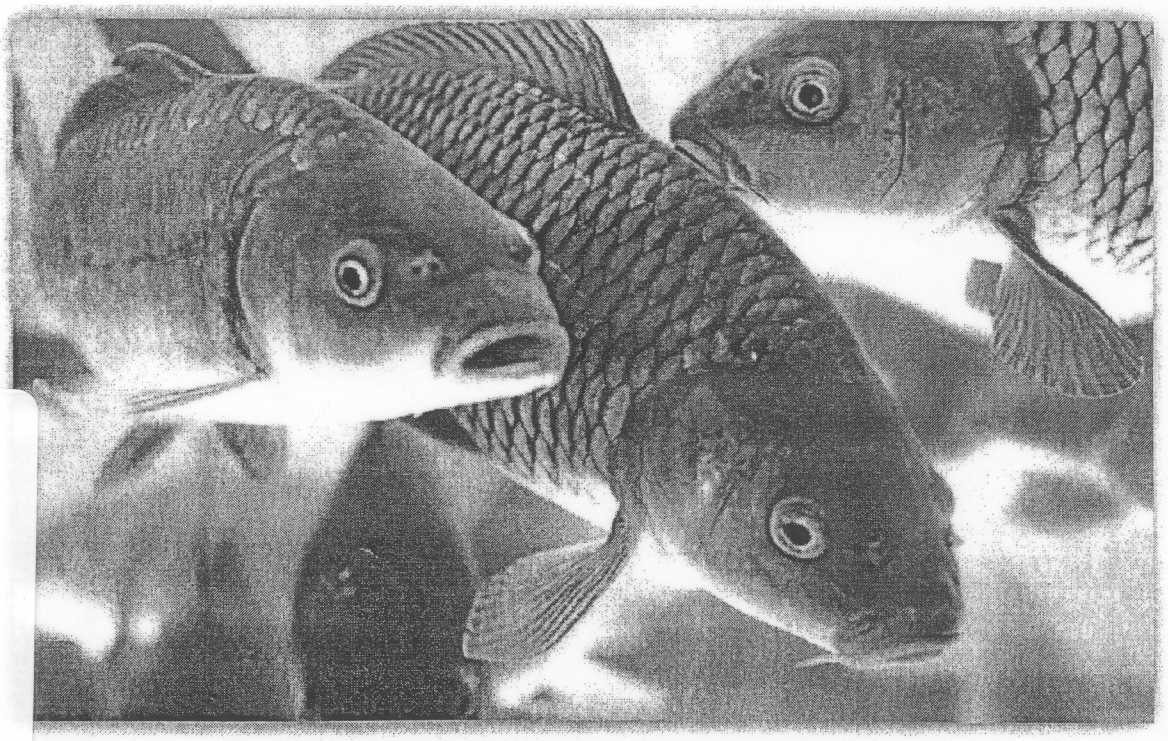
รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในอาหารของปลาไน ขนาดปลานิ้วโดยการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เอนไซม์ไฟเตส และกรดซิตริก

Utilization of phosphorus in common carp fingerling diet supplemented with inorganic phosphate, enzyme phytase and citric acid

รศ.ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง

Wutiporn Phromkunthong



รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจาก
เงินอุดหนุนวิจัยจากเงินรายได้วิทยาเขตหาดใหญ่ ประจำปี 2553

การใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในอาหารของปลาไนขนาดปลานิ้ว โดยการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เอนไซม์ไฟเตส และกรดซิตริก

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1*]

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสโดยการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตจาก 2 แหล่งคือ โมโนโซเดียมฟอสเฟต (MSP) และไดแคลเซียมฟอสเฟต (DCP) (ที่ระดับ 1.1 และ 0.55 เปอร์เซ็นต์) ร่วมกับเอนไซม์ไฟเตส (750 FTU) และกรดซิตริก(0.22 เปอร์เซ็นต์) ในอาหารโดยใช้ปลาไนที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยตัวละ 4.9 กรัม ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ อาหารทดลองที่ใช้มี 9 สูตรโดยมีปริมาณโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์และไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมที่ไม่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เอนไซม์ไฟเตส และกรดซิตริก สูตรที่ 2-5 ใช้ MSP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟต โดยสูตรที่ 2 ใช้ที่ระดับ 1.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3-5 ใช้ที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 6-9 ใช้ DCP เป็นแหล่งของ อนินทรีย์ฟอสเฟต สูตรที่ 6 ใช้ที่ระดับ 1.1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 7-9 ใช้ที่ระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์และมีการเสริมเอนไซม์ไฟเตส และเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกตามสูตรอาหารที่คำนวณไว้ จากผลการทดลองพบว่า ปลาไนชุดการทดลองที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP มีการเจริญเติบโต รวมทั้งประสิทธิภาพการใช้อาหารที่ดีกว่าปลาไนกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP การนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์เป็นไปในแนวทางเดียวกับการเจริญเติบโต และยังพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกสสามารถลดการเสริม MSP จาก 1.1 เปอร์เซ็นต์เหลือ 0.55 เปอร์เซ็นต์ได้โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และค่าองค์ประกอบอื่นๆที่ศึกษาด้อยลง นอกจากนี้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งยังต่ำกว่าชุดการทดลองที่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ : ปลาไน, อนินทรีย์ฟอสเฟต, เอนไซม์ไฟเตส, กรดซิตริก

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

*Corresponding e-mail: wutipornp@yahoo.com

ห้องสมุด
SF467.9 .ว73 2554
378835
/ /

Utilization of phosphorus in common carp fingerling diet supplemented with inorganic phosphate, enzyme phytase and citric acid

Wutiporn Phromkunthong[1]*

[1]*Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources,*

Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112 Thailand.

Abstract

A study was conducted on the effects of two inorganic forms of phosphorus (P) from two sources (monosodium phosphate, MSP and dicalcium phosphate, DCP) at the levels of 1.1 and 0.55% in combination with microbial phytase (750 FTU) and citric acid (0.22%) when fed to juvenile common carp with an initial body weight of 4.9 g for 8 weeks. Nine isonitrogenous (crude protein 35%) and isolipidic (crude lipid 7%) diets were formulated. One contained no inorganic phosphorus, phytase or citric acid supplementation (diet 1, control diet), while the other diets were supplemented with MSP and DCP in combination, with or without microbial phytase and citric acid. The results of this study indicated that the fish which was fed on diets containing MSP had a higher growth than the fish fed on DCP supplementation. In addition, if phytase and citric acid are combined with inorganic P (MSP), the use of MSP can be decreased from 1.1 % to 0.55% without causing any adverse effects on the fish. The P waste output was significantly lower in fish fed on the treated diets than on the control diet.

Keywords : common carp, inorganic phosphate, phytase, citric acid

*Corresponding e-mail: wutipornp@yahoo.com

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและพัฒนาที่กรุณาสนับสนุนเงินอุดหนุนวิจัยจากเงินรายได้ วิทยาเขตหาดใหญ่ ประจำปี 2553 ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณคุณนัทท์ นันทพงศ์ที่ช่วยตรวจแก้ต้นฉบับให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	-ii-
Abstract	-iii-
กิตติกรรมประกาศ	-iv-
สารบัญ	-v-
รายการตาราง	-vi-
รายการภาพ	-vii-
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 ตรวจเอกสาร	2
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	14
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	14
2. วัสดุ อุปกรณ์ และระเบียบวิธีวิจัย	
2.1 วัสดุ	15
2.2 อุปกรณ์	15
2.3 การเตรียมชุดการทดลอง	16
2.4 ระเบียบวิธีวิจัย	20
2.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล	20
3. ผลการทดลอง	24
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	35
5. สรุปผลการทดลอง	40
เอกสารอ้างอิง	41

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. พลังงานรวมของกรดอินทรีย์และเกลือ	10
2. รายละเอียดของอาหารทดลองแต่ละสูตรที่ใช้ในการทดลอง	17
3. องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารทดลอง (%as fed basis)	18
4. ส่วนประกอบของอาหารทดลอง (กรัมต่อ 100 กรัมอาหาร)	18
5. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (%as fed basis)	19
6. น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์	26
7. การเจริญเติบโตและอัตรารอดตายของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์	27
8. ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการกินอาหารของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	28
9. องค์ประกอบทางเคมีของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	30
10. ฟอสฟอรัสและกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม ฟอสฟอรัสและเถ้าในกระดูก ฟอสฟอรัสในมูลปลา และค่าดัชนีตับของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	31
11. สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งและฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลา และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	33
12. ต้นทุนค่าอาหารและต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	34

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก (myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis phosphate)	4
2. การทำงานของเอนไซม์ไฟเตสในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากไฟเตท	6

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญสำหรับปลาซึ่งปลาต้องการในปริมาณมาก โดยมีบทบาทสำคัญ คือช่วยให้แมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ลิพิด และกรดอะมิโน รวมทั้งกระบวนการแมทาบอลิคบัฟเฟอร์ต่างๆ ภายในร่างกายให้ดำเนินไปอย่างปกติ (Lall, 2002) อีกทั้งยังทำหน้าที่ร่วมกับแคลเซียมโดยเป็นองค์ประกอบของกระดูกและเกล็ดของปลา (Zhang *et al.*, 2006) ปลาได้รับฟอสฟอรัสจาก 2 แหล่งคือ น้ำและอาหาร ซึ่งในแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำกว่า 0.1 ppm ทำให้ปลาสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสจากแหล่งน้ำในธรรมชาติได้ในปริมาณน้อย (NRC, 1983) ดังนั้นปลาต้องได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารอย่างเพียงพอ Li และ Mathias (1994) รายงานว่า การได้รับแคลเซียมและฟอสฟอรัสเริ่มต้นจากการดูดซึมบริเวณกระเพาะและลำไส้ ซึ่งการดูดซึมแคลเซียมก็เพื่อสะสมเกลือแคลเซียมในโครงกระดูก 80 เปอร์เซ็นต์ และผิวหนัง 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการดูดซึมฟอสฟอรัสเพื่อสะสมในโครงกระดูก 50-60 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่เหลือจะกระจายอยู่ในอวัยวะภายใน ผิวหนัง และกล้ามเนื้อ ปลาแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการดูดซึมฟอสฟอรัสแตกต่างกัน โดยพบว่าปลาที่มีกระเพาะเช่น ปลาดุก ปลากะพง ปลาเรนโบว์เทร้าท์ และปลาแซลมอนมีความสามารถในการดูดซึมฟอสฟอรัสได้ดีกว่าปลาที่ไม่มีกระเพาะเช่น ปลาไน (Watanabe *et al.*, 1988) ทั้งนี้เนื่องมาจากปลาที่มีกระเพาะจะมีกรดเกลือที่หลั่งออกมาจากกระเพาะช่วยในการทำให้ฟอสฟอรัสแตกตัวเป็นอิสระ และสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ แต่ในขณะเดียวกันปลาไนไม่มีกรดเกลือที่ช่วยในการย่อยฟอสฟอรัส และจากรายงานของ Nakamura (1985) พบว่า การดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตในลำไส้ของปลาไนเกิดขึ้นบริเวณลำไส้ส่วนกลางมากกว่าบริเวณส่วนหน้าและส่วนท้าย นอกจากนี้ แหล่งที่มาของฟอสฟอรัสยังส่งผลต่อความสามารถของปลาในการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ กล่าวคือ ในการผลิตอาหารสำหรับปลานั้นมักนิยมใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีนในอาหาร แต่ในขณะเดียวกันปลาป่นมีฟอสฟอรัสบางส่วนอยู่ในรูปสารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) (Jobling, 1994) ซึ่งฟอสฟอรัสในรูปดังกล่าว ปลาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้น้อย ดังมีรายงานของ Li และ Mathias (1994) พบว่า ปลาเรนโบว์เทร้าท์ มีความสามารถในการนำฟอสฟอรัสจากปลาป่นมาใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าปลาไน และการดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปโมโนแคลเซียมฟอสเฟต (monocalcium phosphate) มีประสิทธิภาพมากกว่าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ส่วนฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในวัตถุดิบพืชนั้น ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของกรดไฟติกซึ่งปลาไม่สามารถดูดซึมนำมาใช้ประโยชน์ได้ (NRC, 1993) โดยทั่วไปแล้วภาวะการขาดแคลนแร่ธาตุในปลามักจะเกิดจากสาเหตุการขาดฟอสฟอรัส แมงกานีส เหล็ก และไอโอดีน (Li and Mathias, 1994) ประกอบกับฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุหลักและปลาต้องการในปริมาณมาก ดังนั้นการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เพื่อช่วยลดภาวะการขาดแคลนฟอสฟอรัสในอาหารปลา แต่รูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่เสริมลงในอาหารนั้น ปลาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ไม่เท่ากัน จากรายงานของ

NRC (1993) พบว่าปลากดหลวง ปลาไน และปลาเรนโบว์เทร้าท์ สามารถย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของโมโนฟอสเฟตได้ถึง 94 เปอร์เซ็นต์ และ Watanabe และคณะ (1988) รายงานว่า ปลาไนสามารถย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของไดแคลเซียมฟอสเฟตได้ 46 เปอร์เซ็นต์ และดูดซึมฟอสฟอรัสในรูปของไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 13 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น แต่ในขณะที่ปลากะพง (*Dicentrarchus labrax* L.) สามารถใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของไดแคลเซียมฟอสเฟตได้ 68 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าโมโนแคลเซียมฟอสเฟตและไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ระดับ 56 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Pimentel and Oliva, 2007) จากการศึกษาการใช้เอนไซม์ไฟเตส (phytase) ในอาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นองค์ประกอบหลักพบว่า ให้ผลในเชิงบวกโดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย และทำให้การเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (Furuya *et al.*, 2001; Tudkaew *et al.*, 2008) กิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมของปลาขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่างในทางเดินอาหารของปลา (Simons *et al.*, 1990) มีงานวิจัยที่ระบุว่าความสามารถในการใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุในปลามีผลมาจากความเป็นกรดด่างในระบบทางเดินอาหารของปลา (Vielma *et al.*, 1999) Jongbloed (1987) รายงานว่าเมื่อความเป็นด่างของลำไส้ปลาลดลงโดยการเติมกรดอินทรีย์ลงในอาหาร ทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายของไฟเตทฟอสฟอรัส ส่งผลให้ประหลาดูดซึมฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

ดังที่ได้กล่าวในข้างต้นจะเห็นได้ว่าความต้องการฟอสฟอรัสในปลาแต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา ที่มาของฟอสฟอรัสไม่ว่าจะเป็นฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในวัตถุดิบพืชและสัตว์หรือรูปแบบอนินทรีย์ฟอสเฟตที่เสริมลงในอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในอาหารนั้นปลาสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในปริมาณที่ไม่เท่ากัน นอกจากนี้การเสริมเอนไซม์ไฟเตสเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสก็มีข้อจำกัดโดยขึ้นอยู่กับชนิดของปลา โดยมีสาเหตุมาจากสภาพความเป็นกรด-ด่างภายในระบบทางเดินอาหารของปลา ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาถึงชนิดของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่เหมาะสมและผลจากการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาไน ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการลดระดับปริมาณของเสียที่เกิดขึ้นจากระบบการเลี้ยงที่ส่งผลต่อสภาพแวดล้อมอันเป็นการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

1.2 ตรวจเอกสาร

1.2.1 ความสำคัญของฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุชนิดหนึ่งที่ปลามีความต้องการในปริมาณที่มาก และมีความสำคัญ โดยฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสเฟตจะทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ซึ่งมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต กระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ทั้ง คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดอะมิโน เกี่ยวข้องกับโครงสร้างของสารพันธุกรรมต่างๆ เป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการปรับสมดุลแร่ธาตุภายในร่างกาย (Lall, 2002) โดยอนินทรีย์ฟอสเฟตจะทำหน้าที่สำคัญในการเป็นบัฟเฟอร์ เพื่อรักษาระดับความเป็นกรดด่างของของเหลวในร่างกายของปลา (Lovell, 1989; Davis and Gatlin, 1991; NRC, 1993) ปลาน้ำจืดจะมีระดับความต้องการฟอสฟอรัสสูงกว่าปลาน้ำเค็ม เนื่องจากต้องนำไปใช้ในระบบที่เกี่ยวข้องกับการปรับ

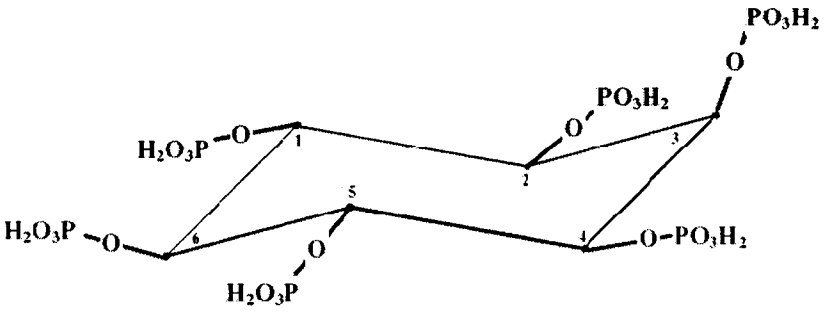
สมดุลเกลือแร่ในร่างกาย เนื่องจากปลามีการขับฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟต ที่อยู่ในปัสสาวะมากกว่าปลาน้ำเค็ม (Chester Jones *et al.*, 1969 อ้างโดย Lall 2002) ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอหรือขาดฟอสฟอรัสจะเจริญเติบโตช้า และมีความผิดปกติทางร่างกาย เช่น ปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) ปลากะพงขาว (seabass, *Lates calcarifer*) และปลานิล (Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*) ที่ขาดฟอสฟอรัส พบว่าจะมีการเจริญเติบโตช้า ประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส และเถ้าของร่างกายลดลง ปริมาณฮีมาโตคริตและฟอสเฟตในเลือดลดลง (Andrews *et al.*, 1973; Wilson *et al.*, 1982) แหล่งของฟอสฟอรัสที่ปลาได้รับมาจาก 2 แหล่งคือ ฟอสฟอรัสที่ละลายอยู่ในน้ำ เป็นฟอสฟอรัสในน้ำในรูปที่สัตว์น้ำนำไปใช้ประโยชน์ได้จำกัด โดยมีในปริมาณต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ppm) ทำให้สัตว์น้ำได้รับฟอสฟอรัสจากน้ำน้อยคือต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสที่ได้รับจากอาหาร (NRC, 1993) และฟอสฟอรัสที่อยู่ในอาหารซึ่งเป็นแหล่งฟอสฟอรัสที่สำคัญสำหรับปลา ฟอสฟอรัสในอาหารส่วนใหญ่ได้มาจากวัตถุดิบสัตว์และพืช แม้ว่าแหล่งของวัตถุดิบเหล่านี้จะมีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง แต่อยู่ในรูปที่ปลาสามารถย่อยและดูดซึมได้น้อย เช่น ปลาป่นมีฟอสฟอรัสบางส่วนในรูปสารประกอบไฮดร็อกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ซึ่งเป็นโครงสร้างของกระดูกและเกล็ดปลาที่ใช้ทำปลาป่น ฟอสฟอรัสรูปแบบนี้ปลาสามารถดูดซึมมาใช้ได้น้อย (Jobling, 1994) และในวัตถุดิบจากพืชโดยส่วนใหญ่มีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของกรดไฟติก (myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate) และไฟเตท (Chung, 2002) ซึ่งฟอสฟอรัสในรูปเหล่านี้สัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่นปลาสามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้น้อยมาก เนื่องจากมีปริมาณและประสิทธิภาพการทำงานของน้ำย่อยที่ต่ำ (Wang *et al.*, 1980) ทำให้ต้องมีการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตลงในอาหารเพื่อให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เพียงพอกับความต้องการของปลา โดยทั่วไปปลามีความต้องการฟอสฟอรัสแตกต่างกันออกไปตามชนิด ขนาดหรืออายุ และเพศ โดยปลาเรนโบว์เทร้าท์มีความต้องการฟอสฟอรัสในอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างกระดูกประมาณ 0.7 ถึง 0.8 เปอร์เซ็นต์ของอาหารทั้งหมด (Ogino and Takeda, 1978) จากการศึกษาของ Wilson และคณะ (1982) รายงานว่า ปลากดอเมริกันต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลานิล (blue tilapia, *O. aureus*) ต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับ 0.50 เปอร์เซ็นต์ *O. niloticus* 0.46 เปอร์เซ็นต์ และปลานิลแดงแปลงเพศมีความต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.76 เปอร์เซ็นต์ (Phromkunthong and Udom, 2006)

1.2.2 แหล่งของฟอสฟอรัส จะได้มาจาก 3 แหล่งที่สำคัญคือ

1) วัตถุดิบจากพืช

ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืช เป็นแหล่งฟอสฟอรัสที่มีราคาถูก ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อลดต้นทุนของอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ แต่วัตถุดิบพืชมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น เรื่องกลิ่น รสชาติของอาหาร และเรื่องของการใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้ไม่เต็มที่ เช่น กากถั่วเหลืองหรือรำละเอียด ปลาสามารถย่อยฟอสฟอรัสได้น้อยมากประมาณ 8-20 เปอร์เซ็นต์ (วีรพงศ์, 2536) โดยฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของกรดไฟติก ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม และโพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่า ไฟติน (phytin) ดังรูปที่ 1 ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วยอิน

โนซิทอลกับฟอสเฟตเรียกว่า ไฟเตท (Uhlig, 1998) แหล่งฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบจากพืชมีหลายชนิดได้แก่ รำละเอียด รำข้าวสาลี คาร์โนลา เป็นต้น (Chung, 2002)



ภาพที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติก (myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis phosphate) (Adeola and Sands, 2003)

2) วัตถุดิบจากสัตว์

วัตถุดิบจากสัตว์เป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่ดี มีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง และสัตว์น้ำสามารถย่อยและนำฟอสฟอรัสไปใช้ได้สูงกว่าวัตถุดิบจากพืช โดยเฉพาะฟอสฟอรัสจากปลาป่น ปลาทั่วไปสามารถย่อยปลาป่นได้ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาด้วย โดยพบว่าการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสจากปลาป่นในปลานิล จะมีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาเรนโบว์เทร้าท์ (rainbow trout) และปลาชัมแซลมอน (chum salmon) โดยปลาชัม แซลมอน นำไปใช้ได้ 71 เปอร์เซ็นต์ และในปลานิล นำไปใช้ได้ 65 เปอร์เซ็นต์ (Watanabe *et al.*, 1980a,b) สำหรับปลากดอเมริกันสามารถใช้ฟอสฟอรัสจากปลาป่นที่ทำจากปลาแอนโชวี (anchovy) และปลาเมนฮาเดน (menhaden) ได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มแซลมอนอื่น ย่อยได้ประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ (Riche and Brown, 1996) และในปลาไนก็ใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสจากปลาป่นได้ต่ำกว่าปลาเรนโบว์เทร้าท์ (Ogino *et al.*, 1979) ซึ่งความแตกต่างของการใช้ฟอสฟอรัสจากปลาป่นของปลาแซลมอน, ปลาไน และปลานิลอาจเกิดจากข้อจำกัดของน้ำย่อยในกระเพาะที่ย่อยฟอสฟอรัส (Watanabe *et al.*, 1988; NRC, 1993) และเนื่องจากฟอสฟอรัสในปลาป่นส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่เรียกว่า insoluble hydroxyapatite ซึ่งมาจากส่วนของเนื้อเยื่อส่วนแข็งได้แก่ กระดูก และเกล็ด ความสามารถในการนำฟอสฟอรัสจากปลาป่นไปใช้ประโยชน์ในปลาไนจึงค่อนข้างต่ำโดยนำไปใช้ได้เพียง 10-33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในปลาแบล็คซีบรีม (black sea bream) นำไปใช้ได้ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ (Yone and Toshima. 1979 อ้างโดย NRC, 1993)

3) อนินทรีย์ฟอสเฟต

สำหรับฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์นิยมใช้สมทบในอาหารปลา เนื่องจากปลาสามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้มากกว่าแหล่งอื่นๆ โดยรูปแบบของ อนินทรีย์ฟอสเฟตที่นิยมเสริมในอาหารปลามี 3 รูปแบบ คือ โมโนเบสิค (monobasic) ไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) โดยปลาจะสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปโมโนเบสิค และไดเบสิค เนื่องจากอยู่ในรูปที่แตกตัวได้ง่าย และละลายน้ำได้ดีกว่าในรูปไตรเบสิค และปลาที่มี

กระเพาะมีกรดเกลือสามารถย่อยฟอสฟอรัสให้แตกตัวออกมาได้ โดยเฉพาะไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งจะละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรดแก่เท่านั้น จึงทำให้ปลาเรนโบว์เทร้าท์ดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้มาก แต่ปลาไนไม่มีกระเพาะอาหารจึงไม่มีกรดเกลือมาช่วยในการย่อยฟอสฟอรัส (Watanabe *et al.*, 1988; NRC, 1993) โดยในปลาเรนโบว์เทร้าท์ สามารถนำฟอสฟอรัสจากโมโนแคลเซียมฟอสเฟตมาใช้ประโยชน์ได้ 94 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสจากไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 64 เปอร์เซ็นต์ และปลาไนสามารถนำฟอสฟอรัสจากโมโนแคลเซียมฟอสเฟตมาใช้ประโยชน์ได้ 94 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสจากไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 13 เปอร์เซ็นต์ (Clark, 1989)

1.2.3 การดูดซึมฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสจากอาหารจัดเป็นแหล่งที่สำคัญที่สุดสำหรับปลา โดยปริมาณของฟอสฟอรัสที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะส่งผลโดยตรงต่อปริมาณฟอสเฟตในเลือด (Kudriavetz and Pora, 1958; Phillips, 1962 อ้างตาม Lall, 2002) ฟอสฟอรัสที่ดูดซึมได้จะถูกเก็บสะสมไว้ในเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม (soft tissues) เช่น หัวใจ ตับ ไต กล้ามเนื้อ และเลือด เป็นต้น แต่ในโครงร่างแข็ง (skeletal tissues) มีปริมาณการเก็บสะสมเอาไว้ค่อนข้างต่ำ ซึ่งฟอสฟอรัสที่สะสมในเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มสามารถสูญเสีย หรือถูกขับออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็ว แต่ที่อยู่ในโครงร่างแข็งจะไม่พบการสูญเสีย (Tomiyama *et al.*, 1956; Asno and Ito, 1957 อ้างตาม Lall, 2002) กลไกการดูดซึมและเคลื่อนย้ายฟอสฟอรัสในปลายังมีรายงานการศึกษาที่ไม่ชัดเจน แต่ในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูงเกิดขึ้นโดยอาศัยกระบวนการแอคทีพทรานสปอร์ต (active transport) ที่บริเวณลำไส้ (Lall, 2002) จากการศึกษาการดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟต (PO43-) ในลำไส้ของปลาไน พบว่าการดูดซึมจะเกิดขึ้นบริเวณส่วนกลางของลำไส้มากกว่าบริเวณส่วนหน้าและส่วนท้าย (Nakamura, 1985)

ความสามารถของปลาในการย่อย และดูดซึมฟอสฟอรัสจากอาหารมาใช้ประโยชน์มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยได้แก่ ปริมาณของแร่ธาตุในอาหาร โครงสร้างทางเคมี ขนาดของอาหาร ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารอาหาร ชนิดและปริมาณของสารคีเลตในอาหาร สารต้านโภชนาการที่มีอยู่ สรีระวิทยาและพยาธิสภาพของปลาในแต่ละช่วงอายุ คุณสมบัติทางเคมีของน้ำ แหล่งของฟอสฟอรัสในอาหารเช่นจากส่วนประกอบของวัตถุดิบ ซึ่งจะมีองค์ประกอบของโมเลกุลชนิดต่างๆเชื่อมต่อกับฟอสฟอรัสก็ยังส่งผลให้รูปแบบการดูดซึมแตกต่างกันด้วย (Lall, 2002) และความเป็นกรดด่างของกระเพาะอาหารของปลายังส่งผลต่อความสามารถในการใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุในอาหาร (Vielma and Lall, 1998; Sugiura *et al.*, 1999) นอกจากนี้ปลาที่มีกระเพาะอาหาร เช่น ปลาดุก ปลากะพงขาว ปลาแซลมอน และปลาเรนโบว์เทร้าท์ มีความสามารถในการย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสได้ดีกว่าปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารเช่น ปลาไน เนื่องจากภายในกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดจึงทำให้ฟอสฟอรัสแตกตัวอยู่ในรูปอิสระ (อิออน) ได้ดีขึ้น จากการศึกษาของ Watanabe และคณะ (1988) พบว่า ปลาเรนโบว์เทร้าท์สามารถย่อยและดูดซึมไดแคลเซียมฟอสเฟต และไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 71 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาไนย่อยและดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้เพียง 46 และ 13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเท่านั้น เนื่องจากปลาที่มีกระเพาะมีกรดเกลือสามารถย่อยฟอสฟอรัสให้แตกตัวออกมาได้ โดยเฉพาะไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งจะละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรดแก่เท่านั้น จึงทำให้ปลาเรนโบว์เทร้าท์ดูดซึมนำไปใช้

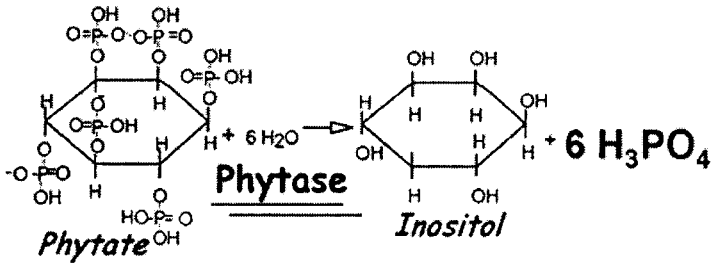
ประโยชน์ได้มาก แต่ปลาไนไม่มีกระเพาะอาหารจึงไม่มีกรดเกลือมาช่วยในการละลายฟอสฟอรัส ปลาเรนโบว์-เทร้าท์ที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟตหรือไตรแคลเซียมฟอสเฟตจึงมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน

ฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์ ส่วนมากจะมีคุณสมบัติแตกตัวได้ง่ายและอยู่ในรูปอิสระ จึงถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะอาหารหรือลำไส้ได้ง่าย (วีรพงศ์, 2536) สำหรับการใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตขึ้นอยู่กับชนิดของสาร และปริมาณที่ผสมในลงอาหาร Eya และ Lovell (1997) โดยพบว่าปลากดอเมริกันสามารถดูดซึมโมโนโซเดียมฟอสเฟตได้ดีที่สุด คือ 88.6เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ โมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต 85.4 เปอร์เซ็นต์ โมโนแคลเซียม-ฟอสเฟต 81.2 เปอร์เซ็นต์ ไดแคลเซียมฟอสเฟต 74.8 เปอร์เซ็นต์ และไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 54.8 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตามการเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตแม้ว่าจะทำให้อาหารมีปริมาณของฟอสฟอรัสตามต้องการ แต่มีผลเสียคือ ส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสถูกขับออกจากมูลมากขึ้น (Kim *et al.*, 1998)

1.2.4 เอนไซม์ไฟเตส

ไฟเตส (phytase: myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเตส (phosphatase) (Cosgrove, 1980) เอนไซม์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) แยกสารอนินทรีย์ฟอสเฟตออกจากสารอินทรีย์ฟอสเฟตที่ตำแหน่งพันธะ P-O บอนด์ (Nys *et al.*, 1996) และทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกรด ไฟติก หรือไฟเตท โดยทำให้ฟอสเฟตหลุดออกจากโมเลกุลของไฟเตททีละตัว เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวกลางที่มีชื่อว่า อินโนซิทอล เพนตะฟอสเฟต (inositol pentaphosphate) คือมี อินโนซิทอลจับอยู่กับฟอสเฟต 5 กลุ่ม จากนั้นถูกย่อยต่อไปได้เป็นอินโนซิทอลเตทตราฟอสเฟต (inositol tetraphosphate) อินโนซิทอล ไตรฟอสเฟต (inositol triphosphate) อินโนซิทอลไดฟอสเฟต (inositol diphosphate) และอินโนซิทอลโมโนฟอสเฟต (inositol monophosphate) ตามลำดับ จนกระทั่งหมู่ฟอสเฟตที่จับอยู่กับอินโนซิทอลถูกย่อยสลายออกมาทั้งหมด 6 โมเลกุล (Jongbloed *et al.*, 1993) เอนไซม์ไฟเตสที่รู้จักกันดี คือ 3-phytase และ 6-phytase โดย 3-phytase จะเริ่มสลายพันธะของกลุ่มออโธฟอสเฟตออกจากโมเลกุลของกรดไฟติกหรือไฟเตทที่ตำแหน่งที่ 3 และ 6-phytase เริ่มที่ตำแหน่งที่ 6



ภาพที่ 2. การทำงานของเอนไซม์ไฟเตสในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากไฟเตท
(University of Guelph, 2010)

โดยทั่วไปเอนไซม์ไฟเตสสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา แบคทีเรีย (Gifford and Clydesdale, 1990) ส่วนที่พบในเนื้อเยื่อพืชพบในผัก ผลไม้ โดยเฉพาะในเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรน์ ข้าวโพด รำข้าว และถั่วต่างๆ เช่นเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแขก เมล็ดพืชตระกูลผักกาด ในสัตว์สามารถพบได้ในเลือดของนก สัตว์เลื้อยคลาน ปลา เต่าทะเล หมู หนู ไก่ มนุษย์ และจะพบมากในกระเพาะของสัตว์สี่กระเพาะ ซึ่งภายในจะมี จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวสร้างเอนไซม์ออกมา และในจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้งจากแบคทีเรีย (*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus amylovorus* และ*Enterobacter* sp. เป็นต้น) เชื้อรา (ในกลุ่มของ *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* และ *Rhizopus*) (Konietzny and Greiner, 2002; Vohara and Satyanarayana, 2003) เอนไซม์ไฟเตสที่นิยมใช้เสริมในอาหารได้มาจากการสกัดจากจุลินทรีย์ ซึ่งปัจจุบันมีการผลิตเอนไซม์ออกมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก และเอนไซม์เหล่านั้นก็มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทั้งประสิทธิภาพการทำงาน ความคงทนต่อความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ โดยวัตถุประสงค์ของการใช้เอนไซม์ไฟเตสในอาหารก็เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากอาหารที่เป็นวัตถุดิบจากพืชทั้งในสัตว์บกเช่น ไก่ และสุกร และสัตว์น้ำจำพวกปลา และเพิ่มการใช้ประโยชน์จากสารอาหารอื่นๆในวัตถุดิบพืช ทั้งนี้เนื่องจากในอาหารสัตว์น้ำจะมีแนวโน้มของการนำเอาวัตถุดิบพืชชนิดต่างๆ เข้ามาเป็นส่วนผสมมากขึ้น ทั้งการนำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีน พลังงาน และสารอาหารอื่นๆ ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ไฟเตสจะเป็นการช่วยทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบพืชเหล่านั้นมากขึ้น (Vielma *et al* ., 1998; Riche *et al* ., 2001; Sugiura *et al*., 2001)

หน่วยของการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในปัจจุบันสามารถพบได้หลายหน่วย ได้แก่ FTU (Fytase Units), FYT (Feed Grade Yield Treatment Unit), PPU (Phytate Phosphorus Utilization) และ U (Unit) ทั้งสี่หน่วยนี้จะมีคำจำกัดความเดียวกันคือ 1 หน่วยของเอนไซม์ไฟเตสที่ทำให้ 1 ไมโครโมลของสารอนินทรีย์ฟอสเฟตถูกปลดปล่อยจากสับเตรท (substrate) ที่เป็นโซเดียมไฟเตทในระยะเวลา 1 นาที ณ ที่ความเป็นกรดด่าง 5.5 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Cole, 2002)

จากเหตุผลที่เอนไซม์ไฟเตสเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการ ไฮโดรไลส์ กรดไฟติก และไฟเตทได้ดี และพบว่ามีเอนไซม์ชนิดนี้ในอาหาร และทางเดินอาหารของปลาหรือสัตว์กระเพาะเดี่ยวในปริมาณที่ไม่เพียงพอที่จะทำให้สามารถย่อยกรดไฟติก และไฟเตทในอาหารซึ่งมีส่วนประกอบเป็นวัตถุดิบจากพืชได้ (Ellestad, 2003) เป็นผลให้มีการนำเอนไซม์ไฟเตสเสริมลงในอาหารปลาเพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัส โปรตีน และแร่ธาตุต่างๆ ในสารอาหารในปลาชนิดต่างๆ (Storebakken *et al*., 1998; Forster, 1999; Cheng and Hardy, 2003; Debnath *et al*., 2005a,b) รายงานการใช้เอนไซม์ไฟเตสในปลาชนิดต่างๆมีดังต่อไปนี้

Sugiura และคณะ (2001) พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาเรนโบว์เทร้าท์ ที่มีวัตถุดิบพื้นฐานเป็นกากถั่วเหลืองทำให้การดูดซึมฟอสฟอรัส โปรตีน แคลเซียม แมงกานีส ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม สตรอมเซียม และสังกะสีเพิ่มขึ้นโดยการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 4,000 ยูนิต/อาหาร 1 กิโลกรัม จะเพิ่มการดูดซึมฟอสฟอรัสได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และลดระดับของฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งออกมาในมูลของปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาในเชิงการค้า 95-98 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีปริมาณของของเสียที่ถูกขับทิ้งในรูปของสารอินทรีย์ และฟอสฟอรัสลดลง จากการศึกษาของ Saijjadi

และ Carter (2004) พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารที่มีวัตถุดิบพื้นฐานเป็นกากเมล็ดคาโนลา (canola meal) ทำให้ปลาแอตแลนติกแซลมอนมีการสะสมของฟอสฟอรัสในกระดูกในเนื้อเยื่อมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต และยังทำให้ค่าการสะสมของฟอสฟอรัสในตัวปลาสูงขึ้น มีปริมาณการขับทิ้งของฟอสฟอรัสลดลงกว่าการได้รับอาหารเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต

Furuya และคณะ (2001) ทำการทดลองเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสำหรับปลานิล(Nile tilapia) โดยใช้สูตรอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลือง และปลาป่น ที่ระดับเอนไซม์ 0, 500, 1,500 และ 3,000 FTU/ อาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าที่การเสริมเอนไซม์ที่ระดับ 500-1,500 FTU/ อาหาร 1 กิโลกรัม จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย แคลเซียม ฟอสฟอรัส และโปรตีนในอาหาร

Portz และ Liebert (2004) พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสำหรับปลานิล ที่มีวัตถุดิบพืชเป็นหลัก ที่ระดับ 1,000-2,000 FTU/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และยังเพิ่มการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสได้สูงที่สุดที่ระดับเอนไซม์ 4,000 FTU/ อาหาร 1 กิโลกรัม ผลการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 FTU/ อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้มีค่าประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสของปลานิลเป็น 60.1, 71.7, 71.1 และ73.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Phromkunthong และ Gabaudan (2006) ได้ทำการศึกษาระดับที่เหมาะสมของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนประกอบทั้งหมดเป็นวัตถุดิบจากพืช โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับมากกว่า 1,000 ยูนิต/ อาหาร 1 กิโลกรัม จะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 500 ยูนิต/ อาหาร 1 กิโลกรัม จะทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมสูงขึ้นในขณะที่ฟอสฟอรัส ในมูลจะลดลงเมื่อได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสตั้งแต่ 500 ยูนิต/ อาหาร 1 กิโลกรัม และที่ระดับ 4,000 ยูนิต/ อาหาร 1 กิโลกรัม จะทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าระดับอื่นๆ

Debnath และคณะ (2005a) พบว่าเมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารปลากลุ่มปลาสวาย (Pangasius pangasius) ที่ระดับ 500 FTU/ อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มระดับของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลฟอสฟาเตสได้สูงสุด และ Debnath และคณะ (2005b) ยังพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารที่มีวัตถุดิบส่วนใหญ่เป็นวัตถุดิบจากพืชสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยแร่ธาตุ ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส สังกะสี เหล็ก โปแตสเซียม ทองแดง และโคบอลท์ รวมถึงเพิ่มปริมาณแร่ธาตุในกระดูก

Liebert และ Portz (2005) ศึกษาผลการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลานิล (O. niloticus) โดยใช้อาหารทดลองเป็นวัตถุดิบจากพืชทั้งหมด และเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอนไซม์ไฟเตส และชนิดของเอนไซม์ไฟเตสที่ต่างกัน ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์จากพลังงาน โปรตีน และฟอสฟอรัส และพบว่าเอนไซม์ไฟเตสมีผลทำให้ปริมาณของแร่ธาตุในเกล็ดปลา และกระดูกสันหลังเพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าชนิดของเอนไซม์ไฟเตสที่ต่างกันจะมีประสิทธิภาพต่างกัน โดยที่การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในระดับที่เหมาะสมจะให้ผลต่อการใช้ประโยชน์จากอาหารไม่แตกต่างกับการเสริมอนิ

นทรีย์ฟอสเฟต โดยผู้วิจัยให้ข้อเสนอว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ 750 FTU/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสม

Tudkeaw และคณะ (2008) พบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นตัวละประมาณ 14 กรัมเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยใช้ DCP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตจากการทดลองพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารให้ผลดีทั้งในด้านการเจริญเติบโต สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส และการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาและสามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งได้เป็นอย่างดี โดยปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งลดลงจาก 6.34 ในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสเป็น 3.73 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเอนไซม์ไฟเตส นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสสามารถลดปริมาณการใช้ DCP ลงได้ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ (จาก 1.5 เหลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์) โดยไม่ส่งผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และองค์ประกอบปัจจัยอื่นๆ ของตัวปลา ตรงกันข้ามกลับช่วยเพิ่มการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ดังจะเห็นได้จากการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาที่เพิ่มขึ้นและสามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งได้

1.2.5 กรดอินทรีย์

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตระหนักและให้ความสนใจกับผลกระทบจากการเพาะเลี้ยงต่อสิ่งแวดล้อมเพิ่มมากขึ้น (Naylor *et al.*, 2000) แนวทางที่นิยมปฏิบัติคือ การเพิ่มสารเติมแต่ง (feed additive) ลงในอาหารเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และลดปริมาณของเสียที่ถูกขับถ่ายออกสู่สิ่งแวดล้อม สารเติมแต่งที่นิยมใช้ในได้แก่ โปรไบโอติก (Irianto and Austin, 2002) เอนไซม์ต่างๆ (Tudkeaw *et al.*, 2008) รวมทั้งกรดอินทรีย์ที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน(Luckstadt, 2006) การใช้กรดอินทรีย์ผสมลงในอาหารมีวัตถุประสงค์หลัก 2 ประการ คือ 1) ช่วยเพิ่มปริมาณไฮโดรเจนไอออน (H+) ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารเพิ่มขึ้น ปลาไนและปลาที่ไม่มีกระเพาะอีกหลายชนิดไม่มีน้ำย่อยที่เป็นกรดเกลือ จึงเป็นเหตุผลที่สามารถอธิบายถึงสาเหตุที่ปลาเหล่านี้ใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในปลาป่นได้น้อย (Sugiura *et al.*, 1998) และ 2) ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคจำพวก *E. coli* และ *Salmonella* spp. เนื่องจากอาหารปลาบางชนิด เช่น ปลาแซลมอนและปลาเรนโบว์เทร้าท์ เป็นอาหารเม็ดแบบเปียกมีความชื้นสูง (ความชื้นมากกว่า 14%) แบคทีเรียก่อโรคจึงเจริญเติบโตได้ง่าย ดังนั้นการเติมกรดอินทรีย์ลงในอาหารทำให้ pH ของอาหารต่ำลงจนไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (pH ต่ำกว่า 5) (Eidelsburger, 1997 อ้างโดย Luckstadt, 2006) กรดอินทรีย์ที่นิยมเติมลงในอาหารมีหลายชนิด เช่น กรดซิตริก (citric acid) กรดอะซิติก (acetic acid) และกรดฟอร์มิก (formic acid) เป็นต้น เมื่อกรดอินทรีย์ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายของปลาผ่านทางผนังลำไส้ จะเข้าสู่กระบวนการเมตาบอลิซึม เพื่อสร้างพลังงาน ATP จากวัฏจักร citric cycle (ตารางที่ 1) แต่การใช้กรดอินทรีย์ในอาหารก็มีข้อจำกัด เพราะหากให้อาหารที่ผสมกรดเป็นเวลานานจะทำให้ปลาเครียดได้ (Luckstadt, 2006)

Mroz และคณะ (2000) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์แคลเซียมซัลเฟตลงในอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารหมูให้เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ Overland และคณะ (2000) และ Kluge และคณะ (2004) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์สามารถลด pH ในลำไส้ส่วนดูโอดีนัม เพิ่มประสิทธิภาพการสะสมไนโตรเจน และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของสารอาหารหลายชนิด

ตารางที่ 1. พลังงานรวมของกรดอินทรีย์และเกลือ (ดัดแปลงจาก Luckstadt, 2006)

Organic acid/salt	การละลายน้ำ	พลังงานรวม (kcal/kg)
Formic acid	ดีมาก	1385
Acetic acid	ดีมาก	3535
Lactic acid	ดี	3607
Citric acid	ดี	2460
Propionic acid	ดีมาก	4968
Calcium lactate	ต่ำ	2436

Boling-Frankenbach และคณะ (2000) พบว่าการเสริมกรดซิตริก 4-6 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการเพิ่มสัมประสิทธิ์การย่อยของฟอสฟอรัสของไฟเตทใน Broiler chicks และการเสริมกรดซิตริกเพียงเล็กน้อยจะช่วยเพิ่มสัมประสิทธิ์การย่อยของฟอสฟอรัสของไฟเตทในหมูและกรดซิตริกซึ่งเป็นตัว Chelator ของแคลเซียมอย่างดีสามารถดึงแคลเซียมหรือแร่ธาตุซึ่งจับอยู่กับโมเลกุลของไฟเตทได้และทำให้มีฟอสฟอรัสอิสระเพิ่มมากขึ้น และการเติมกรดลงไปจะมีผลต่อพีเอชในลำไส้ซึ่งอาจทำให้เอ็นไซม์ไฟเตสทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

Xie และคณะ (2003) พบว่าการเสริมกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดซิตริก กรดเมตาอะเซโตนิกและกรดแลกติกช่วยกระตุ้นการกินอาหารของปลานิล (*Tilapia nilotica*) โดยพบว่าอาหารที่เสริมกรดซิตริกที่ความเข้มข้น 0.01 M จะกระตุ้นการกินอาหารของปลานิล แต่ที่ความเข้มข้น 0.001 M จะไม่มีผลต่อปลา

Hossain และคณะ (2007) พบว่าการเสริมกรดแต่ละชนิดในอาหารจะส่งผลต่อสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสหรือการดูดซึมของแร่ธาตุที่แตกต่างกัน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษากับปลากระพงแดง (Red sea bream, *Pagrus major*) โดยเสริมกรดอินทรีย์ คือ กรดซิตริก กรดมาลติก กรดแลกติก methionine hydroxy analog และ liquid trace elements อย่างละ 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่มีโปรตีนจากพืชบางส่วน ผลการศึกษาพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่กินอาหารที่เสริมกรดซิตริก, โมโนแคลเซียมฟอสเฟตหรือ liquid trace elements ไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) การเสริมกรดแลกติกจะทำให้ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำสุดในปลาที่กินอาหารที่เสริมกรดซิตริกและมีค่าสูงที่สุดในอาหารที่เสริมกรดแลกติก แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในอาหารแต่ละสูตร

1.2.6 ปลาไน

1) อนุกรมวิธานและชีววิทยาของปลาไน

ปลาไนเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง โดยมีชื่อสามัญว่า Common carp มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cyprinus carpio* ซึ่ง Berg (1974) ได้มีการจัดเรียงอนุกรมวิธานดังต่อไปนี้

Phylum Vertebrata

Class Teleostomi

Subclass Actinopterygii

Order Cypriniformes

Suborder Cyprinoidei

Family Cyprinidae

Genus *Cyprinus*

Species *carpio*

2) รูปร่างลักษณะทั่วไปของปลาไน

ปลาไนเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง อยู่ในจำพวกปลาตะเพียน มีร่างกายแข็งแรงและรูปร่างลักษณะคล้ายปลาตะเพียน มีเกล็ดกลมใหญ่ทั่วตัว แต่บริเวณส่วนหัวจะไม่มีเกล็ด ปากเล็ก ไม่มีฟัน ริมฝีปากหนาและมีหนวดสี่เส้น ครีบหลังเป็นครีบเดี่ยวยาวติดกันเป็นพืด สีของลำตัวจะมีลักษณะเป็นสีเงินปนเทา บางทีก็เหลืองอ่อน หรือบางตัวก็เป็นสีทองตลอดตัว (สันต์, 2548)

ปลาไนอาศัยอยู่ตามแม่น้ำ ลำคลอง หนองบึง ที่มีพื้นเป็นดินโคลน กระแสน้ำไหลอ่อนเกือบนิ่ง ชอบอยู่ในน้ำอุ่นมากกว่าน้ำเย็น ไม่ชอบน้ำใสจนเกินไป ปกติชอบวางไข่ในที่ตื้น เป็นปลาที่อดทนต่อดินฟ้าอากาศ ปรับตัวเข้ากับธรรมชาติได้รวดเร็ว ปกติปลาไนมีนิสัยตื่นตกใจง่าย แต่ก็สามารถฝึกให้เชื่องได้โดยวิธีการให้อาหาร กล่าวคือ ต้องระวังอย่าให้ปลาตกใจหรือกลัวจนเกินไปหากว่ากลัวหรือตกใจเสียครั้งหนึ่งแล้ว กว่าจะทำให้คุ้นเคยหรือเชื่องได้อีกก็กินเวลานาน (Li and Mathias, 1994; Pillay, 2002; Schultz, 2004)

3) ลักษณะเพศ

รูปร่างลักษณะภายนอกของปลาไนตัวผู้และตัวเมียจะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก การสังเกตลักษณะของเพศ ต้องอาศัยความชำนาญ ตัวเมียมีลำตัวป้อม ช่วงท้องตอนล่างอวบใหญ่แบน ส่วนตัวผู้มีลำตัวเรียวยาว โดยเฉพาะในฤดูวางไข่ ตัวเมียท้องจะอูมเป่งออกมาทั้งสองข้าง พื้นท้องนิ่ม หากเอามือบีบท้องเบาๆ ไข่จะไหลออกมาทางช่องเพศ ส่วนปลาตัวผู้ พื้นท้องไม่อูมเป่งแต่พื้นท้องจะมีลักษณะตึงค่อนไปทางแข็ง ถ้าเอามือบีบท้องไล่มือไปทางช่องทวารเบาๆ จะมีน้ำสีขาว ๆ คล้ายน้ำนมไหลออกมาจากช่องเพศ และถ้าเอามือลูบที่แก้มหรือเกล็ดตามตัวจะรู้สึกสาก ส่วนของตัวเมียจะมีลักษณะลื่นกว่า (Schultz, 2004)

ฤดูวางไข่ของปลาไนย่อมแตกต่างกันบ้างตามแต่อากาศและฤดูกาลของแต่ละประเทศ เช่น ปลาไนที่เลี้ยงอยู่ในบ่อเมืองกวางตุ้ง ประเทศจีน จะวางไข่ในเดือนธันวาคม ในฮ่องกง ปลาไนจะวางไข่ในเดือนมกราคม

และในแถบแยงซี ปลาไนจะวางไข่ตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน ในญี่ปุ่น ฤดูวางไข่ของปลาไนเริ่มตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม สำหรับในประเทศไทย ปลาไนสามารถที่จะวางไข่ได้ในทุกฤดู แต่ก็มีระยะหนึ่งซึ่งปลาไนสามารถไข่ได้มากที่สุด ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ปลาไนจะเติบโตพอที่จะสืบพันธุ์ได้เมื่อมีอายุประมาณ 6 เดือน ความยาวประมาณ 25 เซนติเมตร ในฤดูหนึ่ง แม่ปลาตัวหนึ่งอาจวางไข่ได้ถึง 2 ครั้ง (วิทย์, 2515 อ้างโดย สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2524)

ลักษณะไข่ของปลาไนจะมีลักษณะกลม สีเทาอ่อน มีเมือกเหนียว ไข่จะติดกับพันธุ์ไม้น้ำหรือหญ้าที่อยู่ในน้ำ ถ้าไม่มีที่ติดไข่ก็จะจมลงก้นบ่อและเป็นไข่ที่เสียไม่สามารถฟักเป็นตัวได้ (สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2524)

4) ความต้องการสารอาหารของปลาไน

ปลาไนเป็นปลาที่กินอาหารได้ทั้งพวกพืชและสัตว์ (omnivorous) ซึ่งส่วนมากจะเป็นตัวอ่อนของแมลง หนอนแดงประเภทต่างๆ รวมทั้งเศษพืชและสัตว์ที่เน่าเปื่อย (Schultz, 2004) ซึ่งนิสัยการกินอาหารของปลาไนมักจะหากินตามพื้นก้นบ่อ โดยใช้ปากชอนไชไปตามพื้นและขอบบ่อ จึงมักจะทำให้น้ำในบ่อขุ่น และขอบบ่อพังได้ (ปรีดา, 2522 อ้างโดย สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 2524)

ความต้องการสารอาหารของปลาไนก็เหมือนกับสัตว์น้ำทั่วไป โดยจะมีความต้องการโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เพื่อใช้เป็นพลังงานช่วยในการเจริญเติบโต และต้องการพวกวิตามินและแร่ธาตุ เพื่อทำให้การเจริญเติบโตของปลาเป็นปกติ จากรายงานความต้องการโปรตีนของปลาไนซึ่งพบว่ามีหลายระดับด้วยกัน ซึ่ง Kaushik (1995) รายงานว่าความต้องการโปรตีนในปลาไนที่ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาเป็นปกติ อยู่ในช่วง 25-50 เปอร์เซ็นต์ ส่วน NRC (1993) ได้รายงานว่า ความต้องการโปรตีนของปลาไนนั้นอาจสูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ไม่ได้ทำให้การเจริญเติบโตแตกต่างจากปลาไนที่ได้รับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานระดับของโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาไนอยู่ในช่วงระหว่าง 31-38 เปอร์เซ็นต์ (Ogino and Saito, 1970) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าความต้องการโปรตีนมีความแตกต่างกันมากพอสมควร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิของน้ำก็มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความต้องการโปรตีนของปลา ซึ่งปลาเมืองหนาวและปลาเมืองร้อนใช้ประโยชน์จากอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงได้ดีในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง ปลากดหลวงที่เลี้ยงในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 23.8 องศาเซลเซียส และเลี้ยงด้วยอาหารที่มีโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเลี้ยงในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ปลาเจริญเติบโตดีเมื่อได้รับอาหารที่มีโปรตีน 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ (Hastings, 1969) นอกจากโปรตีนแล้วระดับไขมันก็เป็นส่วนที่จะต้องพิจารณา โดยไขมันเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และฮอร์โมน รวมทั้งยังเกี่ยวข้องกับการดูดซึมอาหารโดยทำหน้าที่เป็นตัวนำพาสารอาหารที่ละลายในไขมัน เช่น วิตามิน และสเตอรอล (เวียง, 2542) จากรายงานของ Geurden และคณะ (1998) ที่ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของฟอสโฟลิพิดที่เสริมลงในอาหารของปลาไนระยะวัยอ่อน พบว่า สูตรอาหารที่มีการเสริมน้ำมันถั่วลิสง ซึ่งเป็นที่มาของฟอสโฟลิพิด ส่งผลทำให้อัตราการรอดของปลาไนต่ำกว่าสูตรอาหารที่มีการเสริมฟอสโฟลิพิด ที่มาจากหลายแหล่งรวมอยู่ในสูตรอาหารและมีไขมันรวมเท่ากับ 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการรายงานระดับความต้องการไขมันในอาหารที่เหมาะสมสำหรับ

ปลาไน คือ 5-15 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาไนดีที่สุด (Takeuchi *et al.*, 2002) คาร์โบไฮเดรตก็จัดเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานเช่นเดียวกันถึงแม้ว่าระดับการให้พลังงานจะไม่มากเท่ากับโปรตีนและไขมัน (Cowey and Sargent, 1979) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ปลากินพืชสามารถย่อยแป้งได้ดีกว่าปลากินทั้งพืชและสัตว์ และปลากินสัตว์ตามลำดับ ความแตกต่างในการย่อยก็ขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำย่อยในปลาแต่ละกลุ่ม โดยปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์อย่างเช่น ปลาไน จะมีเอนไซม์ย่อยแป้งได้ดีกว่าประมาณ 1,000 เท่าของปลากินเนื้ออย่างปลาแซลมอน (Brett and Groves, 1979) จากรายงานความต้องการคาร์โบไฮเดรตในปลาไนที่มีค่าอยู่ระหว่าง 30-40 เปอร์เซ็นต์ จะเพียงพอแก่ความต้องการของร่างกาย (Shimeno *et al.*, 1981) ส่วนความต้องการวิตามินและแร่ธาตุถึงแม้ว่าจะต้องการในปริมาณที่น้อย แต่ก็จำเป็นที่จะต้องเสริมลงในอาหาร เพื่อให้การเจริญเติบโตของปลาเป็นไปอย่างปกติ (เวียง, 2542) โดยทั่วไปแล้วในการผลิตอาหารสำหรับสัตว์น้ำ การเสริมวิตามินและแร่ธาตุจะเสริมในรูปของวิตามินและแร่ธาตุรวม เนื่องจากการเสริมวิตามินและแร่ธาตุรวมนั้น จะผสมวิตามินและแร่ธาตุที่สัตว์น้ำมักจะขาดและต้องการไว้ให้เรียบร้อยแล้ว ดังนั้นในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลา มักจะนิยมเสริมวิตามินและแร่ธาตุรวมลงไปเป็นส่วนผสมในอาหาร

5) ความสำคัญในแง่ของเศรษฐกิจ

ปลาไนจัดได้ว่าเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก จากข้อมูลในปีค.ศ. 2004 ผลผลิตปลาไนจากการเพาะเลี้ยงสูงถึง 3,387,918 ตัน คิดเป็น 13 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตปลาน้ำจืดทั่วโลก และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี นับตั้งแต่ปีค.ศ. 1985 ถึงค.ศ. 2004 ผลผลิตปลาไนเพิ่มขึ้นในอัตรา 10.4 เปอร์เซ็นต์ต่อปี ทวีปเอเชียเป็นแหล่งผลิตที่สำคัญ โดยในปีค.ศ. 2005 ประเทศจีนเป็นประเทศที่มีการผลิตปลาไนสูงที่สุดของโลกคิดเป็นสัดส่วนถึง 70 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตปลาไนทั่วโลก จากข้อมูลในปี 2008 ผลผลิตปลาไนทั่วโลกและในยุโรปมีปริมาณสูงถึง 2,987,433 ตันและ144,747 ตันตามลำดับ (Peteri, 2006; FAO, 2011)

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตได้แก่ โมโนโซเดียมฟอสเฟตและไดแคลเซียมฟอสเฟตที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสของปลาไน

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของการใช้เอนไซม์ไฟเตสทดแทนอนินทรีย์ฟอสเฟต รวมทั้งผลของการใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดอินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสของปลาไน

3. เพื่อนำผลจากการทดลองนี้ไปประยุกต์ในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1. ทราบถึงรูปแบบที่เหมาะสมของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่สามารถใช้เสริมในอาหารของปลาไน

2. ทราบถึงผลของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดอินทรีย์และความเป็นไปได้ในการทดแทนการใช้เอนไซม์ไฟเตสทดแทนอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารปลาไน

3. สามารถนำผลจากการทดลองในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาไนในเชิงพาณิชย์ต่อไป

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และระเบียบวิธีวิจัย

2.1 วัสดุ

2.1.1 ปลาที่ใช้ในการทดลอง

นำปลาไนน้ำหนักเฉลี่ย 0.5-1.0 กรัมจากฟาร์มเอกชน จังหวัดสงขลาจำนวน 3,000 ตัวมาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1,000 ลิตร จำนวน 3 ถังๆละ 1,000 ตัว ให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 และ 16.00 น. จนกระทั่งปลามีน้ำหนักตัวประมาณ 3-5 กรัมต่อตัว เมื่อปลาได้ขนาดตามที่ต้องการแล้ว จึงคัดเลือกปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันและมีสุขภาพแข็งแรงลงตู้ทดลองที่เตรียมไว้ โดยชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น B 3100 S) งดให้อาหารปลา 1 มื้อก่อนชั่งน้ำหนัก

2.1.2 สารเคมี

1) น้ำมันกานพลูสำหรับสลบปลาในระหว่างการชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่าง

2) คลอรีนผงสำหรับฆ่าเชื้อในน้ำ

3) สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในวัตถุดิบอาหาร อาหารทดลอง และตัวปลาทดลอง

4) สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและองค์ประกอบเลือดปลา

5) ยาสำหรับรักษาโรคเบื้องต้นในระหว่างการทดลอง ได้แก่ oxytetracycline และฟอร์มาลิน

2.2 อุปกรณ์

2.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในระหว่างการเลี้ยงปลาทดลองเก็บรวบรวมข้อมูล

1) ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1,000 ลิตร สำหรับอนุบาลปลาก่อนเริ่มทดลอง

2) ตู้กระจกขนาด 45 x 91 x 45 เซนติเมตร ขนาดความจุน้ำ 184 ลิตร

3) อุปกรณ์ให้อากาศได้แก่ เครื่องให้อากาศ สายยางใส และหัวทราย

4) อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำได้แก่ สายยางสำหรับเปลี่ยนถ่ายน้ำ เครื่องสูบน้ำ

5) อุปกรณ์เคลื่อนย้ายปลาได้แก่ สวิง ขันพลาสติก ถังพลาสติก

6) อุปกรณ์เก็บมูลปลาได้แก่ สายยาง ถุงผ้าขาวบางขาดช่องตา 50 ไมครอน

7) อุปกรณ์สำหรับเจาะเลือดปลาได้แก่ เข็มขนาด 25G หลอดไมโครทิวป์ และหลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

8) อุปกรณ์สำหรับชั่งปลาได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น B 3100 S

2.2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

1) เครื่องผลิตอาหาร ยี่ห้อ Hobart mixer รุ่น A200 T ประกอบด้วยชุดผสมอาหารแบบมีใบพัดและชุดอัดเม็ดอาหาร

2) อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหารได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น รุ่น B 3100 S เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น Research บีกเกอร์ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร ถาดใส่อาหาร และ ถุงพลาสติกใสบรรจุวัตถุดิบและอาหารทดลองที่เสร็จสิ้นกระบวนการผลิต

3) ตู้แช่เยือกแข็งสำหรับเก็บอาหารทดลอง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) ในระหว่างการทดลอง

2.2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและตัวปลา

1) อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ขวดชั่ง (weighing bottle) ตู้อบ (hot air oven) โถดูดความชื้น (desiccator) เครื่องใช้ไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

2) อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีนได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระบอกตวง บีกเกอร์ บิวเรต และขวดรูปชมพู่

3) อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

4) อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมันรุ่น Soxtec System HT6 ไส้กรองสาร ถ้วยสกัดสาร ตู้อบ โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

5) อุปกรณ์วิเคราะห์ฟอสฟอรัส ได้แก่ ตู้อบ โถอบแห้ง เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง เตาให้ความร้อน (อุณหภูมิ 0-300 องศาเซลเซียส) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดพลาสติก และหลอดแก้ว

2.3 การเตรียมชุดการทดลอง

2.3.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 45 x 91 x 45 เซนติเมตรความจุน้ำ 184 ลิตร ทำความสะอาด และเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตร 150 ลิตร ปิดตู้ด้วยผ้าพลาสติกสีทึบ 3 ด้านเพื่อป้องกันปลาถูกรบกวน ติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศ ประกอบด้วย เครื่องให้อากาศ สายยาง และหัวทราย

2.3.2 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองมี 9 สูตร เป็นอาหารเม็ดแบบจมที่จัดเตรียมขึ้นเอง ก่อนทำอาหารจะทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบแต่ละชนิดเพื่อปรับสูตรอาหาร (ตารางที่ 2 และ 3) รายละเอียดของอาหารทดลองมีดังนี้

ตารางที่ 2. รายละเอียดของอาหารทดลองที่ใช้

สูตรอาหาร	รายละเอียด
สูตรที่ 1	อาหารสูตรพื้นฐาน
สูตรที่ 2	อาหารสูตรพื้นฐาน + monosodium phosphate (MSP) 1.1%
สูตรที่ 3	อาหารสูตรพื้นฐาน + MSP 0.55%
สูตรที่ 4	อาหารสูตรพื้นฐาน + MSP 0.55% + phytase 750 FTU
สูตรที่ 5	อาหารสูตรพื้นฐาน + เสริม MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%
สูตรที่ 6	อาหารสูตรพื้นฐาน + dicalcium phosphate (DCP) 1.1%
สูตรที่ 7	อาหารสูตรพื้นฐาน + DCP 0.55%
สูตรที่ 8	อาหารสูตรพื้นฐาน + DCP 0.55% + phytase 750 FTU
สูตรที่ 9	อาหารสูตรพื้นฐาน + DCP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลองมีดังนี้

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารทดลองได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เยื่อใย และฟอสฟอรัส ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) (ตารางที่ 3.) จากนั้นสร้างสูตรอาหารโดยคำนวณอาหารทดลองทุกสูตร ให้มีระดับของโปรตีน ไขมัน และพลังงานที่ใกล้เคียงกัน ส่วนประกอบของอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4.

2. ชั่งวัตถุดิบอาหารที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) ตามอัตราส่วนที่กำหนดใส่ถุงแยกไว้

3. นำวัตถุดิบทั้งหมดที่แยกไว้ข้างต้นยกเว้นน้ำมันปลา มาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมอาหาร ประมาณ 15 นาที โดยในช่วง 5 นาทีแรกให้ใส่น้ำมันปลา หลังจากนั้นอีก 5 นาทีก็เติมน้ำสะอาด 35 เปอร์เซ็นต์ จนครบตามเวลาที่กำหนดเพื่อให้วัตถุดิบอาหารเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ด

4. นำวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้วเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน จากนั้นอบอาหารที่อุณหภูมิ 60-80 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง

5. เก็บอาหารทดลองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแล้วในถุงพลาสติก เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับสูตรอาหารที่มีเอนไซม์ไฟเตสเป็นส่วนประกอบ ทำการชั่งเอนไซม์ไฟเตส (RONOZYME P-5000, DSM Nutritional Products) ตามปริมาณที่กำหนด (0.15 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพื่อให้ได้ปริมาณเอนไซม์ 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม) ผสมเอนไซม์ไฟเตสในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน สเปรย์ให้ทั่วอาหาร จากนั้นนำมาผึ่งลมให้แห้งและเก็บเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. นำอาหารที่เตรียมแล้วไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) (ตารางที่ 5.) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตร

NFE = 100 - (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เถ้า + %เยื่อใย)

ตารางที่ 3. องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารทดลอง (%as fed basis)[1]

วัตถุดิบอาหาร	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	NFE
ปลาป่น	10.06±0.05	62.80±0.08	6.57±0.07	20.27±0.50	-	2.09±0.12	0.32±0.65
กากถั่วเหลือง	12.68±0.89	44.04±0.02	1.24±0.03	7.12±0.45	7.00±0.28	0.62±0.12	27.68±0.35
รำข้าว	9.50±0.22	12.48±0.13	16.64±0.32	10.96±0.15	7.32±0.19	1.80±0.04	42.75±0.11
มันสำปะหลังป่น	13.24±0.36	2.24±0.02	0.62±0.01	9.15±0.60	2.92±0.01	0.10±0.01	71.60±0.17
MSP	-	-	-	-	-	23.67±0.84	-
DCP	-	-	-	-	-	15.49±0.06	-

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4. ส่วนประกอบของอาหารทดลอง (กรัมต่อ 100 กรัมอาหาร)

ชนิดของวัตถุดิบ	ชุดการทดลอง								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
วัตถุดิบหลัก[1]	80	80	80	80	80	80	80	80	80
น้ำมันปลา	2	2	2	2	2	2	2	2	2
โคลีน คลอไรด์ (60%)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
วิตามินผสม[2]	1	1	1	1	1	1	1	1	1
แร่ธาตุผสม (ปราศจากฟอสฟอรัส)[3]	3	3	3	3	3	3	3	3	3
MSP	0	1.1	0.55	0.55	0.55	0	0	0	0
DCP	0	0	0	0	0	1.1	0.55	0.55	0.55
เอนไซม์ไฟเตส	0	0	0	0.015	0.015	0	0	0.015	0.015
กรดซิตริก	0	0	0	0	0.22	0	0	0	0.22
มันสำปะหลังป่น	13.4	12.3	12.85	12.835	12.615	12.3	12.85	12.835	12.615
รวม	100	100	100	100	100	100	100	100	100

[1]วัตถุดิบหลัก (กรัม/100 กรัมอาหาร): ปลาป่น 17; กากถั่วเหลือง 55; รำข้าว 8

[2]วิตามินผสม (กรัม/กิโลกรัมอาหาร):Thiamine (B1) 1; Riboflavin (B2) 2; Pyridoxine (B6) 1; Cobalamin (B12) 0.005; Retinal (A) 400,000 IU; Cholecalciferol (D3) 200,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K3) 8; Folic acid 0.5; Calcium pantothenate 4; Inositol 40; Niacin 15; Tocopherol (E) 15; Ascorbic acid (C) 50; Biotin 0.1

[3]แร่ธาตุผสม (กรัม/กิโลกรัมอาหาร): Na 3.278; Mg 25.25; K 76.612; Ca 49.096; Fe 4.821; Zn 0.667; Mn 0.433; Cu 0.069; Co 0.002; I 0.015

ตารางที่ 5. องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (% as fed basis)[1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	NFE
T1	control	6.07±0.16	35.54±0.84	6.49±0.55	11.99±0.30	5.45±0.35	0.86±0.01	35.23±0.37
T2	MSP1.1%	8.10±0.39	34.88±0.17	6.38±0.49	12.31±0.29	5.41±0.27	1.04±0.03	34.72±0.23
T3	MSP0.55%	6.12±0.04	35.74±0.46	6.65±0.12	11.14±0.09	5.44±0.18	0.93±0.10	35.73±0.07
T4	MSP0.55%+Phyt	9.34±0.95	34.84±0.59	6.43±0.48	11.37±0.63	5.42±0.28	0.94±0.01	34.81±0.76
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	8.30±1.12	35.14±0.68	6.47±0.45	11.50±0.27	5.43±0.02	0.94±0.07	34.52±0.06
T6	DCP1.1%	5.68±0.27	36.38±0.13	6.39±0.08	12.51±0.62	5.40±0.15	0.97±0.76	34.12±0.06
T7	DCP0.55%	4.81±0.02	35.62±0.08	6.36±0.22	12.45±0.14	5.41±0.87	0.89±0.04	35.03±0.57
T8	DCP0.55%+Phyt	7.26±0.06	35.51±0.53	6.31±0.29	10.80±0.21	5.43±0.37	0.88±0.13	34.23±0.14
T9	DCP0.55%+Phyt+CA0.22%	7.51±0.37	35.93±0.40	6.26±0.27	11.98±0.33	5.40±0.03	0.90±0.07	34.32±0.56

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

2.4 ระเบียบวิธีวิจัย

แบ่งการทดลองเป็น 9 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ทั้งหมด 27 หน่วยทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) ปล่อยปลาในตู้ทดลอง ตู้ละ 20 ตัว ใช้ปลาไนทั้งหมด 540 ตัว โดยใช้ปลาเริ่มต้นน้ำหนักประมาณ 4.90 กรัมต่อตัว ทำการสุ่มหน่วยทดลองโดยวิธีจับฉลาก ระยะเวลาในการเลี้ยง 8 สัปดาห์ ให้อาหารวันละ 2 ครั้งในช่วงเช้าเวลา 09.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ก่อนให้อาหารช่วงเย็นจะดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ปลาโดยวิธีกาลักน้ำแล้วเติมน้ำใหม่ให้เท่าเดิมทุกครั้ง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมตลอดการทดลอง

2.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

2.5.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมของปลาทุกชุดการทดลอง เช่น การว่ายน้ำ การยอมรับอาหาร และสังเกตลักษณะภายนอก เช่น สีของตัวปลา การตกเลือด การคดงอของครีบและกระดูก การเกิดบาดแผลบริเวณครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ การใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรคตามสภาพของปลา

2.5.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลา

ตลอดระยะเวลาการทดลองทำการชั่งน้ำหนักปลาทุกๆ 2 สัปดาห์ เพื่อนำมาคำนวณน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นโดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารครึ่งวันก่อนชั่งน้ำหนัก) นับจำนวนปลาที่เหลือตลอดจนเสร็จสิ้นการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (survival rate) และการเจริญเติบโตตามวิธีของ Hardy และ Barrows (2002) จากสมการ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain)

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

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR %/วัน)

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

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) คำนวณจากสมการ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) คำนวณจากสมการ

$$\text{อัตราการกินอาหาร (\% / น้ำหนักตัว / วัน)} = \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_1}{2} \times \frac{N_0 + N_1}{2} \times t}$$

F = น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม)
N_0 = จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)
W_0 = น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)
N_1 = จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)
W_1 = น้ำหนักปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)
t = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

$$\text{อัตรารอดตาย (survival rate, \%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น (ตัว)}} \times 100$$

2.5.3 การคำนวณค่าดัชนีตับต่อตัว

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว นำปลาแต่ละตัวไปชั่งน้ำหนัก และทำการผ่าตัดเพื่อนำตับไปชั่งน้ำหนักและนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าดัชนีตับต่อตัวจากสมการ

$$\text{ดัชนีตับต่อตัว (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตับปลา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวปลา (กรัม)}} \times 100$$

2.5.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 9 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้น และนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990) เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะเก็บตัวอย่างปลาในแต่ละตู้ จำนวน 8 ตัวต่อตู้ นำไปแล่เอากระดูกจำนวน 5 ตัว (รายละเอียดในหัวข้อ 2.5.5) ส่วนปลาอีก 3 ตัว นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เพื่อหาความชื้นของตัวปลา ทำซ้ำจนกระทั่งได้ค่าความชื้นคงที่ แล้วจึงบดตัวปลาให้ละเอียด ก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยในตัวปลาจะวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990) และนำค่าโปรตีนของปลาก่อนและหลังการทดลองที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ตามวิธีการของ Hardy และ Barrows (2002) ส่วนค่าฟอสฟอรัสที่ได้ในตัวปลานำไปคำนวณประสิทธิภาพการสะสมฟอสฟอรัสและฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER) คำนวณจากสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}} \times 100$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) คำนวณจากสมการ

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (%)

$$= \frac{(\%\text{โปรตีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \%\ \text{โปรตีนเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

คำนวณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้

ประสิทธิภาพการสะสมฟอสฟอรัส (phosphorus retention efficiency) คำนวณตามสมการ (Storebakken *et al.*, 1998)

ประสิทธิภาพการสะสมฟอสฟอรัส (%)

$$= 100 \times \left(\frac{\text{FICP} - \text{INCP}}{\text{Phosphorus intake}} \right)$$

โดยที่ FICP = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากหลังการทดลอง (กรัม)

INCP = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากก่อนการทดลอง (กรัม)

Phosphorus intake = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่ใช้ได้ทั้งหมด (กรัม)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง (Phosphorus load) คำนวณตามสมการ (Vielma *et al.*, 2002)

$$= \frac{\text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลาได้รับ (กรัม)} - \text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่คงเหลือในตัวปลา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)}}$$

2.5.5 การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสในกระดูก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 5 ตัว (จากหัวข้อ 2.5.4) แล่เอาเนื้อและกระดูกบริเวณกะโหลกออก เก็บเฉพาะกระดูกสันหลัง นำไปต้มในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนเพื่อให้เนื้อเปื่อยยุ่ย เลาะเอาเนื้อที่ติดอยู่บริเวณกระดูกสันหลังออกให้หมด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างนั้นไปวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและฟอสฟอรัสตามวิธีการของ AOAC (1990)

2.5.6 การศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 2 ตัว เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางประมาณ 3 มิลลิลิตร นำเลือดจากปลา 2 ตัวในแต่ละตู้มารวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง ใส่หลอดไมโครทิวบ์ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ให้ตกตะกอนและเกิดการจับตัวเป็นลิ่มเลือด (clot) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะเห็นการแยกชั้นเกิดขึ้น และนำส่วนของของเหลว (ซีรัม) ที่ได้ใส่หลอดไมโครทิวบ์อันใหม่ และนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธี molybdate UV ตามวิธีของ AOAC (1990) ส่วนปริมาณอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมส่งวิเคราะห์ที่หน่วยเคมีคลินิค ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.5.7 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อย

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยทำได้โดยการใช้โครมิกซ์ออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นสารบ่งชี้ (indicator) เติมลงในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ และรวบรวมมูลปลาโดยวิธีกาลักน้ำ (siphoning) โดยที่ปลายสายยางพลาสติกใช้ผ้าตาถี่เพื่อรองรับมูลปลา ในการเก็บมูลปลาจะเก็บตอนเย็นหลังจากที่ให้อาหารแล้ว 1 ชั่วโมง และดูดตะกอนอาหารออกจากตู้จนหมด โดยรวบรวมมูลปลาให้ได้ปริมาณ 25-30 กรัม เพื่อให้เพียงพอกับการวิเคราะห์และเก็บไว้ในช่องแช่แข็ง หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมตามวิธีการของ AOAC (1990) วิเคราะห์ปริมาณโครมิกซ์ออกไซด์ในอาหารและในมูลตามวิธีของ Furukawa และ Tsukahara (1966) คำนวณหาประสิทธิภาพการย่อยโดยสมการ

ประสิทธิภาพในการย่อย (% บนฐานของน้ำหนักแห้ง) (dry matter digestibility or total digestibility)

$$= 100 - 100 \frac{[\%\ \text{มาร์กเกอร์ในอาหาร}]}{[\%\ \text{มาร์กเกอร์ในมูล}\ ]}$$

ประสิทธิภาพในการย่อยฟอสฟอรัส (apparent digestibility coefficient of phosphorus)

$$= 100 - 100 \frac{[\%\text{มาร์กเกอร์ในอาหาร} \times \%\text{ฟอสฟอรัสในมูล}]}{[\%\text{มาร์กเกอร์ในมูล} \times \%\text{ฟอสฟอรัสในอาหาร}]}$$

2.5.8 ต้นทุนค่าอาหาร และต้นทุนค่าผลิตปลา

คำนวณต้นทุนค่าอาหาร[1]และต้นทุนค่าผลิตปลาตามวิธีการของ Chimsung และคณะ (2005) จากสมการต้นทุนค่าผลิตปลา (บาท/กิโลกรัมปลาที่ผลิตได้)

$$= \frac{\text{ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กิโลกรัม)} \times \text{ปริมาณอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กิโลกรัม)}}{\text{น้ำหนักรวมปลาที่ผลิตได้ (กิโลกรัม)}}$$

[1]ต้นทุนค่าอาหารคำนวณจากราคาวัตถุดิบแต่ละชนิดต่อกิโลกรัมอาหาร

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 พฤติกรรมและลักษณะภายนอก

จากการสังเกตพฤติกรรมและลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่าพบว่า ปลายอมรับอาหารทดลองทุกสูตร และตลอดระยะเวลาที่ทดลองไม่พบอาการผิดปกติภายนอกที่เกิดจากเชื้อก่อโรค

3.2 การเจริญเติบโต

ปลาไนที่ใช้ทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 4.90 กรัมต่อตัว เริ่มพบว่ามีความแตกต่างของน้ำหนักในแต่ละชุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 โดยมีแนวโน้มว่าปลาไนชุดการทดลองที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาไนกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP เมื่อเปรียบเทียบในระดับของการเสริมที่เท่ากัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด ($p<0.05$) เมื่อลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่งจาก 1.1% เป็น 0.55% พบว่าปลาในชุดการทดลองที่ใช้ MSP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตมีการเจริญเติบโตลดลง ส่วนในชุดการทดลองที่ได้รับ DCP การเจริญเติบโตไม่ต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกส่งผลให้การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น ดังจะเห็นได้จากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU+ citric acid0.22%) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) เช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (DCP 0.55% + phytase 750 FTU+ citric acid0.22%) มีแนวโน้มว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวจะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 (DCP 1.1%) (ตารางที่ 6) แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการใช้อนินทรีย์ลงได้ครึ่งหนึ่งเมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกในอาหารสำหรับปลาไน น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสอดคล้องไปในแนวทางเดียวกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) (ตารางที่ 7)

3.3 อัตรารอดตาย

อัตรารอดตายของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเมื่อสิ้นสุดการทดลองสัปดาห์ที่ 8 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยปลาในทุกชุดการทดลองมีอัตรารอดตายมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

3.4 ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการกินอาหาร

ในส่วนของค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารได้แก่ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU) พบว่าปลาไนในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์-ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารทั้งอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน รวมถึงการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิที่ดีกว่าปลาไนกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP รวมถึงชุดควบคุม ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาปลาไนในชุดการทดลองที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่ง

ของ MSP พบว่าเมื่อลดปริมาณของอนินทรีย์ฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่งอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อจะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิลดลงมีแนวโน้มลดลง ส่วนปลาไนในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP เมื่อลดปริมาณของอนินทรีย์ฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่งพบว่าให้ผลในทางบวกมากขึ้น ทั้งค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทำการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกส่งผลให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้นทั้งในชุดการทดลองที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP และ DCP ถึงแม้จะลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตจากทั้ง 2 แหล่งลงครึ่งหนึ่งก็ตาม (ตารางที่ 8)

จากข้อมูลอัตราการกินอาหารในทุกชุดการทดลองพบว่า ปลาไนกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP มีอัตราการกินอาหารสูงกว่าปลาในชุดควบคุมและปลาที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP ($p<0.05$) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 6. น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	สัปดาห์ที่				
		เริ่มต้น	2	4	6	8
T1	control	4.90±0.01a	6.03±0.07a	7.68±0.22abc	9.06±0.11a	10.18±0.16ab
T2	MSP1.1%	4.92±0.01a	6.26±0.10a	8.23±0.23d	10.58±0.25d	12.35±0.16d
T3	MSP0.55%	4.90±0.01a	6.13±0.31a	7.90±0.34abcd	9.72±0.43bc	10.90±0.39bc
T4	MSP0.55%+Phyt	4.91±0.01a	6.16±0.13a	8.01±0.14bcd	9.87±0.17c	11.14±0.12c
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	4.91±0.00a	6.22±0.12a	8.09±0.21cd	10.05±0.23cd	12.02±0.33d
T6	DCP1.1%	4.89±0.01a	5.95±0.25a	7.43±0.31a	9.01±0.45a	10.09±0.58a
T7	DCP0.55%	4.90±0.02a	6.12±0.31a	7.58±0.47abc	9.08±0.54a	10.17±0.80ab
T8	DCP0.55%+Phyt	4.91±0.01a	5.98±0.10a	7.53±0.30ab	9.03±0.36a	10.18±0.24ab
T9	DCP0.55%+Phyt+CA0.22%	4.91±0.00a	6.15±0.10a	7.77±0.14abcd	9.22±0.27ab	10.42±0.09ab

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

ตารางที่ 7. การเจริญเติบโตและอัตรารอดตายของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
T1	control	107.92±3.70ab	1.31±0.03ab	100±0.00a
T2	MSP1.1%	151.19±3.23d	1.64±0.02d	100±0.00a
T3	MSP0.55%	122.26±7.63bc	1.43±0.06bc	100±0.00a
T4	MSP0.55%+Phyt	126.82±2.07c	1.46±0.02c	97.78±3.85a
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	144.68±6.77d	1.60±0.05d	98.89±1.92a
T6	DCP1.1%	106.21±11.69a	1.29±0.10a	100±0.00a
T7	DCP0.55%	107.70±16.85ab	1.30±0.15ab	100±0.00a
T8	DCP0.55%+Phyt	107.22±4.35ab	1.30±0.04ab	97.78±1.92a
T9	DCP0.55%+Phyt+CA0.22%	112.35±1.65ab	1.34±0.01ab	98.89±1.92a

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

ตารางที่ 8. ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการกินอาหารของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์/ตัว/วัน)	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (เปอร์เซ็นต์)
T1	control	2.16±0.06cd	2.71±0.02cd	1.30±0.04ab	21.89±0.52bc
T2	MSP1.1%	1.70±0.00a	2.62±0.03a	1.68±0.00d	25.43±0.08d
T3	MSP0.55%	1.98±0.10bc	2.70±0.05bc	1.41±0.07bc	24.00±2.39d
T4	MSP0.55%+Phyt	1.95±0.06abc	2.67±0.05abc	1.47±0.04c	23.79±0.72cd
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	1.85±0.05ab	2.75±0.03ab	1.54±0.05c	25.90±0.64d
T6	DCP1.1%	2.34±0.26d	2.88±0.11d	1.18±0.13a	19.24±1.87a
T7	DCP0.55%	2.31±0.31d	2.85±0.10d	1.23±0.15a	19.56±2.12a
T8	DCP0.55%+Phyt	2.36±0.15d	2.90±0.08d	1.20±0.07a	20.60±1.17ab
T9	DCP0.55%+Phyt+CA0.22%	2.27±0.02d	2.89±0.02d	1.23±0.01a	20.11±0.21ab

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

3.5 องค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

น้ำหนักแห้ง (dry matter) ของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 9)

โปรตีนในตัวปลาหลังสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) และ สูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีโปรตีนในตัวสูงที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 (DCP 1.1%) มีโปรตีนในตัวต่ำที่สุด (p<0.05) ตรงข้ามกับไขมันในตัวซึ่งพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 และสูตรที่ 5 มีไขมันในตัวต่ำที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 มีไขมันในตัวหลังสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด (p<0.05) (ตารางที่ 9)

เถ้าในตัวปลาหลังสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) มีเถ้าในตัวสูงที่สุด ส่วนในชุดการทดลองอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) ส่วนค่าฟอสฟอรัสในตัวหลังสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) มีฟอสฟอรัสในตัวต่ำที่สุด (p<0.05) และมีแนวโน้มที่ปลาในกลุ่มที่ได้รับ MSP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตมีฟอสฟอรัสในตัวสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับ DCP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟต (ตารางที่ 9)

2.4 องค์ประกอบของเลือดและกระดูก ฟอสฟอรัสในมูล และดัชนีตับต่อน้ำหนักตัว (HSI)

องค์ประกอบเลือดของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาสถิติระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) ทั้งค่าฟอสฟอรัสในซีรัมและกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ตารางที่ 10)

ฟอสฟอรัสในกระดูกพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) และ สูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีฟอสฟอรัสในกระดูกสูงที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีฟอสฟอรัสในกระดูกต่ำที่สุด ค่าฟอสฟอรัสในกระดูกเป็นไปในแนวทางเดียวกับเถ้าในกระดูก โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีปริมาณเถ้าในกระดูก (ตารางที่ 10)

ฟอสฟอรัสในมูลปลาพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีฟอสฟอรัสในมูลต่ำที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 มีฟอสฟอรัสในมูลสูงที่สุด (p<0.05) (ตารางที่ 10)

ดัชนีตับต่อน้ำหนักตัวพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) และสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) มีค่าดัชนีตับต่อตัวต่ำที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (DCP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีค่าดัชนีตับต่อตัวสูงที่สุด (p<0.05) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9. องค์ประกอบทางเคมีของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	วัตถุแห้ง	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส
ปลาเริ่มต้น		21.48±1.29	53.83±1.97	22.16±3.60	10.31±0.22	1.29±0.09
T1	control	25.51±1.22a	53.95±1.17abc	25.97±2.40bc	6.56±0.29a	1.05±0.03a
T2	MSP1.1%	22.37±1.04a	57.96±3.37d	22.12±1.29a	7.67±0.51b	1.48±0.08b
T3	MSP0.55%	25.07±1.28a	56.34±0.33cd	25.09±0.13cd	6.60±0.06a	1.36±0.05b
T4	MSP0.55%+Phyt	24.12±1.55a	55.14±2.13bcd	23.34±2.25ab	6.24±0.40a	1.39±0.40b
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	23.83±1.05a	58.04±0.90d	20.27±1.65a	6.70±0.05a	1.42±0.07b
T6	DCP1.1%	26.42±2.02a	51.1±0.65a	33.02±0.37e	6.34±0.38a	1.26±0.04ab
T7	DCP0.55%	25.90±1.60a	51.83±0.38ab	31.48±1.64de	6.33±0.89a	1.20±0.03ab
T8	DCP0.55%+Phyt	27.66±1.91a	52.58±0.84ab	31.66±1.87e	6.39±0.04a	1.29±0.17ab
T9	DCP0.55%+Phyt+ CA0.22%	25.39±0.02a	53.01±0.10abc	29.72±1.99cd	6.53±0.10a	1.36±0.05b

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำต่อชุดการทดลอง (ปลาจำนวน 3 ตัวต่อ 1 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

ตารางที่ 10. ฟอสฟอรัสและกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม ฟอสฟอรัสและเถ้าในกระดูก ฟอสฟอรัสในมูลปลา และค่าดัชนีตับของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	ซีรัมฟอสฟอรัส (มก./ลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ยูนิต/ลิตร)	ฟอสฟอรัสในกระดูก (เปอร์เซ็นต์)	เถ้าในกระดูก (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสในมูล (เปอร์เซ็นต์)	ค่าดัชนีตับ (เปอร์เซ็นต์)
T1	control	15.65±0.35a	24.00±8.48a	6.20±0.15a	39.17±0.06a	1.83±0.17bcd	0.89±0.30a
T2	MSP1.1%	22.90±3.54a	37.00±26.69a	6.58±0.41a	44.22±0.66cd	1.94±0.13cd	0.96±0.19a
T3	MSP0.55%	17.95±2.47a	25.50±16.26a	6.39±0.03a	42.99±0.96b	1.72±0.03abc	1.16±0.27ab
T4	MSP0.55%+Phyt	18.55±6.43a	12.50±2.12a	6.48±0.69a	43.89±0.48bcd	1.61±0.09ab	1.75±0.57bc
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	17.60±3.25a	12.00±2.83a	7.20±0.25b	44.94±0.37d	1.52±0.22a	1.32±0.62abc
T6	DCP1.1%	17.10±3.11a	28.50±12.02a	6.22±0.06a	42.83±0.35b	2.02±0.06d	1.86±0.67bc
T7	DCP0.55%	19.15±4.31a	13.50±4.95a	6.33±0.04a	42.99±0.27b	1.95±0.27cd	1.40±0.15abc
T8	DCP0.55%+Phyt	14.35±0.21a	19.50±6.36a	6.34±0.05a	43.37±0.22bc	1.78±0.05abcd	1.67±0.44bc
T9	DCP0.55%+Phyt+ CA0.22%	16.75±0.78a	20.00±11.31a	6.38±0.04a	43.71±0.37bc	1.70±0.04abc	1.93±0.31c

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำต่อชุดการทดลอง

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

2.5 สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งและฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลา และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง

สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารในทุกชุดการทดลองมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งอยู่ในช่วง 60.01-64.00 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสพบว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสต่ำที่สุด (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) และสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสสูงใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11)

ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลามีแนวโน้มเหมือนกับค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาต่ำที่สุด (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MSP 1.1%) มีค่าฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาสูงที่สุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (MSP 0.55%) และสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) มีค่าฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาสูงใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ตรงข้ามกับฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งซึ่งพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 (MSP 1.1%) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งต่ำที่สุด (p<0.05) (ตารางที่ 11)

2.6 ต้นทุนค่าอาหารและต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา

เมื่อพิจารณาในส่วนของต้นทุนค่าอาหารพบว่า สูตรที่ใช้ MSP 1.1% และ DCP 1.1% มีต้นทุนค่าอาหารสูงที่สุดในแต่กลุ่ม เมื่อลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่งจะทำให้ต้นทุนค่าอาหารลดลง และจะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในอาหารสูตรที่ใส่เอนไซม์ไฟเตสและเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริก แต่ต้นทุนก็ยังคงต่ำกว่าสูตรที่ใช้ MSP 1.1% และ DCP 1.1% โดยต้นทุนค่าอาหารเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 2 ที่ใช้ MSP 1.1% จะลดลง 430, 355 และ 213 บาทต่อตันในสูตรที่ 3 (MSP 0.55%) สูตรที่ 4 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU) และ สูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ใช้ DCP เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 6 ที่ใช้ DCP 1.1% ต้นทุนค่าอาหารจะลดลง 255, 180 และ 38 บาทต่อตันในสูตรที่ 7 (DCP 0.55%), สูตรที่ 8 (DCP 0.55% + phytase 750 FTU) และสูตรที่ 9 (DCP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาจากต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาพบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP มีต้นทุนต่อผลผลิตสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ใช้ MSP ทุกชุดการทดลองรวมทั้งชุดควบคุม ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP มีต้นทุนต่อผลผลิตต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม MSP 1.1% และมีค่าใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (MSP 0.55% + phytase 750 FTU + citric acid 0.22%) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11. สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งและฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลา และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	สัมประสิทธิ์การย่อย		ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลา (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง (ก.ฟอสฟอรัส/กก. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น)
		วัตถุแห้ง	ฟอสฟอรัส		
T1	control	64.00±2.79a	23.77±2.03a	17.13±1.07a	16.32±0.77e
T2	MSP1.1%	60.01±2.34a	38.98±1.97d	23.42±0.49e	16.62±0.07e
T3	MSP0.55%	61.45±2.73a	32.43±1.05c	21.47±0.47cd	14.33±0.42bc
T4	MSP0.55%+Phyt	61.29±1.59a	33.79±1.94c	22.10±0.49d	13.54±0.59b
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	61.47±5.31a	37.93±5.31d	21.55±0.21d	11.77±1.35a
T6	DCP1.1%	62.39±3.21a	27.85±1.42ab	19.43±0.67b	15.73±0.32de
T7	DCP0.55%	61.95±2.27a	27.55±1.08ab	17.98±0.42a	15.12±0.41cd
T8	DCP0.55%+Phyt	61.44±1.98a	30.33±1.13bc	19.58±0.36b	14.13±0.16bc
T9	DCP0.55%+Phyt+ CA0.22%	62.45±3.39a	32.45±0.98c	20.55±0.17c	13.45±0.13b

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

ตารางที่ 12. ต้นทุนค่าอาหารและต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กิโลกรัม)	ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/ตัน)	ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา (บาท/กก.น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น)
T1	control	29.69	29,686	64.20±0.40d
T2	MSP1.1%	30.55	30,546	52.07±1.12a
T3	MSP0.55%	30.12	30,116	59.65±0.91c
T4	MSP0.55%+Phyt	30.19	30,191	58.97±2.03c
T5	MSP0.55%+Phyt+CA0.22%	30.33	30,333	55.94±1.00ab
T6	DCP1.1%	30.20	30,196	69.86±0.52d
T7	DCP0.55%	29.94	29,941	68.19±2.80d
T8	DCP0.55%+Phyt	30.02	30,016	70.49±1.88d
T9	DCP0.55%+Phyt+ CA0.22%	30.16	30,158	68.25±1.65d

[1]ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Phyt = เอนไซม์ไฟเตส 750 FTU /อาหาร 1 กิโลกรัม CA = กรดซิตริก

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

ความสามารถในการย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสจากอาหารมาใช้ประโยชน์ของปลามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยได้แก่ ปริมาณและแหล่งของฟอสฟอรัสในอาหาร โครงสร้างทางเคมี ปฏิสัมพันธ์ระหว่างฟอสฟอรัสกับสารอาหารชนิดอื่น สารต้านโภชนาการที่มีอยู่ในอาหาร สรีระวิทยาและพยาธิสภาพของปลาในแต่ละช่วงอายุ (Lall, 2002) ฟอสฟอรัสที่พบในวัตถุดิบอาหารส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ปลานำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย เช่น ฟอสฟอรัสในปลาป่นจะอยู่ในรูป hydroxyapatite หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) โดยเป็นองค์ประกอบอยู่ในกระดูกและเกล็ดปลา (Jobling, 1994) ส่วนในวัตถุดิบจากพืชจะอยู่ในรูป *myo*-inositol hexaphosphate หรือไฟเตทฟอสฟอรัส ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม และกรดอะมิโน (Dey and Harborne, 1990; Uhlig, 1998) ปลาสามารถนำฟอสฟอรัสในส่วนนี้มาใช้ได้เพียง 1 ใน 3 เท่านั้น ดังนั้นในการสร้างสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำจึงนิยมเสริมฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตเพื่อให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เพียงพอกับความต้องการของสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตลงในอาหารปลามีผลเสียโดยตรงคือ ส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งเพิ่มมากขึ้น (Kim *et al.*, 1998) ซึ่งมีทั้งที่อยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่ปลาไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ (unvailable phosphorus) และฟอสฟอรัสที่ผ่านการย่อยและใช้ประโยชน์แล้วในมูลปลา (phosphorus in feces) ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งจะส่งผลกระทบโดยตรงต่อสภาพแวดล้อม โดยมีผลต่อคุณภาพน้ำและปริมาณสารอาหารในน้ำ หากมีปริมาณฟอสฟอรัสในระดับที่สูงเกินไป ก็จะส่งผลให้เกิดการแพร่ขยายของแพลงก์ตอนและพืชน้ำอย่างรวดเร็ว หรือที่เรียกว่าปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) ซึ่งมีผลทำให้สภาพแวดล้อมของแหล่งน้ำนั้นเสื่อมโทรมลง (Cao *et al.*, 2007b) ดังนั้นการเลือกใช้รูปแบบที่เหมาะสมและมีปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการของปลาจึงเป็นสิ่งที่สำคัญในการสร้างสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับปลาแต่ละชนิด โดยคำนึงถึงการที่สัตว์น้ำสามารถนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุดเพื่อลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งให้น้อยที่สุด (Akiyama, 1992; Boyd and Musig, 1992; Cho and Bureau, 2001) รูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่นิยมเสริมในอาหารปลามี 3 รูปแบบได้แก่ โมโน-เบสิค (monobasic) ไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) (เวียง, 2542; Eya and Lovell, 1997)

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า ปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP หรือฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปโมโนเบสิคมีการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) รวมทั้งประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และ

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ) ที่ดีกว่าปลาไนกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP หรือฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไดเบสิคเมื่อเปรียบเทียบในระดับของการเสริมที่เท่ากัน ทั้งที่ระดับ 1.1% และ 0.55% แสดงให้เห็นว่าปลาไนสามารถใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่ในรูปโมโนเบสิคได้ดีกว่ารูปไดเบสิค สอดคล้องกับรายงานการทดลองในปลาไนของ Hepher และ Sandbank (1984) และ นิวดี (2552) ที่รายงานตรงกับผลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ว่าปลาไนสามารถใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่ในรูปโมโนเบสิคได้ดีกว่ารูปไดเบสิค Nordrum และคณะ (1997) พบว่าอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตเป็นรูปแบบที่มีการสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลา (phosphorus retention) ได้มากกว่ารูปแบบอื่นๆ ถึง 131 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาจากการเจริญเติบโต การนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ที่แสดงออกให้เห็นจากการสะสมของฟอสฟอรัสในส่วนต่างๆของตัวปลา รูปแบบและชนิดของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ต่างชนิดจะให้ค่าฟอสฟอรัสที่ปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus) แตกต่างกัน (Vielma and Lall, 1998; Sugiura *et al.*, 1999) เมื่อพิจารณาถึงปริมาณของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ผสมในอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตพบว่าเมื่อลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่งจาก 1.1 เปอร์เซ็นต์เหลือ 0.55 เปอร์เซ็นต์ ปลาในกลุ่มที่ใช้ MSP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตมีการเจริญเติบโตลดลง ส่วนปลาในกลุ่มที่ใช้ DCP มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน ในส่วนของปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับตัวปลาเช่น ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ฟอสฟอรัสและเถ้าในกระดูกพบมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับการเจริญเติบโตแสดงให้เห็นว่า การลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารลงจะส่งผลกระทบทางลบต่อตัวปลา แต่จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าเมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตส และเอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริกในอาหารที่ลดปริมาณอนินทรีย์ฟอสเฟตพบว่า การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และค่าที่แสดงถึงการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นกว่าปลาชุดที่ไม่ได้รับเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริกในอาหาร และมีค่าใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟต 1.1 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Tudkeaw และคณะ (2008) พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสสามารถลดปริมาณการใช้ DCP ลงได้ถึง 1 เปอร์เซ็นต์ (จาก 1.5 เหลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์) โดยไม่ส่งผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และองค์ประกอบปัจจัยอื่นๆ ของตัวปลา ตรงกันข้ามกลับช่วยเพิ่มการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ดังจะเห็นได้จากการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาที่เพิ่มขึ้นและสามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งจาก 6.34 ในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสเป็น 3.73 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเอนไซม์ นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Wutiporn และคณะ (2010) ที่รายงานว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารสำหรับปลาไนโดยใช้ MSP ที่ระดับ 1.4 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารพบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งลงจาก 34.96 เป็น 27.63 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และเมื่อพิจารณาในกลุ่มของปลาไนที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริม DCP 0.55 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ

เอนไซม์ไฟเตส มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและสูตรที่ไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส แต่มีแนวโน้มว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งได้เช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริม MSP ผลที่ได้ทำให้ทราบว่าลักษณะทางสรีระในระบบทางเดินอาหารของปลาเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการนำแร่ธาตุไปใช้ประโยชน์กล่าวคือ ปลาที่มีกระเพาะอาหารได้แก่ ปลาดุก ปลากะพงขาว ปลาแซลมอน และปลาเรนโบว์เทร้าท์ มีความสามารถในการย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสได้ดีกว่าปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารเช่น ปลาไนเนื่องจากภายในกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดจึงทำให้ฟอสฟอรัสแตกตัวอยู่ในรูปอิสระ (อิออน) ได้ดีขึ้นโดยเฉพาะฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไดเบสิคและไตรเบสิค จากการศึกษาของ Watanabe และคณะ (1988) พบว่า ปลาเรนโบว์เทร้าท์สามารถย่อยและดูดซึมโมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟตและไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 97, 71 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาไนย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสทั้ง 3 รูปแบบมาใช้ประโยชน์ได้ 94, 46 และ 13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเท่านั้น สาเหตุที่ปลาไนสามารถใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่ในรูปโมโนเบสิคได้ดีกว่ารูปไดเบสิค เนื่องจากฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปโมโนเบสิคละลายน้ำได้ง่ายและแตกตัวได้ดี ต่างจากฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไดเบสิคที่จะแตกตัวได้ดีในสภาพที่เป็นกรดอ่อน ในขณะที่ลักษณะระบบทางเดินอาหารของปลาไนที่มีลำไส้สั้นและไม่มีกระเพาะอาหารที่แท้จริงทำให้ค่า pH ในระบบทางเดินอาหารเป็นกลาง จึงไม่มีกรดที่ทำหน้าที่ย่อยในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเอนไซม์ไฟเตสจะทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรด (ช่วง pH 4-6) จึงเป็นข้อจำกัดที่สำคัญในการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ (Hua and Bureau, 2010) Phromkunthong และ Udom (2008) รายงานว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus) มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา หากได้รับอาหารที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่ำกว่าระดับที่ต้องการ ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตต่ำด้วย ดังนั้นเมื่อเสริมกรดลงในอาหารจึงทำให้ค่า pH ในระบบทางเดินอาหารของปลาไนลดลง (Luckstadt, 2006) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไฟเตสให้สูงขึ้น จึงสามารถดึงเอาฟอสฟอรัสในรูปไฟเตทซึ่งเป็นรูปที่ปลาไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในวัตถุดิบจากพืชมาใช้ได้มากขึ้น ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารลงได้

การเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตทั้ง MSP และ DCP ร่วมกับเอนไซม์ไฟเตส และกรดซิตริกในอาหารส่งผลให้ฟอสฟอรัสในตัวปลาและในกระดูกมีค่าสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาของ Eya และ Lovell (1997) ซึ่งรายงานว่า การเสริมฟอสฟอรัสในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหารปลากดอเมริกันช่วยให้ปลามีฟอสฟอรัสสะสมในกระดูกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ Robinson และคณะ (1987) พบว่าการเสริมฟอสฟอรัสในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตในปลานิลสีฟ้าทำให้ระดับฟอสฟอรัสในกระดูกเพิ่มขึ้นจากระดับฟอสฟอรัส 0.2 จนถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์ทั้งนี้เนื่องจากฟอสฟอรัสทำหน้าที่สำคัญในการเป็นโครงสร้างของกระดูก ความเข้มข้นหรือปริมาณของฟอสฟอรัสในกระดูกจะสัมพันธ์โดยตรงกับระดับฟอสฟอรัสในอาหารที่ปลากิน

เข้าไป (Ogino and Takeda, 1978; Sakamoto and Yone, 1978; Chavez-Sanchez *et al.*, 2000) ดังนั้นจึงนิยมใช้ค่าฟอสฟอรัสในกระดูกเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความไว (sensitive criterium) ของการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในปลาน้ำจืด (Jahan *et al.*, 2001) และปลาทะเล (Borlongan and Satoh, 2001) การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong และ Udom (2008) ซึ่งได้ใช้ค่าฟอสฟอรัสในกระดูกเป็นตัวชี้วัดระดับถึงความต้องการฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศเมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีในตัวปลาพบว่า โปรตีนในตัวปลามีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริก และในชุดการทดลองที่ใช้ DCP เป็นแหล่งของอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร โปรตีนในตัวปลามีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริกเช่นเดียวกัน การเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนให้สูงขึ้น สอดคล้องกับรายงานในปลาชนิดอื่นเช่น ปลาเรนโบว์เทร้าท์ (Cheng and Hardy, 2003; Vielma *et al.*, 2004) ปลา *Pangasius pangasius* (Debnath *et al.*, 2005b)

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า ฟอสฟอรัสในซีรัมและกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างปลากลุ่มที่เสริมและไม่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต รวมทั้งเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริก จากการทดลองของ Phromkunthong และ Udom (2008) พบว่าระดับของฟอสฟอรัสในซีรัมและกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส จะเพิ่มขึ้นตามระดับของฟอสฟอรัสที่เสริมในอาหาร แต่อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าฟอสฟอรัสในซีรัมของปลาไนที่ได้รับอาหารเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตมีสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริม Roy และ Lall (2003) เสนอแนะว่า ความเข้มข้นของพลาสมาและพลาสมาฟอสเฟตมีผลมาจากหลายปัจจัย ซึ่งรวมถึงปัจจัยด้านอาหารและสรีรวิทยาของปลาเอง Rodehutscord (1996) พบว่า ความเข้มข้นของพลาสมาฟอสเฟตมีความสัมพันธ์กับความแตกต่างของระยะเวลาหลังจากที่ปลาได้รับอาหาร และจากวิธีการในการเก็บตัวอย่างเลือด นอกจากนี้ยังมีรายงานจากการทดลองที่ผ่านมาที่กล่าวถึงความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดที่มีผลมาจากอาหาร สรีรวิทยาของปลา และสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยด้วย (Cross *et al.*, 1990) เช่นเดียวกับค่ากิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง สอดคล้องกับรายงานของ Shearer และ Hardy (1987) ซึ่งไม่พบความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ระดับต่างๆ กัน ซึ่งต่างจากรายงานของ Skonberg และคณะ(1997) พบว่าระดับของกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้น เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น ในขณะที่การศึกษาของ Sakamoto และ Yone (1980) พบว่าปลาเรดซีบรีม (red seabream) ที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ไม่เพียงพอมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงกว่าปลาที่รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ จากรายงานผลการศึกษาที่ได้กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสยังมีความแปรปรวน ทั้งเนื่องมากจากปัจจัยต่างๆ คือ การจัดการคุณภาพน้ำ ปริมาณอาหารที่ปลากิน อุณหภูมิ และช่วงชีวิต (Sauer and Haider, 1977; Cross *et al.*, 1990; Johnson *et al.*, 2000)

เมื่อพิจารณาในส่วนของต้นทุนค่าอาหารพบว่า การเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตทั้ง MSP และ DCP ลงในอาหารร่วมกับเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริกสามารถลดปริมาณการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตลงได้โดยไม่ส่งผลกระทบในทางลบต่อตัวปลา เป็นการลดต้นทุนค่าอาหารให้ถูกลงได้ และเมื่อพิจารณาจากต้นทุนค่าอาหารต่อ

ผลผลิตปลาพบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ DCP มีต้นทุนต่อผลผลิตสูงที่สุด ซึ่งอาจเป็นเพราะปลาได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการ โดยสามารถย่อย DCP ไปใช้ประโยชน์ได้เพียง 46 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณฟอสฟอรัสที่ได้รับ (Watanabe *et al.*, 1988) ส่วนปลาในกลุ่มที่ได้รับอนินทรีย์ฟอสเฟตจากแหล่งของ MSP มีต้นทุนต่อผลผลิตต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม MSP 1.1 เปอร์เซ็นต์และมีค่าใกล้เคียงกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม MSP 0.55 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับเอนไซม์ไฟเตสและกรดซิตริก อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้พบว่าต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาที่เพิ่มขึ้นจะอยู่ในช่วง 52 ถึง 70 บาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นซึ่งถือว่าต้นทุนการผลิตมีราคาสูงกว่าราคาขายเกือบเท่าตัว จากข้อมูลสถิติราคาสัตว์น้ำของสะพานปลา กรุงเทพมหานครพบว่า ราคาขายปลาไนเฉลี่ยอยู่ที่ 45 บาทต่อกิโลกรัม (องค์การสะพานปลา, 2554) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองที่ทำในตู้กระจกทำให้ปลาเจริญเติบโตช้ากว่าปลาที่เลี้ยงในบ่อดินซึ่งเป็นสภาพการเลี้ยงจริง จึงส่งผลให้ต้นทุนผลผลิตปลาสูงขึ้น อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้ก็สามารถสังเกตเห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้นเมื่อใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับกรดซิตริก โดยสามารถลดปริมาณการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตลงได้ถึงครึ่งหนึ่ง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า ปลาไนสามารถใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปโมโนเบสิคได้ดีกว่ารูปไดเบสิค โดยให้ผลดีกว่าทั้งในด้านการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อยและการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ ในปัจจุบันมีแนวโน้มที่ผู้ผลิตอาหารปลาจะลดต้นทุนให้ต่ำลงโดยเน้นการใช้วัตถุดิบจากพืชเพิ่มมากขึ้น การเสริมเอนไซม์ไฟเตสช่วยดึงเอาฟอสฟอรัสในรูปไฟเตทในวัตถุดิบจากพืชซึ่งเป็นรูปที่ปลาไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มาใช้ได้มากขึ้น และทำให้สามารถลดปริมาณการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารลงได้โดยไม่ส่งผลในเชิงลบต่อปลา ส่งผลให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสให้สูงขึ้น จากผลการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้สามารถนำไปใช้พัฒนาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาไนเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นและช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

นิวดี สาหีม. 2552. ความต้องการฟอสฟอรัสและการใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตในปลาไน (*Cyprinus capio*). สงขลา: วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. การเพาะพันธุ์ปลา. ชลบุรี: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. 2524. ชีวประวัติของปลาไน. กรุงเทพฯ: เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2524. กองประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สันต์ นาตะสุวรรณ. 2548. คู่มือปลาน้ำจืด. กรุงเทพฯ: เพ็ท- แพล้น พับลิชชิ่ง.

องค์การสะพานปลา. 2554. สถิติราคาสัตว์น้ำสะพานปลากรุงเทพฯ. เข้าถึงได้จาก http://61.19.248.96/~document/fmo_stats/index.htm เข้าถึงเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2554.

Adeola, O. and Sands, J.S. 2003. Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. J. Anim. Sci. 81, 78–85.

Akiyama, D.M. 1992. Future considerations for the aquaculture feed industry. *In*: Proceedings of the Aquaculture Feeds Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia, 19-25 September 1991. Akiyama, D.M. and Tan, R.K.H. (eds.). Singapore: American Soybean Association.

Andrews, J.W., Muri, T. and Campbell, C. 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish. *Ictalurus punctatus*. J. Nutr. 103, 766-771.

AOAC (The Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis, 15th Edition. Washington D.C.: The Association of Official Analytical Chemists.

Berg, L.S. 1974. Classification of Fishes both Recent and Fossil. Michigan: J.W. Edward Co.

Boling-Frankenbach, S.D., Snow, J.L., Parsons, C.M. and Baker, D.H. 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. Poult. Sci. 80, 783-788.

Borlongan, I.G. and Satoh, S. 2001. Dietary phosphorus requirement of juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). Aquac. Res. 32, 26–32.

Boyd, C.E and Musig, Y. 1992. Shrimp pond effluents: observations of the nature of the problem on commercial farms. *In*: Proceedings of the Special Session on Shrimp farming, World Aquaculture Society. Wyban, J. (ed). Baton Rouge: USA.

Brett, J.R. and Groves, T.D.D. 1979. Physiological energetics. *In*: Fish Physiology. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R. (eds.). Vol. 7. New York: Academic Press.

Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang,Y., Diana, J., Yakupitiyage, A., Luo, Z. and Li, D. 2007a. Review Application of microbial phytase in fish feed. Enzym. Microb. Tech. 40, 497–507.

Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang,Y., Yuan, Z., Xiong, S. and Diana, J. 2007b. Environmental Impact of Aquaculture and Countermeasures to Aquaculture Pollution in China. Env. Sci. Pollut. Res. 14, 452–462.

Chavez-Sanchez, C., Martinez-Palacios, C.A., Martinez-Oerez, G. and Ross, L.G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in diet of the American cichlid, *Cichlasoma urophalmus* (Gunther). Aquac. Nutr. 6, 1-9.

Cheng, Z.J. and Hardy, R.W. 2003. Effects of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 218, 501–514.

Chimsung, N., Boonmanee, A., Songsrioon, W., Thaitabak, S. and Chotipuntu, P. 2005. Use of fish processing waste as protein source in diet for Nile tilapia (*Orechromis niloticus*). Songklanakarin J. Sci. Technol. 27(Suppl. 1), 141-149.

Cho, C.Y. and Bureau, D.P. 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. Aquac. Res. 32, 349–360.

Chung, T.K. 2002. How to get the best out of phytase. Feed Mix. 10, 27-29.

Clark, J.S. 1989. The mineral requirement of finfish: A review. *In*: Proceeding of the People Republic of China Aquaculture and Feed Workshop September 17-30.Akiyama, D.M. (ed.). Singapore: American Soybean Association.

Cole, S. 2002. Comparative feed enzymology the single currency of enzyme activity. Feed mix. 10, 32-34.

Cowey, C.B. and Sargent, J.R. 1979. Nutrition. *In*: Fish Physiology, Bioenergetics and Growth. Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R. (eds.). Vol.VII. New York: Academic Press.

Cross, H.S., Deviec, H. and Peterlic, M. 1990. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. Miner. Electrolyte Metab. 16, 115-124.

Davis, D.A. and Gatlin III, D.M. 1991. Dietary mineral requirements of fish and shrimp. *In*: Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Akiyama, D.M. and Tan, R.K.H. (eds.). American Soybean Association, Singapore.

Debnath, D., Pal, A.K., Sahu, N.P., Jain, K.K, Yengkokpam, S. and Mukher, S.C. 2005a. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. Aquac. Res. 36, 180-187.

Debnath, D., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain, K.K., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C. 2005b. Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. Aquac. Res. 36, 326-335.

Dey, P. M. and Harborne, J. B. 1990. Methods in Plant Biochemistry. Vol 2. Carbohydrates. London: Academic Press.

Eya, J.C. and Lovell, R.T. 1997. Net absorption of dietary phosphorus from various inorganic sources and effect of fungal phytase on net absorption of plant phosphorus by channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. World Aquac. Soc. 28, 386-391.

FAO. 2011. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service [online]. Available from: http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/usr/local/tomcat/FI/5.5.23/figis/webapps/figis/temp/hqp_15689.xml&outtype=html [Accessed 18-02-2011].

Forster, I. 1999. A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. Aquac. Nutr. 5, 143-145.

Furuya, W.M., Gonçalves, G.S., Furuya, V.R.B. and Hayashi, C. 2001. Phytase as feeding for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Performance and digestibility. Rev. Bras. Zoot. 30, 924-929.

Geurden, I., Marion, D., Charlon, N., Coutteau, P. and Bergot, P. 1998. Comparison of different soybean phospholipidic fractions as dietary supplements for common carp, *Cyprinus carpio*, larvae. Aquaculture 161, 225–235.

Gifford, S.R. and Clydesdale, F.M. 1990. Interactions among calcium, zinc and phytase with protein sources. J. Food Sci. 55, 1720-1724.

Hardy, R.W. and Barrows, F.T. 2002. Diet formulation and manufacture. *In*: Fish Nutrition 3rd edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds.), London: Academic Press.

Hastings, W.H. 1969. Channel catfish growth responses to test feed. Proceedings a Commercial Fish Farming Conference, Georgia Coop. Ext. Ser. and Inst. of Commun. Area Dev, pp. 22-35.

Hepher, B. and Sandbank, S. 1984. The effect of phosphorus supplementation to common carp diets on fish growth. Aquaculture 36, 323-332.

Hua, K. and Bureau, D.P. 2010. Quantification of differences in digestibility of phosphorus among cyprinids, cichlids, and salmonids through a mathematical modelling approach. Aquaculture 308, 152-158.

Irianto, A. and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. J. Fish Dis. 25, 633-642.

Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S. and Kiron, V. 2001. Formulation of low phosphorus loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquac. Res. 32, 361–368.

Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics. New York: Chapman and Hall.

Johnson, J.A., Robert, C. and Summerfelt, C. 2000. Spray-dried blood cells as a partial replacement for fishmeal in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. World Aquac. Soc. 31, 96-104.

Jongbloed, A.W. 1987. Phosphorus in the feeding of pigs. Effects of diet on absorption and retention of phosphorus by growing pigs. Ph.D. thesis, Report IVVODLO. Nr. 179, Lelystad, The Netherlands.

Jongbloed, A.W., Kemme, P.A. and Mroz, Z. 1993. The role of microbial phytase in pig production. *In*: Enzymes in Animal Nutrition, Proceedings of the 1st Symposium. Akiyama, D.M. and Tan, R.K.H. (eds.). Kartause Ittingen: Switzerland. p. 173-180

Kaushik, S.J. 1995. Nutrient requirements supply and utilization in the context of culture. Aquaculture 129, 225-241.

Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, *Cyprinus carpid.* Aquaculture 161, 337-344.

Konietzny, U. and Greiner, R. 2002. Molecular and catalytic properties of phytase-degrading enzyme (phytases). Int. J. Food Sci. Technol. 37, 791-812.

Lall, S.P. 2002. The minerals. *In*: Fish Nutrition, 3rd Edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds.). San Diego: Academic Press.

Li, S. and Mathias, J. 1994. Freshwater fish culture in China: Principles and Practice. Developments in aquaculture and fisheries science. Amsterdam: Elsevier Science B.V.

Liebert, F. and Portz, L. 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. Aquaculture 248, 111–119.

Lovell, R.T. 1989. Nutrition and feeding of fish. New York: Van Nostrand Reinhold.

Luckstadt, C. 2006. Acidifiers in aqua feed : a solution for antibiotic free-feeding of fish and shrimp. Aqua feed : formulation&Beyond 3, 4-6.

Mroz, Z., Moeser, A.J., Vreman, K., van Diepen, J.T.M., van Kempen, T., Canh, T.T. and Jongbloed, A.W. 2000. Effects of dietary carbohydrates and buffering capacity on nutrient digestibility and manure characteristics in finishing pigs. J. Anim. Sci. 78, 3096–3106.

Nakamura, Y. 1985. Sodium-dependent absorption of inorganic phosphate by the carp intestine. Comp. Biochem. Physiol. 80A, 437-439.

Naylor, R.L., Goalburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke,C., Lubchenco, J., Mooney, H. and Troell, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405, 1017-1024.

Nordrum, S., Asgard, T., Shearer, K.D. and Arnessen, P. 1997. Availability of phosphorus in fish bone meal and inorganic salts to Atlantic salmon (*Salmo salar*) as determined by retention. Aquaculture 157, 51-61.

NRC (National Research Council). 1983. Nutrient Requirements of Coldwater Fishes. Washington, D.C.: National Academy of Sciences.

NRC (National Research Council). 1993. Nutrient Requirements of Fish. Washington, D.C.: National Academy Press.

Nys, Y., Frapin, D. and Pointillart, A., 1996. Occurrence of phytase in plants, animals and microorganisms. *In*: Phytase in Animal Nutrition and Waste Management: A BASF Reference Manual 1996. New Jersey: BASF Corporation.

Ogino, C. and Saito, K. 1970. Protein nutrition in fish. I. The utilization of dietary protein by young carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 36, 250-254.

Ogino, C., and Takeda, H. 1978. Requirement of rainbow trout for dietary calcium and phosphorus in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45, 1,527-1,532.

Ogino, C., Takeuchi, L., Takeda, H. and Watanabe, T. 1979. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45, 1,538-1,553.

Papatryphon, E., Howell, R.A. and Soares, J.H. 1999. Growth and mineral absorption by striped bass *Morone saxatilis* fed a plant feedstuff based diet supplemented with phytase. J. World Aquac. Soc. 30, 161–173.

Peteri, A. 2006. Inland Water Resources and Aquaculture Service (FIRI). Cultured Aquatic Species Information Programme - *Cyprinus carpio*. Cultured Aquatic Species Fact Sheets. FAO - Rome. http://www.fao.org/fi /fi gis/

Phromkunthong, W. and Gabaudan, J. 2006. Use of microbial phytase to replace inorganic phosphorus. Songlanakarin J. Sci. Tech. 28, 731-743.

Phromkunthong, W., Nuntapong, N. and Gabaudan, J. 2010. Interaction of phytase RONOZYME®P(L) and citric acid on the utilization of phosphorus by common carp (*Cyprinus carpio*). Songklanakarin J. Sci. Technol. 32, 547-554.

Phromkunthong, W., Tudkaew, J. and Gabaudan, J. 2010. Study on the effects of phytase RONOZYME® NP (CT) and citric acid on the growth and the utilization of phosphorus by common carp (*Cyprinus carpio*). The 22nd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology "International Conference on Biotechnology for Healthy Living" Prince of Songkla University, Trang Campus, Thailand, October 20-22, 1370-1378.

Phromkunthong, W. and Udom, U. 2006. Phosphorus requirement in sex-reversed red tilapia. *In*: XII International Symposium on Fish Nutrition & Feeding Biarritz: France, May 28th-June 1st 2006.

Phromkunthong , W. and Udom, U. 2008. Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plant diets. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30, 7-16.

Pillay, T.V.R. 2002. Aquaculture Principles and Practices. Fishing News Books. Rome: United Nations.

Pimentel, R.A. and Oliva, T.A. 2007. Phosphorus availability of inorganic phosphates and fishmeals in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. Aquaculture 267, 300-307.

Portz , L. and Liebert, F. 2004. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 88, 311–320.

Riche, M. and Brown, P.B. 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 142, 269-282.

Riche, M., Trottier, N.L. and Ku, P.K. 2001. Apparent digestibility of crude protein andapparent availability of individual amino acids in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed phytase pretreated soybean meal diets. Fish Physiol. Biochem. 25, 181–194.

Robinson, E.H., Labomascus, D., Brown, P.B. and Linton, L. 1987. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. Aquaculture 64, 267-276.

Rodehutscord, M. 1996. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diets. J. Nutr. 126, 324-331.

Rodehutscord, M. and Pfeffer, E. 2000. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Water Sci. Technol. 31, 143-147.

Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary P requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). Aquaculture 221, 451-468.

Saijjadi, M. and Carter, C.G. 2004. Dietay phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. Aquaculture 240, 417-431.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1978. Effects of dietary P on chemical composition of red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44, 227-229.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1980. A principal source of deposited lipid in phosphorus deficient red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46, 1227-1230.

Sauer, D.M. and Haider, G. 1977. Enzyme activities in the serum of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson.: the effects of water temperature. J. Fish Biol. 11, 605-612.

Schäfer, A., Koppe, W.M., Meyer-Burgdorff, K.H. and Günther, K.D. 1995. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. Water Sci. Technol. 31, 149-155.

Schultz, K. 2004. Freshwater Fish. Hoboken: NJ John Wiley & Sons, Inc.

Shimeno, S., Takeda, M., Takayama, S., Fukui, A., Sasaki, H. and Kajiyama, H. 1981. Adaptation of hepatopancreatic enzymes to dietary carbohydrate in carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 47, 71-77.

Shearer, K.D. and Hardy, R.W. 1987. Phosphorus deficiency in rainbow trout fed a diet containing deboned fillet scrap. Prog. Fish-Cult. 49, 192-197.

Simons, P.C.M., Versteegh, H.A.J., Jongbloed, A.W., Kemme, P.A., Slump, P., Bos, K.D., Wolters, M. G.E., Beudeker, R.F. and Verschoor, G.J. 1990. Improvement of phosphorus availabilty by microbial phytase in broiler and pigs. British. J. Nutr. 64, 525-541.

Skonberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 157, 11-24.

Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J. 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fishmeal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 161, 365–379.

Sugiura, S.H., Raboy, V., Young, K.A., Dong, F.M. and Hardy, R.W. 1999. Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 170, 285–296.

Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M., and Hardy, R.W. 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. Aquac. Res. 32, 583-592.

Takeuchi, T., Satoh, S. and Kiron, V. 2002. Commom carp, *Cyprinus carpio*. *In*: Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. Webster, C.D. and Lim, C.E. (eds.). New York: CAB International, pp. 245-261.

Tudkaew, J., Gabaudan, J. and Phromkunthong, W. 2008. The supplementation of phytase RONOZYME® P on the growth and the utilisation of phosphorus by sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). Songklanakarin J. Sci. Technol. 30, 17-24.

Uhlig, H. 1998. Industrial enzyme and their application. New York: John Wiley & Sons, Inc.

University of Guelph. 2010. Technology : Enviropig™. Available from: http://www.uoguelph.ca/enviropig/technology.shtml [Accessed 18-02-2011].

Vielma, J. and Lall, S.P. 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160, 117-128.

Vielma, J., Lall, S.P., Koskela, J. an Vielma, J. and Lall, S.P. 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160, 117-128.

Vielma, J. and Ruohone, K. and Peisker, M. 2002. Dephytinzation of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)*. Aquaculture 204, 145-156.

Mattila, P. 1999. Influence of low dietary cholecalciferol intake on phosphorus and trace element metabolism by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss,* Walbaum). J. Comp. Biochem. Physiol. 122, 117-125.

Vielma, J., Ruohonen, K., Gabaudan, J. and Vogel, K. 2004. Top-spraying soybean mealbased diets with phytase improves protein and mineral digestibility but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. 35, 955–964.

Vohara, A. and Satyanarayana, T. 2003. Phytase: microbial sources production, purification and potential biotechnological applications. Crit. Rev. Biotechnol. 23, 29-60.

Wang, H.L., Swain, E.W. and Hesseltine, C.W. 1980. Phytase of molds used in oriental food fermentation. J. Food Sci. 45, 1262-1266.

Watanabe, T., Satoh, S. and Takeuchi, T. 1988. Availability of minerals in fish meal to fish. Asian Fish. Soc. 1, 175-195.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. and Ogino, C. 1980a. The availability to *Tilapia niloticus* of phosphorus in white fishmeal. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46, 897-899.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. Nose, T. and Ogino, C. 1980b. Requirement of chum salmon held in freshwater for dietary phosphorus. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46, 361-367.

Wilson, R.P., Robinson, E.H. Gatlin III, D.M. and Poe, W.E. 1982. Dietary phosphorus requirement of channel catfish. J. Nutr. 112, 1197-1202.

Xie, S., Zhang, L., and Wang, D. 2003. Effects of several organic acids on the feeding behavior of *Tilapia nilotica.* J. Appl. Ichthyol. 19, 255-257.

Yan, W., Reigh, R.C. and Xu, Z. 2002. Effects of fungal phytase on utilisation of dietary protein and minerals, and dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an all-plant protein diet. J. World Aquac. Soc. 33, 10-22.

Zhang, C., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Duan, Q., Tan, B., Ma, H., Xu, W., Liufu, Z. and Wang, X. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus.* Aquaculture 255, 201-209.