme-colorimatric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Glucose enzyme mix powder ด้วย Enzyme buffered diluent) 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร โดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum glucose จากกราฟมาตรฐาน

6.2 การวิเคราะห์ค่า Plasma cholesterol

การวิเคราะห์ค่าคอเลสเตอรอล (cholesterol) ใช้วิธี Enzyme-colorimetric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Cholesterol enzyme power ด้วย Cholesterol enzyme diluent) ลงในหลอดแก้ว 1 มิลลิลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยใช้ Working reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Cholesterol จากกราฟมาตรฐาน

6.3 การวิเคราะห์ค่า Plasma triglycerides

การวิเคราะห์ค่าไตรกลีดซอไรด์ (triglyceride) ใช้วิธี Enzyme-colorimatric method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent (ละลาย Triglycerides enzyme powder ด้วย Triglycerides enzyme diluent) 1 มิลลิลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum glucose จากกราฟมาตรฐาน

6.4 การวิเคราะห์ค่า Plasma total protein

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนรวม (total protein) ใช้วิธี Biuret method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Biuret reagent ลงในหลอดแก้ว 500 ไมโครลิตร ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 25 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรโดยใช้ Biuret reagent เป็น Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Total protein จากกราฟมาตรฐาน

6.5 การวิเคราะห์ค่า Plasma urea nitrogen (BUN)

การวิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood Urea Nitrogen) ใช้วิธี Enzymatic method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Working reagent 1 (ละลาย BUN enzyme suspension ด้วย BUN enzyme diluent) ลงในหลอดแก้ว 500 ไมโครลิตร Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส ปิเปตพลาสมาลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติม Working reagent 2 (เจือจาง Conc. BUN colour reagent 1 ส่วน ด้วยน้ำกลั่น 3 ส่วน) 1 มิลลิลิตรในหลอดแก้วเดิม แล้วนำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่า Urea nitrogen จากกราฟมาตรฐาน

6.6 การวิเคราะห์ค่า Serum calcium

การวิเคราะห์แคลเซียมในเลือดใช้วิธี O-Cresolphthalein Direct Method โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยการเติม Reagent 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum calcium จากกราฟมาตรฐาน

6.7 การวิเคราะห์ค่า Serum magnesium

การวิเคราะห์ค่าแมกนีเซียมในเลือดใช้วิธี Photometric Colorimetric Test for Magnesium with Lipid Clearing Factor โดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยการเติม Reagent 1 มิลลิลิตร

ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum magnesium จากกราฟมาตรฐาน

6.8 การวิเคราะห์ค่า Serum iron ferene

การวิเคราะห์ค่าสารละลายเหล็กในเลือดใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotechnical ทำโดยเติม Buffer reagent 1 มิลลิลิตร ปิเปตซีรั่มลงในหลอด 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นเติม Ferene buffer 50ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไป Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหา Serum iron ferene จากกราฟมาตรฐาน

6.9 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในเลือด

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทำโดยปิเปตซีรัมปลา 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ammonium molybdate 10 ไมโครลิตร(ammonium molybdate 25 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 300 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดซัลฟูริก 37.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) และเติมสารละลาย Hydroquinone (hydroquinone 0.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่มีการเติมกรดซัลฟูริก 1 หยดเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชัน) เติมสารละลาย sodium sulfite 20 เปอร์เซ็นต์ (เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้) แล้วจึงเติมน้ำปราศจากไอออน 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตรโดยใช้ Blank ปรับ 0 จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสจากกราฟมาตรฐาน (KH_2PO_4)

7. การวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

7.1 การวิเคราะห์ Lysozyme activity

เตรียมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl โดยชั่ง NaCl 0.225 กรัม เติมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 (ประกอบด้วย 0.1 M Citric acid ปริมาตร 37.9 มิลลิลิตร ผสมกับ 62.1 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Phosphate solution จะได้สารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) เก็บในตู้เย็นจนกว่าจะใช้

เจือจาง Standard lysozyme ให้ได้ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl จากนั้นใส่ Standard lysozyme ความเข้มข้นต่าง ๆ และตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการวิเคราะห์ลงใน plate 96 หลุม หลุมละ 10 ไมโครลิตร เติมเชื้อ *Micrococcus lysodeikiticus* ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ชั่ง *Micrococcus lysodeikiticus* 0.012 กรัม เติมสารละลาย 0.06 M Phosphate citrate buffer pH 6.0, 0.09 % NaCl 40 มิลลิลิตร

แช่ในน้ำแข็งตลอดการวิเคราะห์) หลุมละ 190 ไมโครลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 3 วินาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นำออกมาเขย่าอีก 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงอีกครั้ง

นำค่าดูดกลืนแสงครั้งแรกลบกับค่าดูดกลืนแสงครั้งที่สอง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงของ Standard lysozyme ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไปสร้างกราฟเส้นตรงโดยให้ความเข้มข้นเป็นแกน x และให้ค่าดูดกลืนแสงเป็นแกน y จากนั้นหาสมการเส้นตรง แล้วนำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างซีรั่มที่ผ่านการลบกันแล้วมาแทนค่าในสมการเพื่อหาค่าความเข้มข้นของ Lysozyme เมื่อเทียบกับ Standard lysozyme

7.2 การวิเคราะห์ Total immunoglobulin

การวิเคราะห์อิมมูโนโกลบูลินรวมนั้น ทำโดยการวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา และโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินด้วย 12 % Polyethylene glycol จากนั้นนำความเข้มข้นของโปรตีนรวมในพลาสมาลบกับโปรตีนของพลาสมาที่ผ่านการตกตะกอนจะได้ โปรตีนที่เป็นอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด

การวิเคราะห์โปรตีนรวมในพลาสมา ใช้ Total protein Kit (Biuret Method ; Weichselbaum, 1946) ปิเปต Biuret reagent 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมตัวอย่างพลาสมา 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร แล้วคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน โดยมี Bovine serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

ทำการตกตะกอนโปรตีนชนิดโกลบูลินของพลาสมาด้วย 12 % Polyethylene glycol (ผสมพลาสมากับ 24 % polyethylene glycol ในอัตราส่วน 1:1) (Siwicki and Anderson, 1993) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส 10 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มี Biuret reagent 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร แล้วคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน โดยมี *Bovine* serum albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐานซึ่งอยู่ในชุด Total protein Kit เมื่อได้ความเข้มข้นของโปรตีนที่ไม่ได้ถูกตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol แล้วจะสามารถหาค่าอิมมูโนโกลบูลินรวมได้จากสมการ

อิมมูโนโกลบูลินรวม = โปรตีนรวมในพลาสมา – โปรตีนที่ผ่านการตกตะกอนด้วย 12% Polyethelene glycol

7.3 การวิเคราะห์ Alternative complement

การวิเคราะห์ ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์ ดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Sunyer and Tort (1995) ล้างเม็ดเลือดแดงแพะด้วย GVB-EGTA (Gelatin Veronol Buffer;10 mM barbital, 145 mM NaCl, 0.1% gelatin, 0.5 mM MgCl2,10mM EGTA, pH 7.3–7.4) ปรับความเข้มข้นเม็ดเลือดแดงให้ได้ 5 x 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เจือจางซีรัมด้วย GVB-EGTA ใน หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 และ 0.157% ตามลำดับ โดยมีปริมาตรรวมเท่ากับ 250 ไมโครลิตร เติมเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลอด โดยมี Positive control (100% lysis) เป็นหลอดที่ประกอบด้วย น้ำ DI 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร ส่วน Negative control (spontaneous lysis) คือ GVB-EGTA 250 ไมโครลิตร และเม็ดเลือดแดงแพะ 50 ไมโครลิตร นำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 90 นาทีโดยใช้เครื่องเขย่าตลอดเวลา จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนเม็ดเลือดแดงแพะที่ไม่ถูกทำให้แตก ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตร ลงใน plate 96 หลุมแบบ flat-bottom microtiter plate นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ประสิทธิภาพการทำงานของคอมพลีเมนต์มีหน่วยเป็น unit/ml ประมาณการได้จากการพล็อตกราฟ Y/(100 – Y) ต่อปริมาตรของซีรัม

$$Y = 100\,[Abs\,(A) - Abs\,(B)]/\,[Abs(C) - Abs\,(B)]$$

หมายเหตุ: A = ส่วนใสของหลุมที่เจือจางซีรัม

B = ส่วนใสของ Negative control

C = ส่วนใสของ Positive control

8. การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

ทำการเก็บตัวอย่างปลาที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ 16 สัปดาห์ ทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิล ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (1990)

9. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows, version 10 (SPSS Inc, Chicago, IL) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Tukey's range test และยอมรับผลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$

การทดลองที่ 2

1. **การเตรียมปลาทดลองและการเตรียมตู้เลี้ยงปลาทดลอง**

ปลาทดลองในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นปลานิลเพศผู้ล้วน (*Oreochromis niloticus*) สายพันธุ์จิตรลดา 3 ขนาดประมาณ 90 – 100 กรัม ซึ่งได้รับจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นำมาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาดความจุน้ำ 80 ลิตร (24 * 12 * 18 ลูกบาศ์กนิ้ว) จำนวน 16 ตู้ ที่มีการให้อากาศตลอดเวลา โดยทำการสุ่มปลาลงตู้ ตู้ละ 10 ตัว เลี้ยงปลาเพื่อปรับสภาพก่อนเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนเข้าสู่การทดลอง

2. การเตรียมอาหารปลาทดลอง การวางแผนการทดลอง และการเลี้ยงปลาทดลอง

อาหารปลาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จะเป็นอาหารปลาที่ประกอบเอง โดยใช้เครื่องบด เครื่องผสม และเครื่องอัดเม็ดของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วัตถุดิบอาหารที่ใช้ซื้อจากโรงงานอาหารสัตว์และบริษัทที่จำหน่ายวัตถุดิบอาหารสัตว์ ได้แก่ กากถั่วเหลือง รำ มันเส้น ข้าวโพด และใช้ปลาป่นเสริมเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนไม่น้อยกว่า 32 เปอร์เซ็นต์ โดยมีส่วนประกอบของอาหารแสดงดังตารางที่ 2.1 การทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design) โดยแต่ละทรีทเมนต์มีจำนวนซ้ำ (ตู้) ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ รายละเอียดของทรีทเมนต์แสดงดังตารางที่ 2.3 ปรับสภาพปลานิลให้เข้ากับสภาพการทดลอง โดยการให้อาหารพื้นฐาน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดลองตามกลุ่มทดลอง โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่มวันละ 2 มื้อ เช้า – เย็น ตลอดการทดลองเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ทำการบันทึกคุณภาพน้ำได้แก่ สภาพอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิน้ำตลอดระยะเวลาการทดลองอยู่ในช่วงระหว่าง 28 – 33 องศาเซลเซียส และ 26 – 28 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และทำการบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen)

ตารางที่ 2.3 กลุ่มทดลองและอาหารในแต่ละกลุ่มทดลอง

กลุ่มทดลอง	อาหารปลา
1	อาหารพื้นฐาน [กลุ่มควบคุม (Basal diet)]
2	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส[1] 750 FTU
3	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส[1] 1500 FTU
4	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4 1.5 %

[1] ไฟเตสที่ใช้ในการทดลองนี้คือ Natuphos® 10000 G (BASF)

3. การเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอด

การทดลองนี้ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ และทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต โดยทำการสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มทดลอง จำนวนซ้ำละ 5 ตัว มาชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณค่าสมรรถนะการเจริญเติบโต ดังต่อไปนี้

เปอร์เซนต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น [Relative weight gain; RWG (%)]

$$= \frac{(\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

ทำการนับจำนวนปลาที่เหลือในทุก ๆ ซ้ำ ของทุกกลุ่มทดลองเพื่อคำนวณอัตรารอด

อัตรารอด [Survival rate (%)]

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 3 วัน โดยก่อนการถ่ายน้ำทิ้งจะทำการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าฟอสฟอรัสรวม (total phosphorus) ค่าฟอสเฟต (phosphate) และค่าแอมโมเนีย (อ้างอิงวิธีของ APHA, AWWA and WPCF. 1998)

5. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติในครั้งนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows, version 10 (SPSS Inc, Chicago, IL) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Tukey's range test และยอมรับผลความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$

บทที่ 3
ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

3.1 ผลการศึกษา

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองแรกจะเป็นการทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพปลา และในการทดลองที่ 2 จะเป็นการศึกษาถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงต่อการขับถ่ายฟอสฟอรัสในระหว่างการเลี้ยงปลา

การทดลองที่ 1

การทดลองนี้ประกอบไปด้วยกลุ่มทดลองต่าง ๆ แยกตามสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาดังต่อไปนี้ สูตรอาหารที่มีการใช้ปลาป่นในระดับสูง (อาหารพื้นฐาน หรือ กลุ่มควบคุม) อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 750 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมแร่ธาตุ Na_2HPO_4 และอาหารที่มีการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารระดับสูง ดังมีผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1 พบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงจะมีค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงที่สุด ($P < 0.05$) และปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงรองลงมา และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากปลาในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง ($P > 0.05$) และพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าอัตราการรอดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา แสดงดังตารางที่ 3.2 พบว่าความชื้นในเนื้อ ไขมัน และเถ้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ ($P > 0.05$) ในขณะที่ค่าโปรตีนในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ค่าโปรตีนในเนื้อปลาของกลุ่มทดลองอื่น ๆ ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐาน ($P > 0.05$)

ค่าทางโลหิตวิทยาของปลาแสดงดังตารางที่ 3.3 พบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงที่สุด ($P < 0.05$) และปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าเม็ดเลือดแดงต่ำที่สุด ($P < 0.05$) และพบว่าค่าฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3.1 สมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลานิล (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตราการรอด (%)
อาหารพื้นฐาน (Basal diet)	42.4 ± 1.2	202.3 ± 6.0 [a]	4.47 ± 0.11 [a]	0.69 ± 0.04	99.0 ± 2.5
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU	41.7 ± 0.7	201.3 ± 12.3 [a]	4.49 ± 0.16 [a]	0.71 ± 0.03	98.5 ± 2.5
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU	42.1 ± 0.6	217.1 ± 13.1 [ab]	4.62 ± 0.11 [ab]	0.68 ± 0.07	98.5 ± 2.5
อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4	42.0 ± 1.3	206.3 ± 7.7 [a]	4.64 ± 0.23 [ab]	0.69 ± 0.07	100.0 ± 0.0
อาหารที่มีปลาป่น	42.9 ± 1.1	232.3 ± 6.9 [b]	4.85 ± 0.07 [b]	0.66 ± 0.09	98.5± 2.5

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาของปลาทดลอง

	ความชื้น (%)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)
อาหารพื้นฐาน (Basal diet)	76.53 ± 0.73	21.24 ± 1.59 [a]	1.71 ± 0.18	1.52 ± 0.04
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU	76.70 ± 0.58	22.00 ± 0.74 [ab]	1.81 ± 0.54	1.67 ± 0.27
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU	76.00 ± 1.26	22.35 ± 0.59 [ab]	1.80 ± 0.25	1.74 ± 0.16
อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4	76.62± 0.61	22.32 ± 0.30 [ab]	1.73 ± 0.34	1.50 ± 0.05
อาหารที่มีปลาป่น	77.89± 1.08	22.62 ± 0.67 [b]	1.31 ± 0.29	2.20 ± 0.93

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3.3 ค่าทางโลหิตวิทยาของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

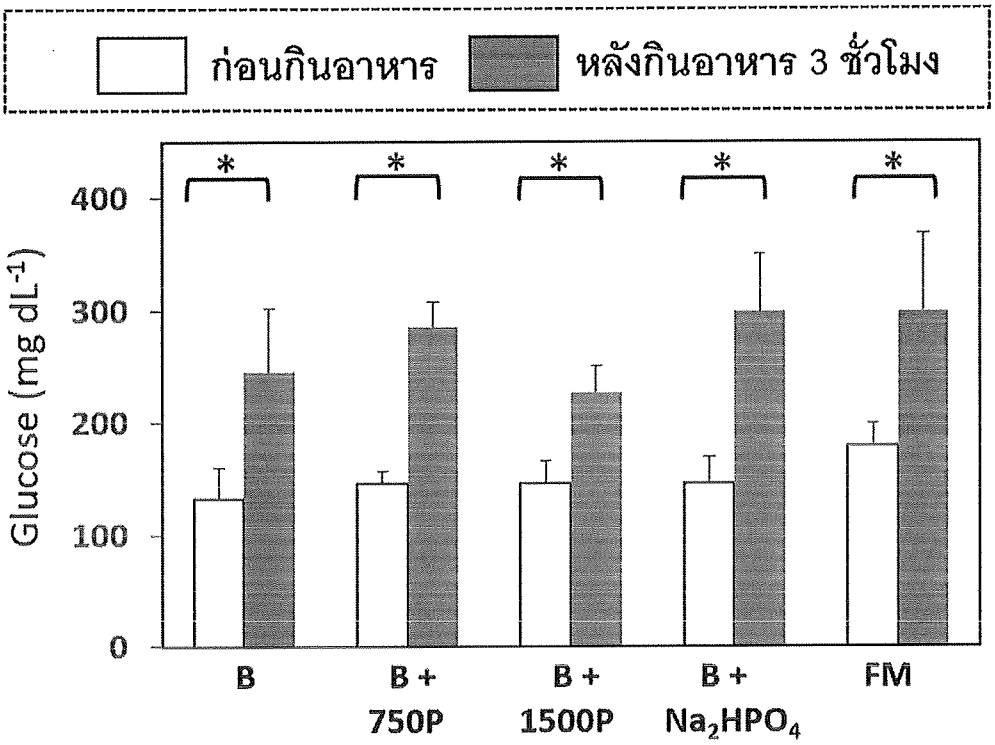
	จำนวนเม็ดเลือดแดง (x 10^6 cells mm^{-3})	ค่าฮีโมโกลบิน (g/dL)	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)
อาหารพื้นฐาน (Basal diet)	2.35 ± 0.19^{abc}	11.62 ± 0.58	38.41 ± 2.82
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU	2.25 ± 0.16^{bc}	11.58 ± 0.64	40.37 ± 2.32
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU	2.60 ± 0.33^{a}	11.97 ± 0.75	39.95 ± 4.14
อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4	2.47 ± 0.20^{ab}	11.50 ± 0.27	40.76 ± 1.68
อาหารที่มีปลาป่น	2.15 ± 0.15^{c}	11.69 ± 1.56	38.37 ± 3.12

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารที่มีกากถั่วเหลืองสูงต่อระดับกลูโคสในเลือด แสดงดังภาพที่ 3.1 โดยพบว่าระดับกลูโคสในเลือดปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่าระดับกลูโคสในเลือดของปลาทุกกลุ่มทดลองหลังจากกินอาหารแล้วจะสูงกว่าระดับกลูโคสในเลือดก่อนกินอาหาร ($P < 0.05$) และระดับกลูโคสในเลือดหลังกินอาหารของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ภาพที่ 3.2 แสดงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อระดับคอเลสเตอรอลในเลือดปลา พบว่าค่าคอเลสเตอรอลในเลือดปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และไม่พบความแตกต่างของค่าคอเลสเตอรอลระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าคอเลสเตอรอลสูงที่สุด และปลาในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐานมีค่าคอเลสเตอรอลต่ำที่สุด ผลของเอ็นไซม์ไฟเตสต่อระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดปลาแสดงดังภาพที่ 3.3 พบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าไตรกลีเซอไรด์สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ และปลาในกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐานมีระดับไตรกลีเซอไรด์ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ระดับไตรกลีเซอไรด์ระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังกินอาหารมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับค่าไตรกลีเซอไรด์ที่วิเคราะห์ก่อนกินอาหาร นั่นคือค่าไตรกลีเซอไรด์ของปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าไตรกลีเซอไรด์สูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ และปลาในกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารพื้นฐานมีระดับไตรกลีเซอไรด์ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) ภาพที่ 3.4 แสดงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารต่อค่าโปรตีนรวมในเลือดปลา พบว่าปลาทุกกลุ่มทดลองมีระดับโปรตีนในเลือดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าโปรตีนในเลือดก่อนกินอาหารและหลังกินอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าระดับโปรตีนในเลือดที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังจากปลาได้กินอาหารแล้วมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารต่อระดับ Blood urea nitrogen (BUN) แสดงดังภาพที่ 3.5 พบว่าค่า BUN ของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ค่า BUN ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนและหลังกินอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าค่า BUN ที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังจากปลากินอาหารก็ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟสต่อค่าแร่ธาตุในเลือดแสดงดังภาพที่ 3.6 – 3.9 โดยพบว่าปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าแคลเซียมในเลือด (ภาพที่ 3.6) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และค่าแคลเซียมในเลือดของปลาทุกกลุ่มทดลองที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังจากปลากินอาหารก็ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และไม่พบความแตกต่างของค่าแคลเซียมในเลือดระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร ($P > 0.05$) ค่าฟอสฟอรัสในเลือดแสดงดังภาพที่ 3.7 ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับค่าแคลเซียมในเลือด กล่าวคือ ค่าฟอสฟอรัสในเลือดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ค่าฟอสฟอรัสในเลือดที่ได้วิเคราะห์หลังจากปลากินอาหารแล้วก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าฟอสฟอรัสในเลือดในปลาระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหารพบว่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ค่าแมกนีเซียมใน

เลือดปลาแสดงดังภาพที่ 3.8 พบว่าค่าแมกนีเซียมในเลือดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าแมกนีเซียมในเลือดหลังจากปลาได้กินอาหารแล้ว พบว่าค่าแมกนีเซียมในเลือดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อปลากินอาหารแล้ว ปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าแมกนีเซียมในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ปริมาณเหล็กในเลือดของปลาทดลองแสดงดังภาพที่ 3.9 โดยพบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าเหล็กในเลือดสูงที่สุด ในขณะที่ปลาในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรพื้นฐานและอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าเหล็กในเลือดต่ำ ($P < 0.05$) ค่าเหล็กในเลือดที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังจากปลากินอาหารแล้วไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) และพบว่าค่าเหล็กในเลือดระหว่างก่อนและหลังปลากินอาหารมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อค่าทางภูมิคุ้มกันในปลาแสดงดังภาพที่ 3.10 – 3.12 พบว่าค่า alternative complement acitivity (ACH50) ของปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมี ACH50 ในเลือดสูงที่สุด และปลาในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่า ACH50 ในเลือดสูงรองลงมา ($P < 0.05$) (ภาพที่ 3.10) พบว่าปริมาณอิมมูโนโกลบินรวม (ภาพที่ 3.11) และปริมาณไลโซไซม์ (ภาพที่ 3.12) ของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

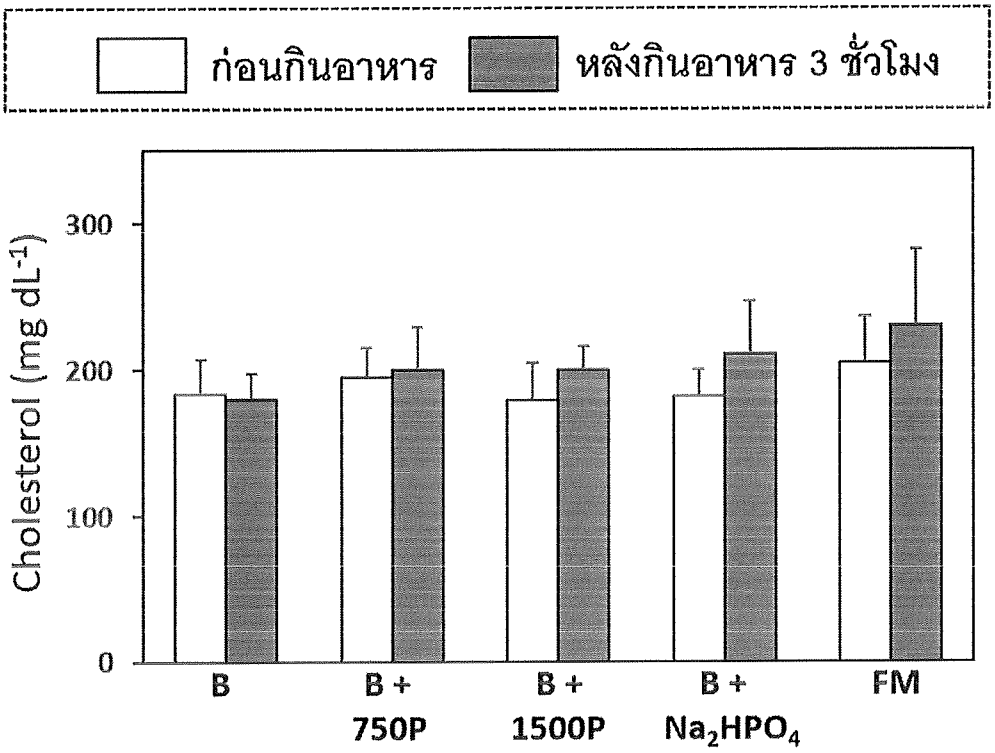


ภาพที่ 3.1 ระดับของกลูโคสในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

* แสดงความแตกต่างระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร ($P < 0.05$)

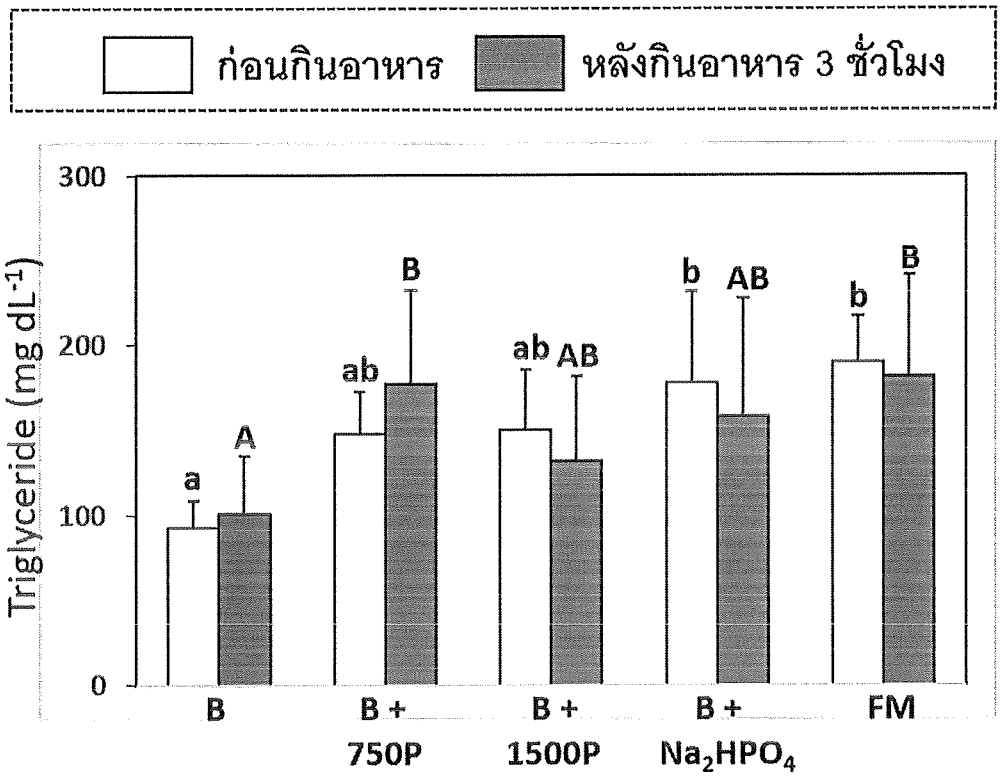
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.2 ระดับของคอเลสเตอรอลในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง

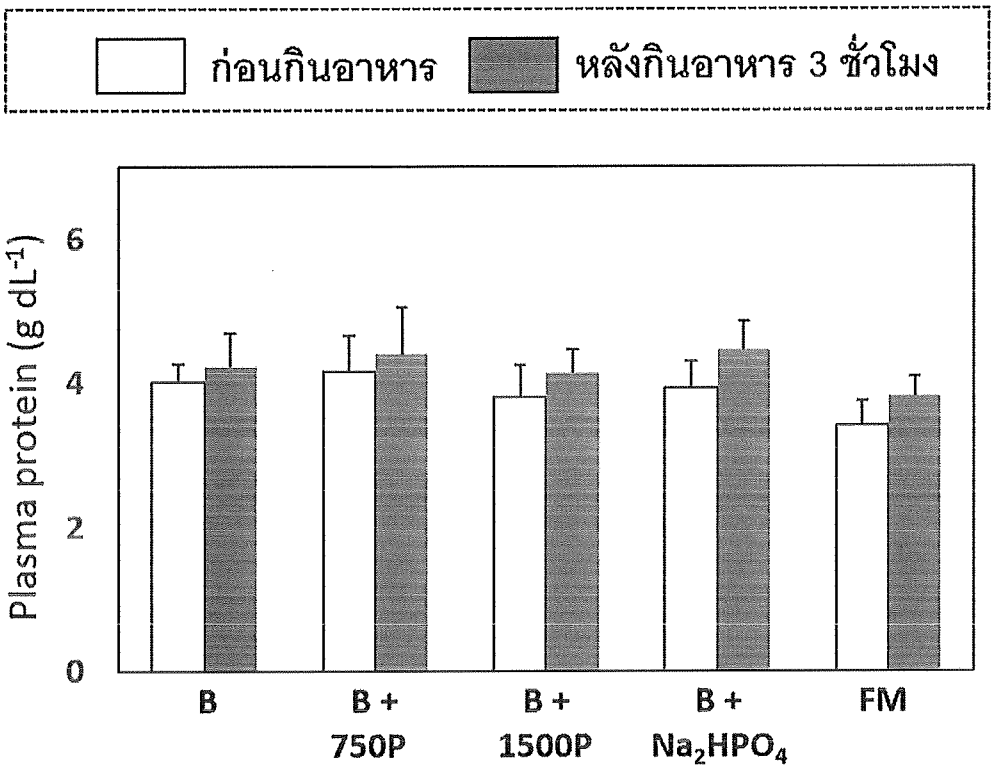


ภาพที่ 3.3 ระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ (ตัวใหญ่) กำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังปลากินอาหารเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



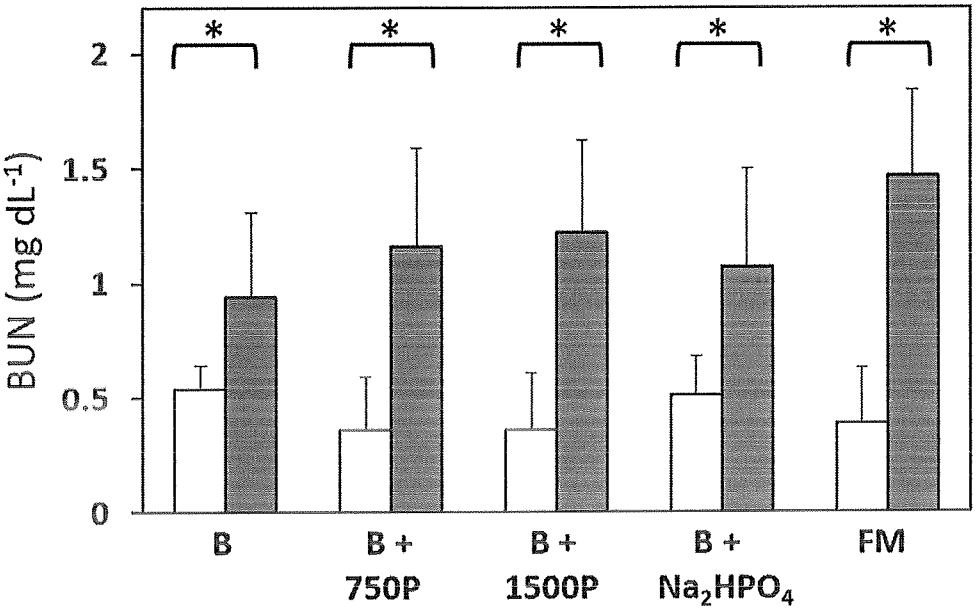
ภาพที่ 3.4 ระดับของโปรตีนในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษ (ตัวใหญ่) กำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง (อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หลังปลากินอาหารเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

* แสดงความแตกต่างระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร ($P < 0.05$)

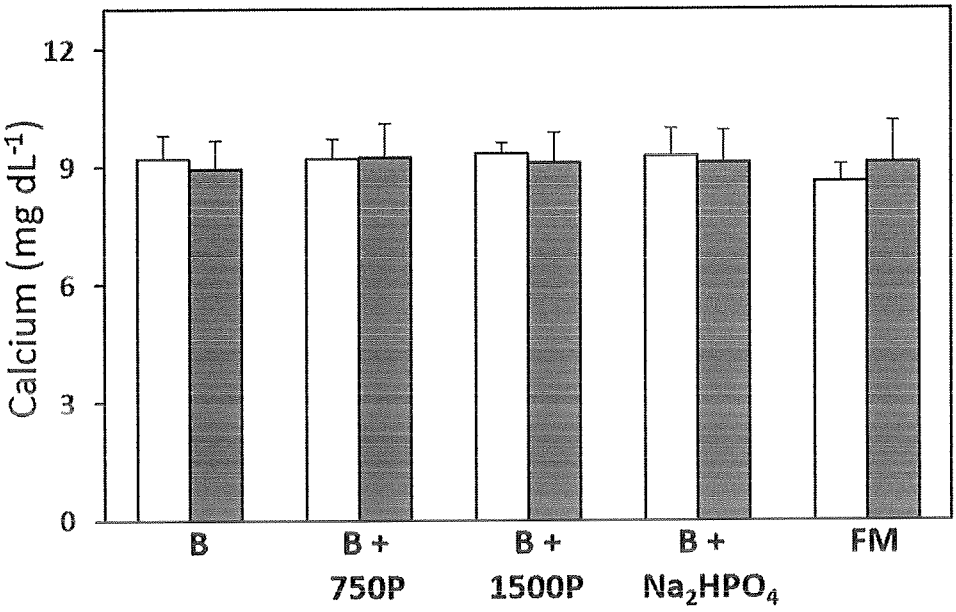
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.5 ระดับของ Blood Urea Nitrogen (BUN) ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : * แสดงความแตกต่างระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร

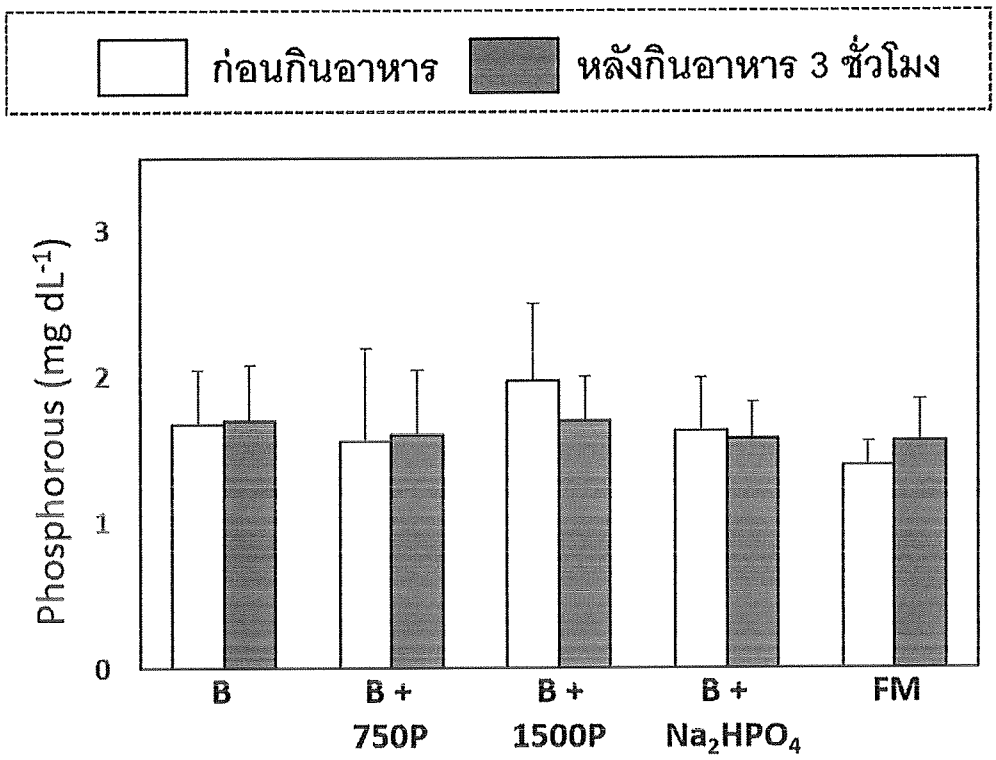
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.6 ระดับของแคลเซียมในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ :

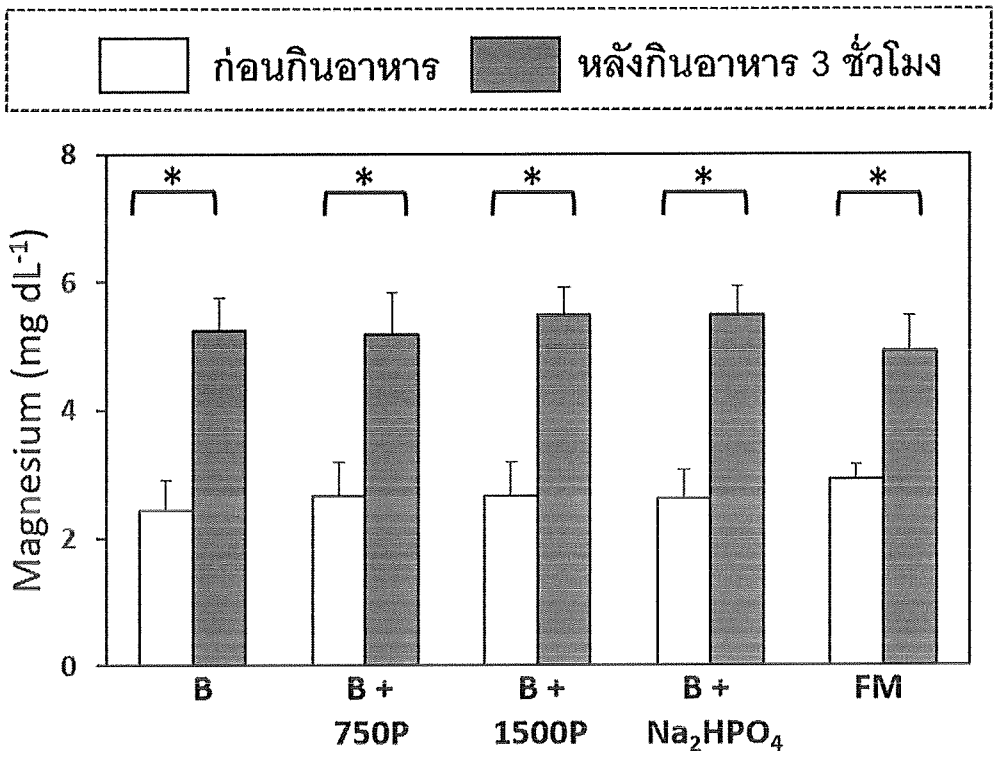
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.7 ระดับของฟอสฟอรัสในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

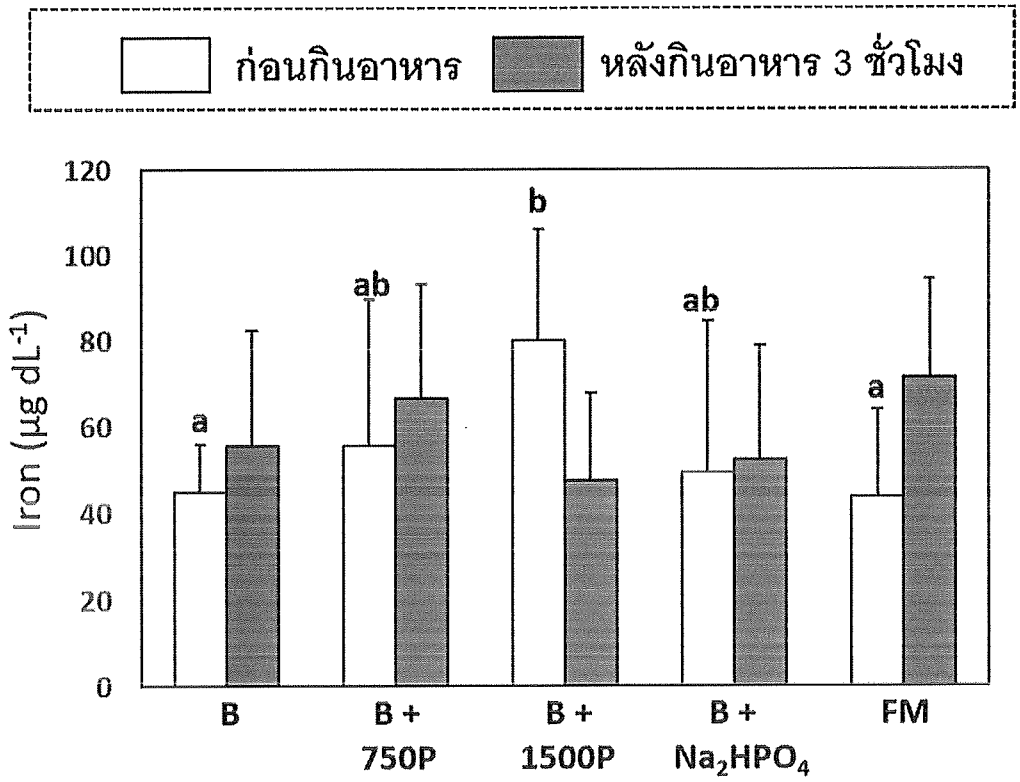
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.8 ระดับของแมกนีเซียมในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ :

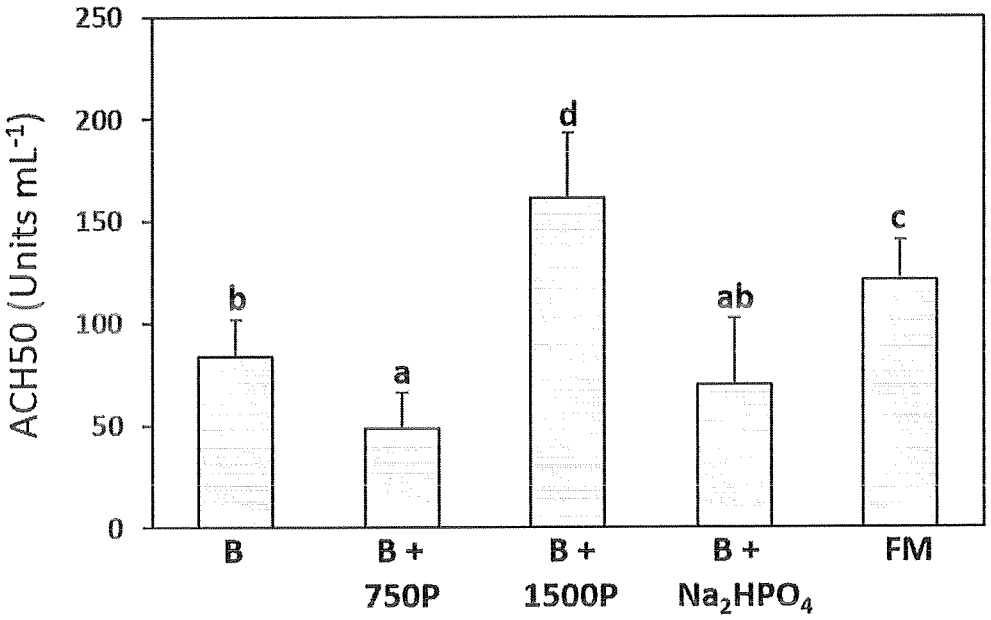
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.9 ระดับของเหล็กในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองกลุ่มต่าง ๆ ที่ได้ทำการวัดค่าก่อนกินอาหารและหลังกินอาหาร 3 ชั่วโมง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

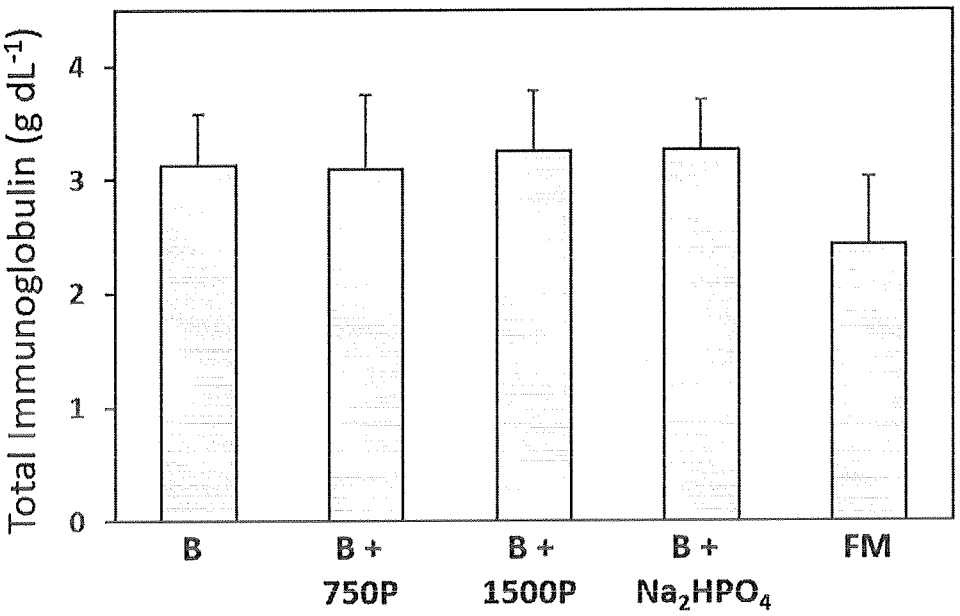
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.10 ระดับของ Alternative complement activity (ACH50) ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

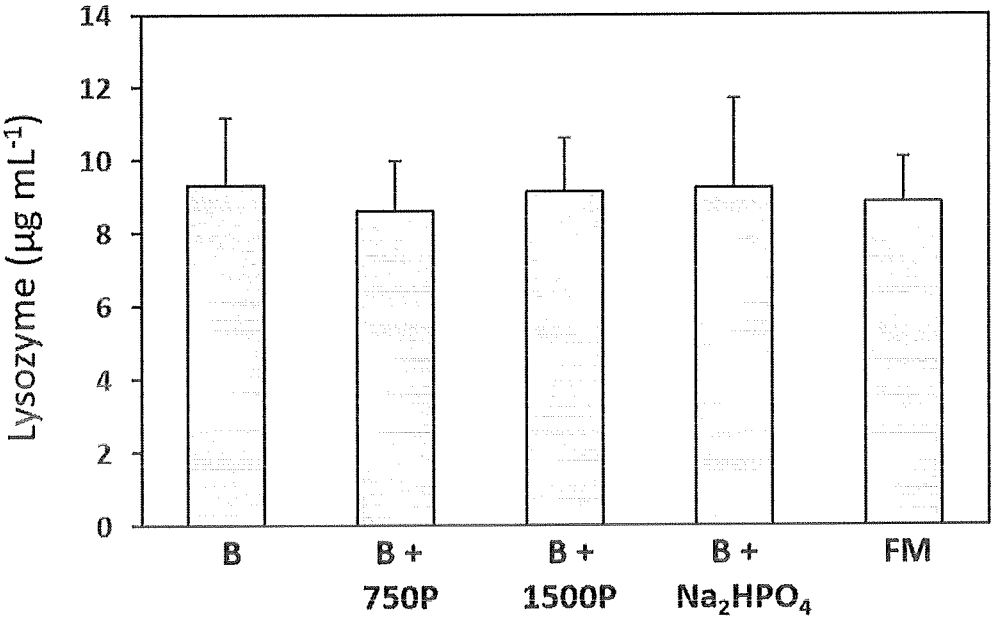
B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.11 ระดับของอิมมูโนโกลบูลินรวม (Total immunoglobulin) ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง(อาหาร) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ก่อนปลากินอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง



ภาพที่ 3.12 ระดับของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (Lysozyme) ในเลือดของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

หมายเหตุ :

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4
FM	=	อาหารที่มีปลาป่นสูง

การทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์หลักในการศึกษาถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาที่มีกากถั่วเป็นส่วนประกอบในระดับสูง โดยได้มีการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต (ตารางที่ 3.4) พบว่าปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.5$) และพบว่าอัตราการรอดของปลาทุกกลุ่มทดลองก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.5$)

คุณภาพน้ำได้แก่ ค่า pH ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าแอมโมเนีย แสดงดังตารางที่ 3.5 โดยค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงค่าที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงปลานิล

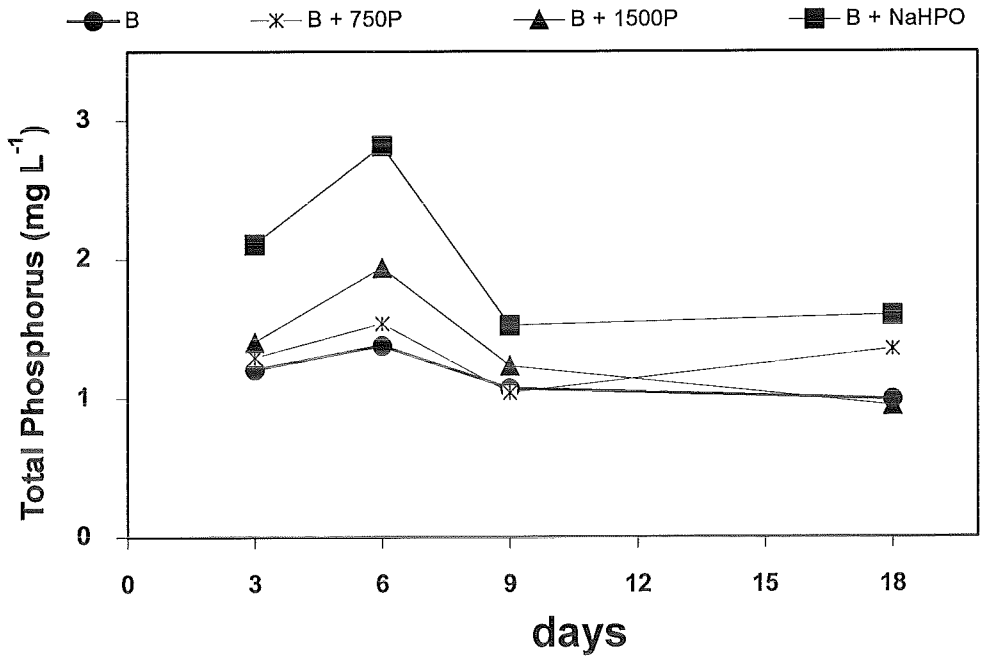
ผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำแสดงดังภาพที่ 3.13 พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสรวมในน้ำของกลุ่มทดลองที่เลี้ยงปลาด้วยอาหารพื้นฐานมีค่าสูงที่สุดตลอดระยะเวลาที่ได้ทำการทดลอง และค่าฟอสฟอรัสรวมของกลุ่มทดลองอื่น ๆ มีค่าใกล้เคียงกัน และพบว่าปริมาณฟอสเฟตในน้ำของกลุ่มทดลองที่เลี้ยงปลาด้วยอาหารพื้นฐานมีค่าสูงที่สุดตลอดระยะเวลาการทดลอง ในขณะที่ค่าฟอสเฟตของกลุ่มทดลองอื่น ๆ มีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3.4 สมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงในตู้กระจก (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักตัวเพิ่ม (%)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตราการรอด (%)
อาหารพื้นฐาน (Basal diet)	91.8 ± 4.7	105.4 ± 18.5	17.0 ± 13.9	3.3 ± 1.7	93.8 ± 3.6
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU	96.7 ± 3.3	112.8 ± 9.3	16.8 ± 10.3	2.1 ± 0.5	93.8 ± 3.6
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU	92.8 ± 3.4	113.9 ± 0.7	22.8 ± 4.6	1.2 ± 0.1	93.8 ± 3.6
อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4	91.8 ± 8.2	111.1 ± 14.7	22.7 ± 14.1	1.7 ± 0.5	90.6 ± 6.0

ตารางที่ 3.5 คุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงปลาในตู้กระจก (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

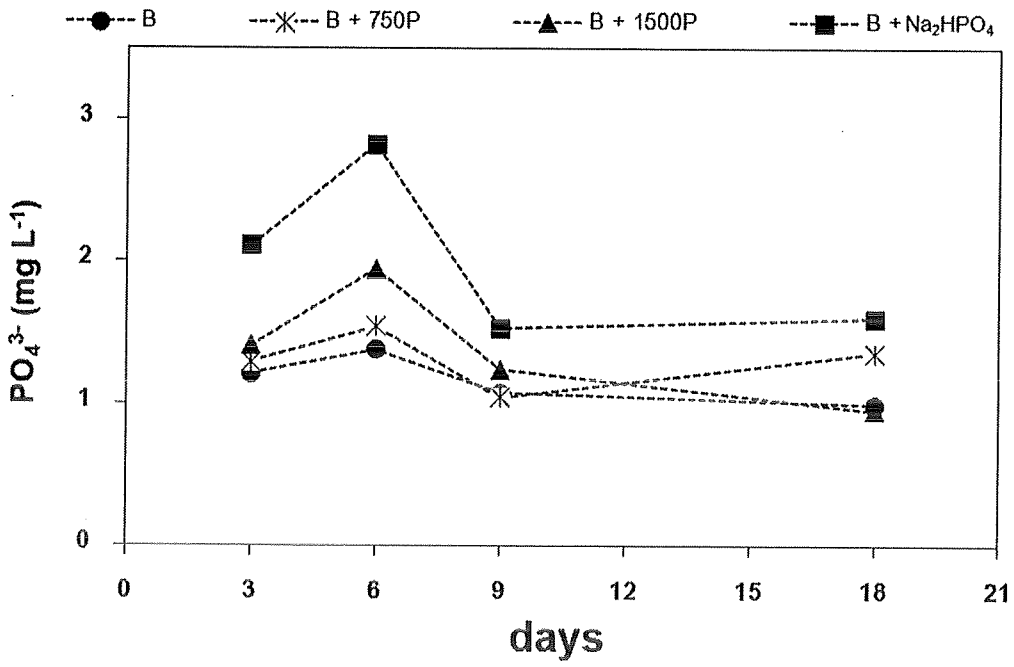
	pH	ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ($mg\ L^{-1}$)	แอมโมเนีย (Total ammonia; $mg\ L^{-1}$)
อาหารพื้นฐาน (Basal diet)	8.01 ± 0.04	7.24 ± 0.29	0.45 ± 0.09
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU	7.97 ± 0.05	6.43 ± 0.31	0.42 ± 0.08
อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU	7.92 ± 0.03	6.27 ± 0.21	0.50 ± 0.13
อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4	7.85 ± 0.04	6.69 ± 0.34	0.54± 0.07



ภาพที่ 3.13 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำ (total phosphorus) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

หมายเหตุ :

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4



ภาพที่ 3.14 ปริมาณฟอสเฟตในน้ำ (total phosphorus) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลอง

หมายเหตุ :

B	=	อาหารพื้นฐาน (Basal diet)
B + 750 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 750 FTU
B + 1500 P	=	อาหารพื้นฐาน + ไฟเตส 1500 FTU
B + Na_2HPO_4	=	อาหารพื้นฐาน + Na_2HPO_4

3.2 อภิปรายผลการทดลอง

ปลานิลเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย ผลผลิตปลานิลที่มาจากการเพาะเลี้ยงเพิ่มสูงขึ้น เพื่อการส่งออกและการบริโภคภายในประเทศ ถึงแม้ว่าปลานิลเป็นปลากินพืช ซึ่งโดยทั่วไปมีความสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีโปรตีนจากพืชเป็นองค์ประกอบได้สูง แต่ในการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงพาณิชย์ ได้มีการใช้อาหารโปรตีนสูงสำหรับการเพาะเลี้ยงปลานิลในช่วงวัยรุ่น อาหารทางการค้าที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลานิลเชิงวัยรุ่น (น้ำหนักตัวในช่วง 35 – 100 กรัม) จะมีโปรตีนในระดับสูงประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารทางการค้าที่นิยมใช้ในการเลี้ยงปลานิลในระยะต่อมา (น้ำหนักตัวในช่วง 100 – 300 กรัม) จะมีโปรตีนในระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ และในทางการค้าใช้อาหารที่มีระดับโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ในการเลี้ยงปลานิลที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 300 กรัมจนกว่าจะจับขาย ในการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาการใช้ไฟเตสเป็นสารเสริมในอาหารปลานิล โดยมุ่งเน้นศึกษาในระยะปลานิลวัยรุ่นที่มีการใช้โปรตีนในระดับสูง โดยจะใช้สูตรอาหารที่มีการลดส่วนประกอบของปลาป่นและใช้กากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารเพิ่มสูงขึ้น โดยทั่วไปกากถั่วเหลืองมีฟอสฟอรัสทั้งหมด 6.49 กรัมต่อกิโลกรัม โดยฟอสฟอรัสจะอยู่ในรูปของไฟเตท 3.88 กรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีฟอสฟอรัสในรูปของไฟเตทประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมด ดังนั้นการใช้เป็นเอ็นไซม์ไฟเตสเป็นสารเสริมในอาหารเพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์จากไฟเตทในกากถั่วเหลือง และเปลี่ยนรูปไฟเตทเพื่อให้อยู่ในรูปที่ปลาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น เนื่องจากไฟเตทเป็นสารขัดขวางโภชนะ ขัดขวางการใช้ประโยชน์จากโปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินอื่น ๆ (CaO et al., 2007) ในอาหารปลาด้วย การวิจัยการใช้สารเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาจึงเป็นการศึกษา 2 ประเด็นหลัก คือในประเด็นของผลของการเสริมเอ็นไซม์ต่อผลผลิตปลา หรือการเสริมไฟเตสต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลา และประเด็นของผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำที่เลี้ยงปลา เพื่อให้ได้ข้อมูลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาในการเพาะเลี้ยงปลานิลทั้งในแง่ของการเพาะเลี้ยงและสิ่งแวดล้อม ซึ่งจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมีผลทำให้ปลานิลมีสมรรถนะการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากการใช้ปลาป่นระดับสูงในสูตรอาหาร ซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพปลานิลในหลายพารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ เช่น ปลามีจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น และมีค่าทางภูมิคุ้มกัน ACH 50 สูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับนี้ไม่ส่งผลต่อการลดค่าฟอสฟอรัสในน้ำ

การทดลองที่ 1

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเจริญเติบโตของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่กากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูงมีน้ำหนักตัวสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง ซึ่งในการทดลองนี้สูตรอาหารในทุกกลุ่มทดลองมีองค์ประกอบทางเคมี

เช่น ระดับโปรตีนและไขมันใกล้เคียง ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเกิดจากปลานิลมีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองได้จำกัดกว่าการใช้ประโยชน์จากปลาป่น โดย Fontainhas-Fernandes และคณะ (1999) ได้รายงานว่าปลานิลมีค่า Apparent digestibility coefficient (ADC) สำหรับโปรตีนและพลังงานในปลาป่นสูงและมีค่า ADC ในพืชอาหารสัตว์ต่าง ๆ ลดลง โดยกากถั่วเหลืองสกัดไขมันมีค่า ADC เท่ากับ 94.4 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้มีการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารด้วยกากถั่วเหลืองและโปรตีนจากพืชในปลาชนิดต่าง ๆ เช่น การศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลืองไขมันเต็มในสูตรอาหารปลา Atlantic cod (*Gadus morhua*) พบว่าปลา Atlantic cod ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารควบคุมที่มีปลาป่นสูงมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลากลุ่มทดลองที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยถั่วเหลืองไขมันเต็มในสูตรอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึงแม้ว่าปลาทั้งกลุ่มทดลองที่ใช้ปลาป่นและกลุ่มทดลองที่มีการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารด้วยถั่วเหลืองไขมันเต็ม จะมีน้ำหนักตัวสุดท้ายไม่แตกต่างกันทางสถิติก็ตาม (Karalazos et al., 2007) การศึกษาในปลานิลวัยอ่อน (น้ำหนักปลาที่ทดลองอยู่ในช่วง 6 – 60 กรัม) พบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลวัยอ่อนที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 66 – 100 เปอร์เซ็นต์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองที่ระดับ 33 – 100 เปอร์เซ็นต์ส่งผลให้ปลานิลวัยอ่อนมีค่าน้ำหนักตัวสุดท้ายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Fontainhas-Fernandes et al., 1999) อย่างไรก็ตามรายงานการศึกษาในปลาหลายชนิด เช่น ปลา blue catfish (*Ictalurus furcatus*) พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองไม่มีผลทำให้ปลามีค่าน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Webster et al., 1995) และการศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้า (*Oncorhynchus mykiss*) พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชรวมหลายชนิดและเนื้อป่น (meat meal, corn gluten meal และsoybean meal) ไม่ส่งผลให้ปลามีน้ำหนักตัวและเปอร์เซนต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นลดลง (Watanabe et al., 1993) รวมทั้งการทดลองในปลานิลวัยรุ่นพบว่าการใช้กากถั่วเหลืองชนิด dehulled solvent-extracted soybean meal และการใช้กากถั่วเหลืองชนิด Expeller pressed soybean meal ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารไม่ส่งผลให้ปลามีน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Nguyen et al., 2009) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชโดยเฉพาะกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารปลา จะได้ผลแตกต่างกันขึ้นกับชนิดปลาและระยะการเจริญเติบโตของปลา

เมื่อมีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารปลาที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในสูตรอาหารที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร จะทำให้ปลานิลน้ำหนักตัวสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้น และไม่แตกต่างอย่างมีสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น นอกจากนี้ปลาในกลุ่มทดลองที่มีการเสริม Na_2HPO_4 ในอาหารมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้น และไม่แตกต่างอย่างมีสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น ทั้งนี้เนื่องจากกากถั่วเหลืองถึงแม้จะมีโปรตีนสูง แต่ก็มีไฟเตทอยู่ในปริมาณสูง ประมาณ 3.88 กรัมต่อกิโลกรัม หรือประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในกากถั่วเหลือง (Cao et al., 2007) ซึ่งสัตว์ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากไฟเตทได้ และไฟเตทยังอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนกับแร่ธาตุและสารอาหารอื่น ๆ

(Wise, 1980) ไฟเตทในอาหารส่งผลต่อการสดสมรรถนะการเจริญเติบโตในปลา Mrigal (*Cirrhinus mrigala*) (Usmani and Jafri, 2002) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารจะช่วยย่อยไฟเตทและได้ฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปที่สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้ และการที่เอ็นไซม์ไฟเตสย่อยไฟเตทจะทำให้ แร่ธาตุ วิตามิน ถูกปล่อยออกมาอยู่ในรูปอิสระที่สัตว์สามารถใช้ประโยชน์ได้ และส่งผลให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนในอาหารสูงขึ้น (Adeola et al., 1995; Yi et al., 1996; Pointillart et al., 1987) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลานิล ซึ่งพบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลือง 50-100 เปอร์เซนต์ ส่งผลให้ปลานิลมีน้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ลดลง และการสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่ระดับ 1000 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารส่งให้ปลานิลมีค่าการเจริญเติบโตดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้น แต่ทว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารที่ระดับ 1500 – 2000 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสมรรถนะการเจริญเติบโต (Goda, 2007) และ Liebert and Portz (2005) รายงานว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารทำให้ปลานิลมีน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้น นอกจากนี้ผลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสยังขึ้นกับแหล่งของเอ็นไซม์ไฟเตส และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลานิลที่ระยะปลานิ้วส่งผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น โดยระดับที่เหมาะสมคือ 8000 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร (Olusola and Nwanna, 2014) นอกจากนี้การศึกษาในปลาอื่น ๆ ก็ได้ผลไปในทางเดียวกันคือ การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลให้ปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) มีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีขึ้น (Li and Robinson, 1997) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลา striped bass (*Morone saxatilis*) ส่งผลให้ปลามีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีขึ้น (Papatryphoon et al., 2002) การนำกากถั่วไปผ่านการย่อยด้วยเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1000 unit ต่อกิโลกรัม ก่อนนำมาผลิตอาหารปลาส่งผลให้ปลา rockfish (*Sebastes schlegeli*) มีการเจริญเติบโตสูงขึ้น (Yoo et al., 2005) อย่างไรก็ตามการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาเรนโบว์เทร้าที่มีกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ และ ที่มีกากคาโนลาเป็นองค์ประกอบไม่ส่งผลต่อการพัฒนาสมรรถนะการเจริญเติบโต (Forster et al., 1999; Vielma et al., 2000) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารไม่มีผลให้ปลา channel catfish มีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีขึ้น (Robinson et al., 2002) และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) (Ai et al., 2007)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าทั้งการใช้ปลาป่นและกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารไม่มีผลต่อค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาการเปรียบเทียบการใช้กากถั่วในอาหารทดแทนปลาป่นในปลา blue catfish (*Ictalurus furcatus*) (Webster et al., 1995) และในปลานิล (Goda, 2007) การใช้ถั่วเหลืองไขมันเต็มในสูตรอาหารปลา Atlantic Cod (Karalazos et al., 2007) และการใช้กากถั่วเหลืองชนิด dehulled solvent-extracted soybean meal และการใช้กากถั่วเหลืองชนิด Expeller pressed soybean meal ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิล (Nguyen et al., 2009) อย่างไรก็ตามการใช้

โปรตีนจากพืชแทนปลาป่นมีผลต่อการเพิ่มสูงขึ้นของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในปลานิล (Fontainhas-Fernandes et al., 1999)

Usmani and Jafri (2002) ได้รายงานว่ากรดไฟติกส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตส และการเสริมแร่ธาตุในอาหารไม่มีผลต่อค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) (Ai et al., 2007) และในปลานิล (Goda, 2007) ปลาซาลมอน (Sajjade and Carter, 2004) อย่างไรก็ตามการทดลองการใช้ไฟเตสในอาหารส่งผลให้ปลานิล (Liebert and Portz, 2005) และปลา striped bass (*Morone saxatilis*) (Papatryphoon et al., 2002) มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง

ผลการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของค่าอัตราการรอดระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ แสดงว่าการใช้ปลาป่นหรือการใช้กากถั่วเหลืองในอาหาร และการใช้ไฟเตสไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการรอดในปลา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารปลาชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ปลา Atlantic cod (Karalazos et al., 2007) ปลานิลวัยอ่อน (Fontainhas-Fernandes et al., 1999) ปลา blue catfish (Webster et al., 1995) และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารปลาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าอัตราการรอด โดยที่การศึกษาในปลา striped bass (Papatryphoon et al., 2002) ปลาซาลมอน (Sajjade and Carter, 2004) และ ปลา Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) (Ai et al., 2007) ก็ให้ผลไปในทางเดียวกันกับการศึกษาในครั้งนี้คือ การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดของปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาในปลา mrigal พบว่าไฟเตทในอาหารปลาส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา โดยไฟเตทจะทำให้ตัวปลามีความชื้นและเถ้าสูงขึ้น แต่มีโปรตีนและไขมันในตัวปลาลดลง (Usmani and Jafri, 2002) การศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาได้แก่ ความชื้น ไขมัน และเถ้า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ ผลการศึกษาในค่า ความชื้น ไขมัน และเถ้า ครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลา blue catfish ที่พบว่าการทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารไม่ส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา (Webster et al., 1995) แต่พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรพื้นฐานมีโปรตีนในเนื้อปลาต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นในระดับสูง แต่การเสริมไฟเตสที่ระดับ 750-1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมแร่ธาตุในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนในเนื้อปลานิล อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในปลา ซาลมอน (Sajjade and Carter, 2004) ปลาเรนโบว์เทร้า (Vielma et al., 2000) ปลา rockfish (Yoo et al., 2005) และปลานิล (Goda, 2007) พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลา อย่างไรก็ตามการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลให้ปลาเรนโบว์เทร้ามีความชื้นในตัวปลาเปลี่ยนแปลงไป (Lanari et al., 1998; Vielma et al., 1998) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลให้ปลาเรนโบว์เทร้า (Lanari et al., 1998; Vielma et al., 1998) และปลานิล (Liebert and Portz, 2005) มีเถ้าในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น แต่ถึงกระนั้น Forster และคณะ (1999) ได้รายงานว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟ

เตสในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณเถ้าในตัวปลา (Forster et al., 1999) การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสส่งผลให้ปลาเรนโบวเทร้ามีองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลาเพิ่มสูงขึ้น (Lanari et al., 1998) แต่ทว่า Vielma และคณะ (1998) และ Forster และคณะ (1999) ได้รายงานว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อองค์ประกอบโปรตีนในตัวปลา และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสก็ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในตัวปลานิลเช่นเดียวกัน (Liebert and Portz, 2005) นอกจากนี้พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันในตัวปลาเรนโบว์เทร้า (Forster et al., 1999) แต่การศึกษาที่รายงานโดย Vielma และคณะ (1998) พบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารทำให้ปลาเรนโบว์เทร้ามีไขมันในตัวปลาสูงขึ้น โดยสรุปแล้วการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืช และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาและตัวปลาแตกต่างกันไป ทั้งอาจขึ้นอยู่กับชนิดปลา ระยะการเจริญเติบโตของปลา แหล่งของเอ็นไซม์ไฟเตสและระดับการเสริม

ผลการศึกษาในปลา beluga (*Huso huso*) พบว่าเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองจะส่งผลให้ปลามีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบินลดลง แต่ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง (Hosseni and Khajepour, 2013) ในขณะที่การศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นในสูตรอาหารมีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำที่สุด และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองและเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงที่สุด และกลุ่มทดลองไม่มีผลต่อปริมาณฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น รายงานการศึกษาผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาต่อค่าโลหิตวิทยามีจำกัด ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาถึงผลของเอ็นไซม์ไฟเตสต่อค่าโลหิตวิทยาในไก่กระทง ซึ่งได้มีการรายงานว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดง แต่ไม่มีผลต่อค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณฮีโมโกลบิน (Ahia et al., 2014) ในขณะที่ Huff และคณะ (1988) ได้รายงานว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารไก่กระทงไม่มีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณฮีโมโกลบิน

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของการใช้โปรตีนจากปลาป่นหรือโปรตีนจากกากถั่วและการเสริมไฟเตสต่อค่าทางเคมีในเลือดบางประการ โดยพบว่าระดับกลูโคสของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลา gilthead sea bream (*Sparus aurata*) (Sitja-Bobadilla et al., 2005) ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาในปลาอื่น ๆ ที่พบว่าการใช้โปรตีนจากพืชส่งผลให้ปลามีค่ากลูโคสในเลือดสูงขึ้น ได้แก่ ในปลา beluga (Hosseini and Khajepour, 2013) ปลาไน (Moradi et al., 2013) ปลา sea bream (*Diplodus vulgaris*) (Acar et al., 2013) และพบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลา Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) นอกจากนี้พบว่าหลังจากปลาได้กินอาหารระดับกลูโคสของปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าสูงขึ้น ได้มีรายงานการศึกษาในปลาม้าลายและปลาเรนโบว์เทร้าก็พบว่า

เมื่อปลากินอาหาร ปลาจะมีระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Eames et al., 2010; Congleton and Wegner, 2006)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับคอเลสเตอรอลไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในปลาไน (Moradi et al., 2013) ในขณะที่ผลการศึกษาในปลา gilthead sea bream (Sitja-Bobadilla et al., 2005) และปลา sea bream (*Diplodus vulgaris*) (Acar et al., 2013) ที่ได้รายงานว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนจากพืชจะมีค่าคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง และพบว่าการเสริมไฟเตสในสูตรอาหารไม่มีผลต่อระดับคอเลสเตอรอลเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการเสริมไฟเตส อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในปลา sturgeon พบว่าการเสริมไฟเตสส่งผลให้ปลามีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้น (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) นอกจากนี้พบว่าระดับคอเลสเตอรอลของปลาระหว่างก่อนกินอาหารและหลังกินอาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในปลาเรนโบว์เทร้า (Congleton and Wegner, 2006) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดปลาในกลุ่มทดลองที่ใช้ปลาป่นในระดับสูงมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองระดับสูงในอาหาร ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในปลาไน (Moradi et al., 2013) และปลา sea bream (Acar et al., 2013) ซึ่งพบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชส่งผลให้ปลามีค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลง

การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับโปรตีนในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงในกลุ่มทดลองต่าง ๆ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในปลา beluga (Hosseini and Khajepour, 2013) และการศึกษาการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลา sturgeon พบว่าการเสริมไฟเตสไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในปลาไน (Moradi et al., 2013) ปลา sea bream (Acar et al., 2013) และปลา gilthead sea bream (Sitja-Bobadilla et al., 2005) ซึ่งได้รายงานว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชส่งผลให้ปลามีระดับโปรตีนในเลือดลดลง การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับ blood urea nitrogen ไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในไก่กระทง ซึ่งพบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสร่วมกับ carbohydrolase ไม่ส่งผลต่อระดับ blood urea nitrogen (Lee et al., 2010) แต่ทว่าการศึกษาในไก่ที่ทดลองการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในสูตรอาหารส่งผลให้ไก่มีระดับ blood urea nitrogen ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Jiang et al., 2013) นอกจากนี้การศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้าพบว่าเมื่อปลาได้รับอาหารค่าโปรตีนในเลือดจะเพิ่มสูงขึ้น (Congleton and Wegner, 2006) ผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าหลังปลากินอาหารปลาจะมีระดับโปรตีนรวมในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แต่การเพิ่มสูงขึ้นนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับแคลเซียมในเลือดปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลา Beluga ที่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนจากพืชในสูตรอาหารมีระดับแคลเซียมไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น (Hosseini and Khajepour, 2013) และพบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซียมในเลือดปลา

sturgeon อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) และการศึกษาในไก่กระทงพบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลต่อระดับแคลเซียมในเลือดเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลาการเลี้ยง 21 วัน ในขณะที่เมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 42 วัน ระดับแคลเซียมในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Jiang et al., 2013) การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับฟอสฟอรัสในเลือดปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลา Beluga ที่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนจากพืชในสูตรอาหาร มีระดับฟอสฟอรัสไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่น (Hosseini and Khajepour, 2013) และการเสริมไฟเตสในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับฟอสฟอรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในเลือดปลา sturgeon (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) และการศึกษาในไก่พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลต่อระดับฟอสฟอรัสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลาการเลี้ยง 21 วัน ในขณะที่เมื่อเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 42 วัน ระดับฟอสฟอรัสในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Jiang et al., 2013) การศึกษานี้พบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแมกนีเซียมในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบในปลา sturgeon โดยพบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแมกนีเซียมในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารส่งผลให้ระดับเหล็กในเลือดสูงขึ้น ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาในปลา sturgeon ที่พบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเหล็กในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Imanpoor and Bagheri et al., 2012) นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับแร่ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และเหล็ก ในเลือดไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างก่อนปลาได้รับอาหารและหลังจากที่ปลาได้กินอาหาร โดยที่ผลการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงระดับแร่ธาตุในเลือดหลังจากปลาได้รับอาหารแล้วมีอยู่น้อยมาก อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลาเรนโบว์เทร้าและปลา chinook salmon พบว่าระดับแคลเซียมในเลือดไม่แตกต่างกันระหว่างปลาที่ได้กินอาหารและปลาที่อดอาหาร (Congleton and Wegner, 2006)

การทดลองนี้ได้ทำการศึกษาผลอาหารที่มีกากถั่วในปริมาณสูงและอาหารที่มีปลาป่นในปริมาณสูงต่อค่าทางภูมิคุ้มกันในปลา โดยได้ทำการศึกษาค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม และค่า alternative complement (ACH50) โดยพบว่าค่าค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์และปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวมไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ แต่ค่า ACH 50 ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองและมีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตส และปลาในกลุ่มทดลองที่ใช้ปลาป่นสูงมีค่า ACH50 สูงกว่าปลาในกลุ่มอื่น ๆ โดยที่การศึกษาถึงผลของการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองต่อค่าทางภูมิคุ้มกันในปลาอื่น ๆ มีน้อย แต่ถึงกระนั้นได้มีการศึกษาในปลา gilthead sea bream (Sitja-Bobadilla et al., 2005) ที่ได้รายงานว่าการทดแทนปลาป่นด้วยโปรตีนจากพืชที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ส่งผลให้ปลามีค่า ACH 50 เพิ่มสูงขึ้น แต่ปลากลับมีค่า ACH 50 ลดลงเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารที่ระดับ 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารปลาเพื่อใช้เลี้ยงปลานิลในตู้กระจก เพื่อดูผลของเอ็นไซม์ไฟเตสต่อคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยงปลา ซึ่งในการทดลองนี้ได้มีการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ซึ่งการทดลองครั้งนี้พบว่า ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มและค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ แต่จะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารและกลุ่มทดลองที่มีการเสริมแร่ธาตุ สูงกว่ากลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตส (กลุ่มควบคุม) และค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ดีกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งผลการทดลองนี้สนับสนุนถึงผลของการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตในการทดลองที่ 1 และเช่นเดียวกันค่าอัตราการรอดของปลาในกลุ่มทดลองต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำและค่าฟอสเฟตในน้ำในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแร่ธาตุสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น ๆ ตลอดทุกช่วงเวลาของการวัด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในการเลี้ยงปลา channel catfish ซึ่งพบว่าอาหารที่มีการเสริมแร่ธาตุ dicalcium phosphate ในอาหารทำให้ปลามีการขับแร่ธาตุส่วนเกินออกมามาก แต่ปลามีการเจริญเติบโตเป็นปกติ (Li and Robinson, 1997) แสดงให้เห็นว่าการเสริมแร่ธาตุในระดับนี้ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น ๆ แต่อาจส่งผลกระทบด้านลบต่อค่าฟอสฟอรัสในน้ำ ซึ่งระดับฟอสฟอรัสในน้ำที่สูงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งสำหรับการเกิดมลภาวะทางน้ำได้ ดังนั้นการเสริมแร่ธาตุในอาหารเพื่อให้ปลามีการเจริญเติบโตเป็นปกตินั้น อาจเป็นผลเสียต่อคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลาได้

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดและค่าฟอสเฟตในน้ำในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่มีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสมีค่าใกล้เคียงกันตลอดทุกช่วงเวลาที่ทำการวิเคราะห์ แสดงว่าเอ็นไซม์ไฟเตสไม่ส่งผลต่อการลดการขับถ่ายฟอสฟอรัส ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการทดลองในปลา Japanese seabass ที่พบว่าการเสริมไฟเตสในอาหารไม่ส่งผลต่อการลดลงของฟอสเฟตที่ละลายน้ำ แต่มีผลต่อการลดลงของค่าฟอสฟอรัสรวมในน้ำ (Ai et al., 2007) อย่างไรก็ตามการศึกษาในปลา channel catfish และปลานิลพบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารมีผลต่อการลดลงของค่าฟอสฟอรัสรวมและค่าฟอสฟอรัสที่ละลายในน้ำ (Li and Robinsin, 1997; Goday, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้ถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยด้วยเอ็นไซม์ไฟเตส ส่งผลต่อการลดการขับถ่ายฟอสฟอรัสในน้ำ (Storebakken et al., 1998; Sugiura et al., 2001) การศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าคุณภาพน้ำได้แก่ค่า pH ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงปลานิล และค่าแอมโมเนียในน้ำไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบในการทดลองในปลา Japanese seabass (Ai et al., 2007)

บทที่ 4
บทสรุป

การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารในอาหารปลานิลที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง ช่วยทำให้ปลานิลมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีขึ้นและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นเป็นส่วนประกอบที่ระดับสูง นอกจากนี้การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสยังมีผลทำให้ปลานิลมีค่าทางโลหิตวิทยาได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง และ ค่าทางภูมิคุ้มกันบางค่า เช่น ค่า ACH50 สูงขึ้น และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสในอาหารทำให้ค่าฟอสฟอรัสในน้ำลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่ใช้อาหารที่มีการเสริมแร่ธาตุ โดยสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังต่อไปนี้

1. ค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักตัวสุดท้าย ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง มีค่าต่ำกว่าปลานิลในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง ($P < 0.05$) แต่การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารในอาหารปลานิลที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง ส่งผลให้ปลานิลมีค่าน้ำหนักตัวดีขึ้นและไม่แตกต่างจากปลานิลในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง

2. ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่าปลานิลในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง ($P < 0.05$) แต่การเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมแร่ธาตุในอาหารปลานิลที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง ส่งผลให้ปลานิลมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีขึ้นและไม่แตกต่างจากปลานิลในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูง

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

4. ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล ได้แก่ ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลานิลของปลาในกลุ่มทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูง มีค่าต่ำกว่าโปรตีนในเนื้อของกลุ่มทดลองที่มีการใช้ปลาป่นในระดับสูง และการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 750 – 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร และการเสริมแร่ธาตุในอาหาร มีผลทำให้ปลานิลมีค่าโปรตีนในเนื้อสูงขึ้นและไม่แตกต่างจากปลานิลในกลุ่มที่เลี้ยงอาหารที่มีปลาป่นสูง

5. ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานิล ได้แก่ ไขมัน เถ้า และความชื้นของปลานิลทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

6. ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงและมีการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหาร มีค่าเม็ดเลือดแดงสูงที่สุด ในขณะที่ ปลานิลในกลุ่มที่เลี้ยงอาหารที่มีปลาป่นสูง มีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำที่สุด

7. ปริมาณฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

8. ปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่ากลูโคส คอเลสเตอรอล โปรตีน Blood urea nitrogen แคลเซียม ฟอสฟอรัสและแมกนีเซียมในเลือด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

9. ปลานิลในกลุ่มที่เลี้ยงอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่าไตรกลีเซอไรด์สูงที่สุด แต่ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงมีค่าไตรกลีเซอไรด์ต่ำที่สุด ($P < 0.05$)

10. ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงร่วมกับการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าเหล็กในเลือดสูงที่สุด แต่ปลานิลในกลุ่มที่เลี้ยงอาหารที่มีปลาป่นสูง และปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองมีค่าเหล็กในเลือดต่ำที่สุด ($P < 0.05$)

11. ค่ากลูโคส ค่า blood urea nitrogen และค่าแมกนีเซียมในเลือดของปลานิลหลังกินอาหารเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมงมีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้ก่อนกินอาหาร ($P < 0.05$)

12. ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองในปริมาณสูงร่วมกับการเสริมเอ็นไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1500 FTU ต่อกิโลกรัมอาหารมีค่า alternative complement activity (ACH 50) มีค่าสูงที่สุด และปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปลาป่นสูงมีค่า ACH 50 สูงรองลงมา ($P < 0.05$)

13. ปลาทุกกลุ่มทดลองมีค่าอิมมูโนโกลบูลินรวมและค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

14. ปริมาณฟอสฟอรัสรวมในน้ำ และปริมารฟอสเฟตในน้ำ ของกลุ่มทดลองที่ใช้อาหารที่มีกากถั่วเหลืองสูงร่วมกับการเสริมแร่ธาตุมีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ

15. ค่า pH ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าแอมโมเนียรวมในน้ำของทุกกลุ่มทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาถึงผลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเสริมในอาหารที่มีการใช้โปรตีนจากพืชในสูตรอาหารในปลานิลในระยะอื่น ๆ เพิ่มเติม เช่นในระยะการเจริญเติบโตของปลานิลที่น้ำหนัก 100 กรัมขึ้นไปจนถึงระยะการจับขาย

2. ควรมีการศึกษาถึงผลของการใช้เอ็นไซม์ไฟเตสเสริมในอาหารที่มีการใช้โปรตีนจากพืชชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติม โดยเน้นวัตถุดิบโปรตีนจากพืชที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในประเทศไทย เช่น กากปาล์ม กากมะพร้าว เป็นต้น

บรรณานุกรม

ส่วนเศรษฐกิจการประมง. (2553). **รายงานสถานการณ์สินค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ ในปี พ.ศ. 2552.** กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อุดม เรืองนพคุณ. (2549). การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลานิล. เกษตรสยามบุ๊คส์. 96 หน้า

ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. ราชกิจจานุเบกษา หน้า 16. เล่ม 125. ตอนพิเศษ 21 ง.

ส่วนน้ำเสียเกษตรกรรม สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. 2007. การประเมินมลพิษจากแหล่งกำเนิดที่เป็นบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. http://203.151.120.240/pcd/index.php

Ai, Q., Mai, K., Zhang, W., Xu, W., Tan, B., Zhang, C., Huitao, L. (2007). Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen, and phosphorus, excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Comparative Biochemistry and Physiology 147:502-508.

Association of Official Analytical Chemists, 1990. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. In: (15th edn. ed.)., AOAC, Washington D.C.

APHA, AWWA, and WEF. (1992). Standard methods for the examination of the water and wastewater (19th edition). Washington D.C.: American Public Health Association.

Akratos, C.S. and Tsihrintzis, V.A. (2007). Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetland. Ecological Engineering. 29: 173-191.

Baruah, K., Sahu, N.P. Pal, A.K. DEvnath, D. (2004) Dictary phytase: an ideal approach for a cost effective and low-polluting aquafeed. NAGA WorldFish Center Quarterly, 27:15-19.

Camargo, J.A., (1992). Structural and trophic alternations in macrobenthic communities downstream from a fish farm outlet. Hydrobiologia. 24 (1), 41-49.

Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y. Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Zhi, Li, Dapeng. (2007). Application of microbial phytase in fish feed. Enzyme and Mycrobial Technology 40:497-507.

Dato-Cajegas, R.S. and Yakupitiyage, A., (1996). The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system. Aquaculture **144**, pp. 227–237

Drizo, A., Frost C.A., Grace, J. and Smith, K.A. (1997). Phosphate and ammonium removal by constructed wetlands with horizontal subsurface flow using shale as a substrate. Water Science and Technology. 35 (5): 95-102.

FAO. 2002. Fisherery Statistics. Aquaculture production. 90(2).

Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A. and Coimbra, J. (1999). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. Aquacult. Int. 7:57-67.

Gebert, S. Bee, G., Pfurter, H.P., Wenk, C. (1999). Phytase and vitamin E in the feed of growing pigs: 1. influence on growth, mineral digestibility and fatty acids in digesta. J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr. 81:9-19.

Hinshaw, J.M. Rogers, L.E., Easley, J.E. (1990). Budgets for trout production: Estimated costs and returns for trout farming in the south. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication. No. 221.

Karalazos, V., Treasurer, J., Cutts, C.J., Alderson, R., Galloway, T.F., Albrektsen, S., Arnason, J., MacDonald, N., Pike, L., Bell, G.J. (2007). Effects of fish meal replacement with full-fat soy meal on growth and tissue fatty acid composition in Atlantic cod (Gadus morhua). J. Agric. Food Chem. 55:5788-5795.

Liebert, F., Portz, L. (2007). Different sources of microbial phytase in plant based low phosphorus diets for Nile tilapia *Oreochromix niloticus* may provide different effects on phytate degradation. Aquaculture 267:292-299.

Miller, D. and Semmens, K. (2002). Waste management in aquaculture. Aquaculture Information Series. Publication #AQO2-1. 10 pp.

Natioanl Research Council (NRC). (1993). Nutrient requirement of fish. Washington D.C. Natitonal Academy Press. 114 pp.

Nermberg, L.W.J. (1998). Improved phosphorus availability in poultry fed wheat/canola meal-based diets supplemented with phytase ezymme. University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada. M.S. Thesis.

Rennert, B., (1994). Water pollution by a land-based farm. Journal of Applied Ichthyology 10, 373-378.

Schaefer, A., Koppe, W.M. (1995). Effect of a microbial phytase on utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. Water Science and Technology 31:149-155.

Stefan H., Anja, K., Edzard, S., Joerg, B., Markus, L., Oskar, Z. (2005). Biotechnological production and application of phytase. Appl. Microbial Biotechnol, 68(5): 588-597.

Sugiura, S.H., Marchant, D.D., Kelsey, K., Wiggins, T., Ferraris, R.P. (2006). Effluent profile of commercially used low-phosphorus fish feeds. Environmental Pollution 140:95-101.

Thacker, P.A., Rossnagel, B.G. 2006. Peformance and Carcass traits of fisnishing pigs fed low phosphorus containing diets based on normal hulled or hulles barley of a low-phytase hulless barley with and without phytase. J. Anim. Vet. Adv. 5:401-467.

TriN, N., Allen, D.D., Patrick, S.I. (2009). Evaluation of alternative protein sources to replace fish meal in practival diets for juvenile tilapia, *Oreochromis* spp. J. World Aqua. Soc. 40,113-121.

Usmani, N, Jafri, A.K. (2002) Influence of dietary phytic acid and on the growth conversion efficiency and carcass composition of mrigal *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) fry. J. World Aqua. Soc. 33,199-204.

Viola, S., Angeoni, H., Gur, N. and Lahav, E. (1994). Growth performance, protein and energy balances of hybrid tilapia fed two levels of lysine at three levels of protein. Present limits of protein sparing by amino acid supplementation of practical carp and tilapia feeds. Isr. J. Aquacult.-Bamidgeh, 46(4):212-222

Watanabe, T., Pongmaneerat, J., and Sato, S. (1993). Replacement of fish meal by alternative protein sources in rainbow trout diets. Nippon Suisan Gakkaishi 59: 1573-1579.

Webster, C.D., Tidwell, J.H., Tiu, L.S. and Yancey, D.H. (1995). Use of soybean meal as partial or total substitute of fish meal in diets for blue catfish (*Ictalurus furcatus*). Aquat. Living Resour. 8:379-384.

Wee, K.L. and Shu, S.W. (1989). The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquaculture 81:303–314.

Wiesmann, D. Scheid, H., Pfriffer, E. (1988) Water pollution with phosphorus of dietary origin by intensively fed rainbow trout (*Salmo gairdeneri* Rich.). Aquaculture 69: 263-270.

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวสุรินทร บุญอนันธนสาร

(ภาษาอังกฤษ) Ms. Surintorn Boonanuntanasarn

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 2097 00017 95 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อ

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อ. เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 044-224371, 224378

โทรสาร 044-224150

Email : surinton@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา
ปริญญาตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต	วาริชศาสตร์	มหาวิทยาลัยบูรพา
ปริญญาโท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาเอก	Ph.D.	Aquatic Biosciences	Tokyo University of Fisheries

6. ผลงานตีพิมพ์

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G., Takeuchi, Y., Morita, T. and Takeuchi T. 2002. Gene knock-down in rainbow trout embryos using antisense morpholino phosphorodiamidate oligonucleotides. *Mar. Biotechnol.* 4: 256-266

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G. and Takeuchi T. 2003. Specific gene silencing using small interfering RNAs in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 310: 1089-1095

Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki,G., Iwai, K. and Takeuchi T. 2004. Molecular cloning, expression in albino mutants, and gene knockdown studies of two types of tyrosinase mRNA in rainbow trout embryos. *Pigment Cell Res.* 17: 413-421

Boonanuntanasarn, S., Takeuchi, T., Yoshizaki, G. 2005. High-efficiency gene knockdown using chimeric ribozymes in fish embryos. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 336: 438.443

Boonanuntanasarn, S. 2008. Gene knockdown: a powerful tool for gene function study in fish. *J. World Aquac. Soc.* 39: 311-323.

Boonanuntanasarn, S., Panyim, S., Yoshizaki, G. 2008. Characterization and organization of the U6 snRNA gene in zebrafish and usage of their promoters to express short hairpin RNA. *Marine Genomics*, doi:10.1016/j.margen.2008.10.001 (available online)

Boonanuntanasarn, B., Panyim, S., Yoshizaki, G. 2009. Usage of putative zebrafish U6 promoters to express shRNA in Nile tilapia and shrimp cell extracts. *Transgenic Res.* In press

Jangprai, A., Boonanuntanasarn, S., Yoshizaki, G. 2011. Characterization of melanocortin 4 receptor in snakeskin gourami and its expression in relation to daily feed intake and short-term fasting. Gen. Comp. Endocrinol. 173:27-37.

Vechklang, K., Boonanuntanasarn, S. Ponchunchoovong, S., Pirarat, N., and Wanapu, C. 2011. The potential for rice wine residual as an alternative protein source in a practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* at the juvenile stage. Aquac Nutri. 17:385-694.

Pitaksong, T. Kuppitayanan, P., Boonanuntanasarn, S. 2013 Effects of vitamins C and E on growth, tissue accumulation, and prophylactic response upon thermal and acidic stress in hybrid catfish. Aquac. Nutri. 19: 148-162.

Phymyu, N., Boonanuntanasarn, S., Jangprai, A. Yoshizaki, G. Na-Nakorn, U. 2012. Pubertal effects of 17α-methyltestosterone on GH-IGF-related genes of the hypothalamic-pituitary-liver-gonadal axis and other biological parameters in male, female and sex reversed Nile tilapia. Gen. Comp. Endocrinol. 177: 278-292.

Boonanuntanasarn, S., Jangprai, A., Yoshizaki, G. 2012. Characterization of neuropeptide Y in snakeskin gourami and the change in its expression due to feeding status and melanocortin 4 receptor expression. Gen. Comp. Endocrinol. 179: 184-195.

Boonanantanasarn, K., Janebodin, K., Suppakpatana, P., Arayapisit, T., Rodsutthi, J., Chunabundit, P., Boonanuntanasarn, S., Sripairojthikoon, W. 2012. *Morinda citrifolia* leaf enhances osteogenic differentiation and mineralzation by human periodontal ligament cells. Dental material Journal. 31(5): 1-9

Vechklang, K., Lim, C., Boonanuntanasarn, S., Welker, T., Ponchunchoovong, S., Klesius, P.H., Wanapu, C. 2012. Growth performance and resistance to *Streptococcus iniae* of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* fed diets supplemented with GroBiotic-A and brewtech dried brewers yeast. Journal of Applied Aquaculture. 24:183-198.

Tanomman, S., Ketudat-Cairns, K., Jangprai, A., Boonanuntanasarn, S. 2013. Characterization of fatty acid delta-6 desaturase gene in Nile tilapia and heterogenous expression in *Saccharomyces cerevisiae.* Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 166: 148-156.

Boonanuntanasarn, S., Khaomek, P., Pitaksong, T., Hua, Y. 2014. The effects of the supplementation of activated charcoal on the growth, health status and fillet composition-odor of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) before harvesting. Aquaculture Internation. 22:1417-1436.

Booanuntanasarn S., Jangprai A., Yoshizaki, G. 2014. Characterization of proopiomelanocortin in the snakeskin gourami (*Trichopodus pectoralis*) and its expression in relation to feeding status. Domestic Animal Endocrinology. Accepted