บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

จากผลของสภาวะเศษฐกิจที่กำลังฟื้นตัวส่งผลให้ธุรกิจต่างๆได้มีการปรับตัว และขยายตัวโดยเฉพาะในด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นอกจากกุ้งกุลาดำแล้วปลานิลก็เป็นสินค้าสัตว์น้ำอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจ จากสถิติของกรมประมงในปี พ.ศ. 2539 พบว่าผลผลิตปลาน้ำจืดของประเทศไทย 420,000 ตัน เป็นปลาจากธรรมชาติ 200,000 ตัน ปลาจากการเพาะเลี้ยง 220,000 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้เป็นปลานิล 81,000 ตัน สูงสุดเป็นอันดับหนึ่งโดยคิดเป็น 37 เปอร์เซ็นต์ของปลาน้ำจืดจากการเลี้ยงทั้งหมด (ยุพินท์, 2543) ลักษณะการเลี้ยงปลานิลมีการเปลี่ยนแปลงจากเดิมที่ผลผลิตเป็นเพียงผลพลอยได้จากการทำฟาร์มเลี้ยงเป็ด ไก่และหมู มาเป็นการเลี้ยงเพื่อเป็นรายได้หลักและเน้นการส่งออก มีการจัดการปรับปรุงและพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงในด้านต่างๆ เพื่อให้ได้ผลผลิตของเนื้อปลาที่ได้มีคุณภาพสูงได้มาตรฐานสากล อาหารสำเร็จรูปจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญ เพราะสามารถควบคุมคุณภาพของสารอาหารได้เหมาะสมต่อความต้องการของปลา

ฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อปลา โดยมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆในร่างกาย ปลามีความต้องการฟอสฟอรัสในปริมาณมาก แต่มีความสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสจากน้ำได้น้อยเมื่อเทียบกับแร่ธาตุชนิดอื่น เช่น แคลเซียม ประกอบกับฟอสฟอรัสในน้ำมีอยู่น้อยมากโดยอยู่ในช่วง 0.005 – 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร (Dato-Cajegas and Yakupitiyage, 1996) ดังนั้นแหล่งฟอสฟอรัสที่สำคัญของปลาจึงมาจากอาหาร โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำโดยทั่วไปมีแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญ 2 แหล่ง คือ จากพืชและจากสัตว์ แหล่งวัตถุดิบเหล่านี้มักมีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง แต่อยู่ในรูปแบบที่สัตว์น้ำสามารถนำมาใช้ได้น้อย เช่น ปลาป่น ฟอสฟอรัสที่พบมักจะอยู่ในรูปสารประกอบไฮดร๊อกซีอะพาไทด์ (hydroxyapatite) หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ซึ่งอยู่ในกระดูกและเกล็ดของปลา (Jobling, 1994) ส่วนฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของกรดไฟติก (phytic acid) ไฟเตท (phytate) หรือไฟติน (phytin) (Pointillart *et al.,* 1987) ซึ่งสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric animals) และปลาไม่

สามารถนำฟอสฟอรัสในรูปดังกล่าวมาใช้ได้ จึงต้องมีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้ในอาหาร ซึ่งก็เท่ากับเป็นการเพิ่มปริมาณของเสียที่ต้องขับทิ้งมากขึ้น

ปัจจุบันทุกฝ่ายให้ความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น กิจกรรมที่ก่อให้เกิดผลเสียและเป็นการทำลายสิ่งแวดล้อมจะถูกต่อต้าน โดยมีการนำมาตรฐานการจัดการสิ่งแวดล้อมมาใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจซื้อสินค้า เช่น ISO14000 (Internation Organization for Standization) เป็นมาตรฐานที่ใช้กำหนดคุณภาพสินค้า โดยเน้นในด้านสิ่งแวดล้อม สินค้าที่ไม่ได้รับการรับรองว่ากระบวนการผลิตและการจัดการไม่มีส่วนในการทำลายสิ่งแวดล้อมก็จะถูกปฏิเสธหรือกีดกั้นทางการค้า โดยเฉพาะในแถบยุโรปอเมริกาและญี่ปุ่น การทำฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำถูกตั้งข้อสังเกตุว่าเป็นสาเหตุหนึ่งของการทำลายสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการปล่อยน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมลสารหลักของการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำได้แก่ คาร์บอน ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสคือตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) โดยของเสียที่ขับออกมาในรูปที่ไม่ละลายน้ำจะสะสมอยู่ในดินตะกอน และปล่อยฟอสฟอรัสออกมาอย่างช้าๆ ขณะรูปที่ละลายน้ำ ได้แก่ อนินทรีย์ฟอสเฟตเป็นรูปที่มีผลต่อคุณภาพน้ำโดยตรง (Anderson and De Silva, 1996) หากมีการนำมาตรฐาน ISO 14000 มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจจะมีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและระบบเศรษฐกิจของประเทศ ดังนั้นจึงควรมีแนวทางสำหรับการจัดการป้องกันปัญหานี้ การเสริมเอนไซม์ไฟเตสก็เป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มฟอสฟาเตสซึ่งมีหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสทำให้ฟอสเฟตหลุดจากโมเลกุลของไฟเตทและนำไปใช้ประโยชน์ได้ การเสริมเอนไซม์ไฟเตสจึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากพืช ลดรายจ่ายจากการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตเนื่องจากปลามีฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสขับทิ้งลดลง จึงช่วยลดปัญหามลภาวะอันเนื่องจากฟอสฟอรัส ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน นอกจากนี้วัตถุดิบที่แตกต่างกันในการประกอบอาหารสัตว์ก็จะมีผลต่อระดับเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการเสริมด้วยเช่นกัน สำหรับในปลานิลมีรายงานว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารส่งผลในเชิงบวก (Gur, 1998) แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงระดับที่เหมาะสม ส่วนอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถช่วยบรรเทาปัญหานี้ลงได้และควรศึกษาควบคู่กันไปคือ การศึกษาถึงรูปแบบอนินทรีย์ที่มีความเหมาะสมต่อการเสริมในอาหารสัตว์แต่ละชนิดเพื่อสามารถใช้ฟอสฟอรัสได้คุ่มค่าที่สุด ดังนั้นการศึกษาถึงระดับเอนไซม์ไฟเตสและการ

ศึกษาอนินทรีย์ฟอสเฟตรูปแบบที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารปลานิลจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งสำหรับการป้องกันปัญหานี้ได้

ตรวจเอกสาร

1.ปลานิล

อนุกรมวิธานของปลานิลจัดจำแนกโดย Trewavas (1982)

Phylum Vertebrata

Class Osteichthyes

Order Perciformes

Family Cichlidae

Genus *Oreochromis*

Species *niloticus*

ปลานิล (*Oreochromis noloticus* Linn.) มีชื่อสามัญว่า Nile tilapia เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับปลาหมอเทศ มีริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน มีฟันบริเวณขากรรไกรและคอหอยหลายขนาด ตั้งแต่ค่อนข้างหยาบจนถึงละเอียด บริเวณกระดูกเหงือก (gill arch) มีซี่กรอง 15-27 อัน บริเวณแก้มมีเกล็ดทั้งหมด 4 แถว โดยเกล็ด 3 แถวแรกอยู่บริเวณแก้ม และอีกหนึ่งแถวอยู่เหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย ลำตัวมีสีน้ำตาลมีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางมีจุดขาวและเส้นสีดำตัดขวาง ครีบหลังมีอันเดียวประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-18 อัน และก้านครีบอ่อน 12-14 อัน ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9-10 อัน บนแถบเส้นข้างลำตัวมีเกล็ด 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเฉียงจากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาลตรงกลางมีเกล็ดสีเข้ม ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มหนึ่งจุด (มานพ และคณะ, 2536) ความแตกต่างระหว่างเพศปลาอาจสังเกตุได้จากลักษณะสีใต้คาง ในกรณีที่เป็นปลาเพศผู้จะมีสีแดงหรือชมพู ส่วนในปลาเพศเมียใต้คางจะมีสีเหลืองแต่ลักษณะสีใต้คางที่ปรากฏนี้ไม่สามารถแยกเพศได้ชัดเจน ส่วนการสังเกตุจากลักษณะติ่งเพศสามารถจำแนกเพศปลาได้แม่นยำกว่า โดยปลาเพศผู้ลักษณะติ่งเพศจะยาวเรียวปลายแหลม และมีช่องเปิดที่ปลายติ่งเพียงช่องเดียวซึ่งเป็นทางออกของปัสสาวะและน้ำเชื้อ

ส่วนปลาเพศเมียติ่งเพศจะมีลักษณะปลายมนช่องเปิดบนติ่งเพศมีสองช่องคือ ช่องเปิดที่ปลายติ่งเป็นทางออกของปัสสาวะ ส่วนช่องเปิดตามขวางบริเวณกึ่งกลางของติ่งเป็นช่องออกของไข่ ซึ่งจะสังเกตุเห็นได้ชัดในปลาที่มีความยาวตั้งแต่ 10 เซนติเมตรขึ้นไป (อุทัยรัตน์, 2529)

ปลานิลเป็นปลาพื้นเมืองของแอฟริกาและลุ่มแม่น้ำจอร์แดน พบทั่วไปตามหนองบึงทะเลสาบของประเทศซูดาน ยูกันดาและทันกันยิกา ทวีปอเมริกากลาง-ใต้ จัดเป็นปลาที่นิยมรับประทานทั้งในแอฟริกาเหนือและอิสราเอล แต่เนื่องจากสามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้ดี จึงพบแพร่กระจายทั่วไปทุกภูมิภาคของโลก ปลานิลเป็นปลาที่ชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงตามแม่น้ำ ลำคลองหนองบึง ทะเลสาบ ที่แหล่งน้ำจืด แต่สามารถนำไปเลี้ยงในบริเวณที่เป็นน้ำกร่อยได้ เนื่องจากมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้ในช่วงกว้าง คือตั้งแต่ 8–42 องศาเซลเซียส (Philippart and Ruwet, 1982) ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างของน้ำและความเค็มได้ดี โดยเมื่อน้ำมีความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.5 –5.5 จะพบการตาย 10 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อน้ำมีความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.5 – 4.5 อัตราการตายจะเพิ่มขึ้นเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ และจะตายหมดเมื่อน้ำมีความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 4.5 - 3.5 สำหรับการเปลี่ยนแปลงความเค็ม ปลานิลสามารถอยู่ได้อย่างปกติในน้ำที่มีความเค็มสูงถึง 20 ส่วนในพันส่วน (ppt) ปลานิลกินอาหารทั้งบนผิวน้ำ กลางน้ำและก้นบ่อ เป็นปลาที่มีนิสัยชอบกินอาหารในเวลากลางวัน ตั้งแต่ดวงอาทิตย์ขึ้นจนตก ในเวลากลางคืนปลานิลจะหยุดกินอาหาร ปลานิลกินอาหารได้ทุกชนิดจัดเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์(omnivores) (Philippart and Ruwet, 1982) ซากอินทรีย์และอนินทรีย์ที่เน่าเปื่อย รวมทั้งแบคทีเรียและพืชน้ำชนิดต่างๆ (Bowen, 1982) อาหารจะถูกบดให้มีขนาดเล็กลงโดยฟันในคอหอย (pharyngeal teeth) และส่งไปยังกระเพาะอาหารตอนต้น ซึ่งมีความพิเศษตรงที่น้ำย่อยของปลานิลมีความเป็นกรดมากอาจต่ำกว่า 1.5 (Mariarty, 1973) ซึ่งสามารถย่อยแพลงก์ตอนพืชและสิ่งเน่าเปื่อยได้ดี ปลานิลไม่มีกระเพาะแท้เหมือนปลากินเนื้อทั่วไป แต่มีเนื้อเยื่อที่มีโครงสร้างคล้ายกระเพาะที่สามารถหลั่งน้ำย่อย เพื่อลดความเป็นกรดด่างระหว่างการย่อยได้ปลานิลมีทางเดินอาหารยาวประมาณ 5-7 เท่าของลำตัว ทำให้มีประโยชน์ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยและดูดซึมอาหารร่วมทั้งเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์บางชนิดที่ช่วยสังเคราะห์สารอาหาร

ปลานิลนอกจากเป็นที่นิยมเลี้ยงและบริโภคในแถบเอเชียและแอฟริกาแล้ว ปัจจุบันยังเริ่มได้รับความนิยมในตลาดสหรัฐอเมริกา ยุโรป มีการใช้ปลานิลแทนปลาเนื้อขาวชนิดอื่นๆ เพราะเนื้อปลามีสีค่อนข้างขาว แล่เนื้อได้ง่าย มีก้างน้อย ไม่มีกลิ่นคาว รสชาติอ่อนๆ ใช้ปรุงอาหารได้หลายอย่าง โดยประเทศที่มีการส่งออกมากได้แก่ ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ คอสตาริกา โคลัมเบีย จาไมกา เวเนซูเอลา เอกวาดอร์ ซึ่งไต้หวันเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่ของโลก ร้อยละ 36 ของผลผลิตภายในประเทศ แต่ประเทศไทยส่งออกปลานิลได้เพียงไม่เกินร้อยละ 5 ของผลผลิตภายในประเทศ เนื่องจากผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ (เครือวัลย์, 2542) ดังนั้นแนวโน้มการตลาดของปลานิลยังสามารถขยายตัวต่อไปได้อีก เพราะเป็นปลาที่มีคุณภาพดีและมีราคาพอเหมาะ ปริมาณที่ผลิตก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ดังนั้นการปรับปรุงและพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพได้มาตรฐาน ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคจึงเป็นสิ่งสำคัญ

ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลในเชิงพาณิชย์มักนิยมเลี้ยงเฉพาะเพศผู้ เนื่องจากการเลี้ยงร่วมกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย มักจะประสบปัญหาในเรื่องความหนาแน่นของลูกปลาและขนาดปลาเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิต เพราะปลานิลเพศเมียสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ตั้งแต่อายุ 2 เดือน ทำให้มีลูกปลาหนาแน่นในบ่อ อีกทั้งปลานิลเพศเมียต้องสูญเสียพลังงานไปในการสร้างไข่และอนุบาลลูกปลาโดยต้องอมไว้ในปากเป็นเวลาประมาณ 10 วัน แม่ปลาไม่ได้กินอาหารจึงทำให้น้ำหนักลด ซึ่งแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มผลผลิตการเลี้ยงเพื่อให้ได้ปลาที่มีขนาดใหญ่และใกล้เคียงกันเมื่อจับขาย คือการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ทั้งหมดโดยสามารถดำเนินการจัดเตรียมลูกปลาเพศผู้ได้หลายวิธี

1. การคัดเลือกโดยดูจากลักษณะเพศภายนอก (manual sexing) แต่วิธีการนี้ไม่เป็นที่นิยมเพราะผู้คัดเลือกต้องมีความชำนาญและจำนวนปลาต้องมากพอ เนื่องจากสภาพปกติอัตราส่วนของปลาเพศผู้และเพศเมียจะมีสัดส่วนใกล้เคียงกัน อีกทั้งขนาดปลาที่สามารถเห็นความแตกต่างระหว่างเพศได้ชัดเจน จะต้องควรมีขนาดความยาวตั้งแต่ 12 เซนติเมตรและมีน้ำหนัก 50 กรัมขึ้นไป

2. การผสมข้ามสายพันธุ์ (hybridization) การใช้วิธีการผสมข้ามพันธุ์ทั้ง ข้ามสกุล (genus) และ ชนิด (species) ในปลาบางชนิด สามารถเกิดลูกทั้งหมดเป็นเพศเดียวกันได้ สำหรับปลานิลการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง *O. niloticus* X *O. aureus* จะได้ลูกพันธุ์ที่มีเพศผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการปฏิบัติในประเทศอิสราเอล

3. การใช้ฮอร์โมนเพศ การแปลงเพศปลาโดยให้กินอาหารผสมฮอร์โมน 17-เมทธิลเทสโทสเตอร์โรน (17-methyltestosterone หรือ 17- MT) ความเข้มข้น 40-60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลานาน 28-30 วัน แต่ขั้นตอนการผลิตลูกปลาแปลงเพศเหล่านี้ค่อนข้างยุ่งยาก ต้องมีความรู้ความชำนาญเพียงพอ อีกทั้งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ผลิตลูกพันธุ์ปลา นอกจากนั้นฮอร์โมน 17-เมทธิลเทสโทสเตอร์โรน ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ มีราคาแพง และเสื่อมคุณภาพได้ง่ายโดยเฉพาะในสภาพภูมิอากาศร้อนอย่างในประเทศไทย ทำให้ต้นทุนการผลิตปลาเพศผู้ในลักษณะนี้ค่อนข้างสูง และประสิทธิภาพการผลิตก็ไม่สม่ำเสมอ หากลูกปลากินอาหารผสมฮอร์โมนไม่ครบ ก็จะให้ผลผลิตเพศผู้ไม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าฮอร์โมนเหล่านี้จะได้รับการยืนยันว่าไม่มีผลตกค้างในเนื้อปลาโดยเฉพาะในปลาที่มีขนาดจับขายได้ แต่ก็ยังมีผู้บริโภคบางส่วนที่ไม่ยอมบริโภคปลานิลที่ถูกเปลี่ยนเพศด้วยฮอร์โมนเหล่านี้

4. การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม (indirect monosex production) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะผลิตปลานิลเพศผู้ทั้งหมดโดยหลีกเลี่ยงปัญหาฮอร์โมนอาจตกค้างในเนื้อปลาหรือหลีกเลี่ยงปัญหาของประสิทธิภาพการผลิตปลาเพศผู้ที่ไม่สม่ำเสมอ การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม ทำได้โดยผลิตพ่อพันธุ์ปลานิลซูเปอร์เมล (supermale หรือ YY-male) ซึ่งมีโครโมโซมเพศเป็น YY แล้วนำพ่อพันธุ์ซูเปอร์เมลเหล่านี้ไปผสมกับแม่พันธุ์ปลานิลปกติจะได้ลูกปลาที่เป็นเพศผู้ทั้งหมด เนื่องจากลูกปลาเพศผู้เหล่านี้เป็นปลาเพศผู้โดยพันธุกรรม (genetically male tilapia) และมีโครโมโซมเพศเป็น XY จึงนิยมเรียกปลาเพศผู้เหล่านี้ว่า ปลานิลเพศผู้ GMT ซึ่งมีขั้นตอนพอสรุปได้ดังนี้

4.1 รวบรวมลูกปลาจากปากแม่ปลามาอนุบาลจนถุงไข่แดงยุบและเริ่มกินอาหาร

4.2 เตรียมอาหารผสมฮอร์โมนไดเอธทิลสทิเบสทรอล (Diethylstibestrol หรือ DSE) อัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ละลายฮอร์โมนในสารละลายเอทธิลแอลกอฮอล์ และคลุกกับอาหารให้ทั่วให้ลูกปลากินนาน 28 วัน จะได้ลูกปลาที่เป็นเพศเมียที่มีโครโมโซม 2 แบบคือ XX และ XY

4.3 ตรวจสอบว่าปลาเพศเมียตัวใดเป็นเพศเมียที่มีโครโมโซม XY โดยเลี้ยงปลาเหล่านั้นจนเป็นแม่พันธุ์แล้วนำมาผสมกับปลาเพศผู้ปกติที่มีโครโมโซมเพศเป็น XY ถ้าแม่ปลาตัวใดผลิตลูกปลาที่มีอัตราส่วนเพศผู้

ต่อเพศเมีย เท่ากับ 3 ต่อ 1 แสดงว่ามีโครโมโซมเพศเป็น XY

4.4 นำปลาเพศเมียที่มีโครโมโซม XY ดังกล่าวมาผสมกับปลานิลเพศผู้ปกติ จะได้ลูกปลาเพศเมียต่อเพศผู้ เท่ากับ 1 ต่อ 3 โดยในลูกปลาเพศผู้เหล่านี้จะมี 1 ส่วนที่มีโครโมโซมเพศเป็น YY

4.5 ตรวจสอบว่าปลาเพศผู้ตัวใดเป็นเพศผู้ที่มีโครโมโซม YY โดยนำไปผสมกับปลาเพศเมียปกติถ้าปลาตัวใดผลิตลูกปลาที่เป็นเพศผู้ทั้งหมดแสดงว่ามีโครโมโซมเพศเป็น YY แสดงว่าเป็นปลานิลซูเปอร์เมล เมื่อนำมาผสมกับปลาเพศเมียปกติ จะได้ปลาเพศผู้ GMT หรือที่เรียกว่าเป็นปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2

การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ GMT ให้ผลผลิตสูงกว่าการเลี้ยงปลานิลรวมเพศ 28.25 เปอร์เซ็นต์ (นวลมณี และพุทธรัตน์, 2538)

2. ความสำคัญของเอนไซม์ไฟเตสและอนินทรีย์ฟอสเฟต

2.1 สาเหตุของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและอนินทรีย์ฟอสเฟต

เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุหนึ่งในสิบชนิดที่ปลาต้องการ (Davis and Gatlin, 1996) โดยจะทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกายร่วมกับแคลเซียม ซึ่ง 85–90 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในร่างกายปลาจะเป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ด นอกจากนี้ฟอสฟอรัสยังทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่างๆในรูปอินทรีย์ฟอสเฟต ได้แก่ adenosine triphosphate (ATP), phospholipids, coenzymes, deoxyribonucleic acid (DNA) และ ribonucleic acid (RNA) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ และมีส่วนสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมคาร์โบไฮเดรต ไขมันและกรดอะมิโน ในขณะที่อนินทรีย์ฟอสเฟตจะทำหน้าที่สำคัญในการเป็นบัฟเฟอร์ เพื่อรักษาระดับความเป็นกรดด่างของของเหลวในร่างกาย (Lovell, 1989; Davis and Gatlin, 1991; NRC, 1993) สำหรับระดับฟอสฟอรัสที่ปลาต้องการ มีความแตกต่างกันตามชนิดของปลา โดยในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) รายงานความต้องการฟอสฟอรัสในระดับ 0.55 เปอร์เซ็นต์ (มะลิ และ จูอะดี, 2533) ปลา yellow croaker (*Nibea albiflora*) ต้องการฟอสฟอรัสในระดับ 0.65 เปอร์เซ็นต์ (El-Zibdeh *et al.,* 1995) ขณะที่ Brown *et al.* (1993) รายงานความต้องการฟอสฟอรัสของปลาลูกผสมระหว่าง *Morone chrysops* (female) x *M. saxatilis* (male) ต้องการฟอสฟอรัสในระดับ 0.41-

0.46 เปอร์เซ็นต์ ปลา striped bass (*Morone saxatilis*) ต้องการฟอสฟอรัส 0.58 เปอร์เซ็นต์ เพื่อการเจริญเติบโตอย่างเป็นปกติ (Dougall *et al.,* 1996) สำหรับปลานิลมีรายงานความต้องการฟอสฟอรัสในระดับ 0.9, 0.45-0.6, 0.3-0.5, 0.46 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Watanabe *et al.,* 1980a; Viola and Arieli, 1983; Robinson *et al.,* 1984, 1987; Haylor *et al.,* 1988) โดยระดับความต้องการฟอสฟอรัสของปลานิลในแต่ละการทดลองที่แตกต่างกันนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของปลาและองค์ประกอบของอาหาร (Dato-Cajegas and Yakupitiyage, 1996) เนื่องจากฟอสฟอรัสมีความสำคัญต่อสัตว์น้ำโดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายปลา หากปลาได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอหรือขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ปลาดุกอเมริกันมีการเจริญเติบโตลดลง ประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ ปริมาณเถ้าในกระดูกและค่าฮีมาโตคริตลดลง (Andrews *et al.,* 1973; Wilson *et al.,* 1982) เช่นเดียวกับอาการที่พบในปลา sunshine bass (Brown *et al.,* 1993) ขณะที่ปลากะพงขาวพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจะลดลง และประสิทธิภาพการใช้อาหารจะต่ำกว่าปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสเพียงพอ (มะลิ และจูอะดี, 2533) นอกจากนี้พบว่าการที่มีฟอสฟอรัสในอาหารต่ำจะทำให้ปลาไนและซัลมอลมีการพัฒนาของกระดูกที่ผิดปกติ (Ogino and Tekeda, 1976; Watanabe *et al.,* 1980b) ส่วนปลาทะเลเช่น เรดซีบรีม (*Chrysophrys major*) พบว่าสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอสรัสในอาหาร มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Sakamoto and Yone, 1973) สำหรับปลานิล การขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ลดการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมเถ้าในกระดูก (Halver, 1989) ส่วนความเป็นพิษของฟอสฟอรัสต่อปลายังไม่มีการรายงาน แต่พบว่าการมีฟอสฟอรัสในอาหารมากไปจะส่งผลต่อการใช้สารอาหารอื่น (Jobling, 1994; Satoh *et al.,* 1987)

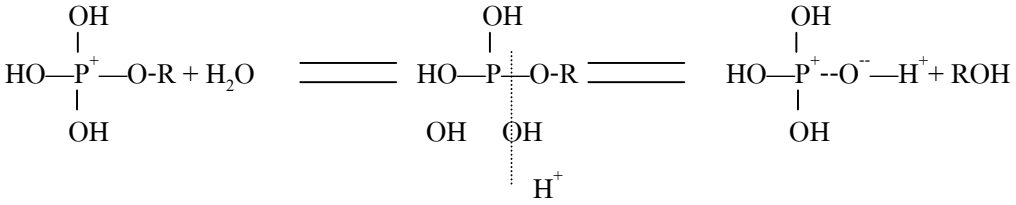
ดังนั้นเมื่อฟอสฟอรัสมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของปลา ปลาจึงต้องได้รับฟอสฟอรัสในระดับที่เพียงพอ โดยแหล่งของฟอสฟอรัสสำคัญที่ปลาได้รับมาจากอาหารเป็นหลัก (Halver, 1989) ฟอสฟอรัสจากอาหารในวัตถุดิบพืชและสัตว์มีฟอสฟอรัสในระดับสูง แต่มักอยู่ในรูปแบบที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย การแก้ไขปัญหาการขาดฟอสฟอรัสของปลา จึงใช้วิธีการเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟต โดยรูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่นิยมเสริมในอาหารปลามี 3 รูปแบบ คือ โมโนเบสิค (monobasic), ไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) แต่การเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตเป็นการเพิ่มระดับฟอสฟอรัสเข้าไปในอาหารโดยไม่ได้ช่วยให้ฟอสฟอรัสในอาหารซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่สามารถใช้

ได้ให้สามารถใช้ได้ จึงเกิดปัญหาในเรื่องของมลภาวะตามมา มลสารหลักของการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำมีฟอสฟอรัสเป็นตัวการสำคัญ สาเหตุของปัญหามาจากอาหารสัตว์น้ำมีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่สัตว์น้ำไม่สามารถนำมาใช้ได้ สัตว์น้ำจึงต้องขับทิ้งโดยผ่านทางมูล ฟอสฟอรัสเหล่านี้จึงสะสมอยู่ในแหล่งน้ำ ชักนำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน เช่นในประเทศ ฟินแลนด์ สวีเดน เดนมาร์ก อังกฤษ สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น (Rich and Brown, 1996)

จากการศึกษาของ Hakanson (1986) and Kryvi (1989) อ้างโดย De Silva and Anderson (1995) ในการทำฟาร์มเลี้ยงปลาซัลมอล ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) อยู่ในระดับ 1.5 (คือ ให้อาหารปลา 1.5 กิโลกรัม สามารถเปลี่ยนเป็นเนื้อปลาได้ 1 กิโลกรัม) ได้แสดงเปอร์เซ็นต์การใช้อาหารของปลาซัลมอล โดยสมมุติให้ในอาหารมีสารอาหารเริ่มต้น คือ คาร์บอน ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ปลาซัลมอลสามารถนำคาร์บอน ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน ไปใช้ได้ 20, 25, 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเพียง 1 ใน 4 ส่วนเท่านั้นที่ปลาสามารถนำไปใช้ได้ที่เหลืออีก 3 ส่วนก็จะถูกปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม ทั้งในรูปที่ละลายและไม่ละลายน้ำ โดยในส่วนที่ละลายน้ำได้จะมีโอกาสในการถูกดูดซึมและนำไปใช้ แต่สำหรับส่วนที่ไม่ละลายน้ำ จะเกิดการสะสมและตกเป็นตะกอนอยู่พื้นบ่อ (ซึ่งฟอสฟอรัสมีเปอร์เซ็นต์ตกตะกอนสูงถึง 65 เปอร์เซ็นต์) ทำให้บ่อลดความสามารถในการรองรับและเสื่อมโทรมเร็วขึ้น ดังนั้นอาหารจึงเป็นหัวใจสำคัญของปัญหานี้ อาหารที่ใช้เลี้ยงปลาโดยทั่วไปมักมีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งได้รับจากส่วนผสมของอาหารดังต่อไปนี้ ฟอสฟอรัสที่ได้รับจากปลาป่นประมาณ 1.5 – 3 เปอร์เซ็นต์ กระดูกป่น 3.5 – 5.5 เปอร์เซ็นต์ และจากพืช 0.3 – 1.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งฟอสฟอรัสจากกระดูกป่นจะอยู่ในรูปของไตรแคลเซียมฟอสเฟต ไม่ละลายน้ำ ดูดซึมได้ยาก (Jobling, 1994) และฟอสฟอรัสจากพืชส่วนใหญ่มักจะอยู่ในรูปของกรดไฟติก {กรดไฟติก phytic acid หรือ myo-inositol pentakisphosphate โดยทั่วไปมักพบในพืช ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่าไฟติน (phytin) ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วย อินโนซิทอล กับฟอสเฟต จะเรียกว่าไฟเตท (phytate) (Uhlig, 1998) ส่วน Hendricks and Bailey (1989) กล่าวถึงกรดไฟติกว่า เป็นพิษชนิดหนึ่งที่เกิดจากพืช} ปลาไม่สามารถดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้เนื่องจากปลาขาดเอนไซม์ไฟเตส (Jackson *et al.,* 1996; Vielma *et al.,* 2000)

2.2 ความหมาย

ไฟเตส (phytase) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase เป็นเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเตส (phosphatase enzyme) (Cosgrove, 1980) เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแยกสารอนินทรีย์ฟอสเฟตออกจากสารอินทรีย์ฟอสเฟตที่ P – O บอนด์



ภาพที่ 1 การเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเตส

(Cosgrove, 1980)

เอนไซม์ไฟเตส เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่สามารถย่อยกรดไฟติกได้ โดยทำให้ฟอสเฟตหลุดออกจากโมเลกุลของไฟเตททีละตัว เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวกลางที่มีชื่อว่า อินโนซิทอลเพนตะฟอสเฟต (inositol pentaphosphate) คือมี อินโนซิทอลจับอยู่กับฟอสเฟต 5 กลุ่ม จากนั้นถูกย่อยต่อไปได้เป็น อินโนซิทอลเตรตาฟอสเฟต (inositol tetraphosphate), อินโนซิทอลไตรฟอสเฟต (inositol triphosphate), อินโนซิทอลไดฟอสเฟต (inositol diphosphate), อินโนซิทอลโมโนฟอสเฟต (inositol monophosphate) ตามลำดับจนในที่สุดได้เป็นอินโนซิทอลจับอยู่กับฟอสเฟต ที่ถูกย่อยสลายออกมาทั้งหมด 6 โมเลกุล ซึ่งเอนไซม์ไฟเตสที่รู้จักกันดีคือ 3-phytase และ 6- phytase ซึ่งทำการย่อยเอสเทอร์ (ester bond) ของฟอสฟอรัสเริ่มจาก C ตำแหน่งที่ 3 และ 6 ตามลำดับ และสามารถย่อยฟอสฟอรัสออกได้จนหมด (Jongbloed *et al.,* 1993)

ภาพที่ 2 การสลายพันธะกลุ่มออโธฟอสเฟตออกจากโมเลกุลของไฟเตทโดยปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ (microbial phytase) (Jongbloed *et al.,* 1993)

นอกจากนี้ในบางครั้งเอนไซม์ไฟเตสยังทำงานร่วมกับวิตามินเอ (Schwimmer, 1981) โดยควบคุมการทำงานของเยื่อบุผิวให้เป็นปกติ เช่น บริเวณท่อทางเดินอาหาร ลิ้น ไต กระตุ้นการสร้างเซลล์เนื้อเยื่อและกระดูก

2.3 แหล่งที่มา

แหล่งของเอนไซม์ไฟเตสมีกระจายอยู่ทั่วไป ทั้งในเนื้อเยื่อพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ (ยีสต์ รา แบคทีเรีย) (Gifford *et al.,* 1990; Storebakken *et al.,* 1998; Zemel and Shelef, 1982)

แหล่งของเอนไซม์ไฟเตสสามารถแบ่งได้ดังต่อไปนี้

1. เอนไซม์ไฟเตสจากพืช พบทั้งในผักผลไม้ เนื้อเยื่อพืช และโดยเฉพาะในส่วนเมล็ดธัญพืช ทั้งหลาย เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ เมล็ดละหุ่ง เมล็ดฟักทอง มันฝรั่ง ถั่วต่างๆ และใบยาสูบ (Shieh and Ware, 1968) ส่วน Pointillart (1993) ได้ศึกษาปริมาณเอนไซม์จากเมล็ดข้าว ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวบาเรย์ ข้าวไรย์ รำข้าว พบเอนไซม์ไฟเตสอยู่ในช่วง 400 –4900 ยูนิตต่อ 1 กิโลกรัม และสำหรับ Peers (1953) ได้ทำการวัดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไฟเตสในส่วนต่างๆ ของข้าวสาลี พบว่าในส่วนของ Aleuron, Endosperm และ Scutellum มีสัดส่วนของไฟเตสทั้งหมดเป็น 39.5, 34.1และ 15.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณไฟเตสทั้งหมดสูงเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ของเมล็ดข้าวสาลีทั้งเมล็ด แต่พบว่าในส่วนของ Scutellum และ Aleuron มี activity สูงที่สุดคือ 31.8 และ 17.7 μg P/ hr./ mg. ของน้ำหนักแห้ง

เอนไซม์ไฟเตสในพืชจะพบมากในช่วงที่เริ่มมีการงอกของเมล็ด (germination) โดย Peers (1953) ศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ไฟเตสในเมล็ดข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ พบว่าจะเพิ่มขึ้นในระยะแรกของการเจริญเติบโตซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gibbins and Norris (1963a) ศึกษาเอนไซม์ไฟเตสและเอซิคฟอสฟอเฟตในถั่วแคระ (*Phaseolus vulgaris*) พบว่าเอนไซม์ไฟเตสและเอซิคฟอสฟอเฟต จะมี activity เพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 3–9 และหลังจากนั้นเอนไซม์ทั้งสองก็จะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอินโนซิทอลในเมล็ดถั่วและพืช (Gibbins and Norris, 1963b) พบว่าอินโนซิทอลจะมีปริมาณลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ ใน 2 สัปดาห์แรกของการเจริญเติบโตซึ่งก็แสดงว่า เมื่ออินโนซิทอลมีปริมาณลดลง จะส่งผลทำให้

แร่ธาตุต่างๆเป็นอิสระ และสามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น ไฟเตสที่พบในพืชคือ 3-phytase, 6-phytase (Storebakken *et al.,* 1998)

ในวงการอาหารสัตว์ เอนไซม์ไฟเตสจากพืชไม่นิยมนำมาใช้เนื่องจากความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ไฟเตสที่มาจากพืชมีความผันแปรสูง โดยขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ อายุ การทำแห้ง การเก็บรักษา และอื่นๆ นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ไฟเตสจากพืชยังอยู่ในช่วงแคบกว่าเอนไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์ คืออยู่ในช่วงพีเอช 4.5-6.5 ขณะที่ไฟเตสจากจุลินทรีย์ทำงานได้ในช่วงพีเอช 2-6.5 ซึ่งการย่อยฟอสฟอรัสมักเกิดขึ้นในกระเพาะที่มีพีเอชต่ำ (บุญล้อม และ สุชน, 2540)

2.เอนไซม์ไฟเตสจากสัตว์ พบมากในกระเพาะของสัตว์ประเภทสี่กระเพาะ ซึ่งมีกระเพาะหมัก (rumen) เช่น วัว ควาย แพะ แกะ นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ไฟเตสในผนังทางเดินอาหารของหนู (intestinal membranes) และในเลือดสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลาน และนก (Uhlig, 1998) โดยมักมีบทบาทในการยับยั้งการปลดออกซิเจนออกจากฮีโมโกลบิน (Schwimmer, 1981)

3. เอนไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์ ปัจจุบันมีความสนใจเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์กันมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์จากพืชและสัตว์มีปริมาณจำกัด แต่เอนไซม์จากจุลินทรีย์สามารถผลิตได้ในปริมาณมากและมีความคงตัวดี จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้มีมากกว่า 2,000 ชนิด (Shieh and Ware, 1968) ทั้งจากแบคทีเรีย รา และยีสต์ โดยเฉพาะจากราเป็นจุลิน-ทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในวงการอาหารสัตว์น้ำในปัจจุบัน

3.1 เอนไซม์ไฟเตสจากแบคทีเรียและยีสต์ จากการศึกษาของ Shieh and Ware (1968) ทำการสำรวจจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ โดยการเก็บตัวอย่างดินจาก 68 ตัวอย่าง พบยีสต์ 140 ชนิด และมีเพียง 17 ชนิดเท่านั้นที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ ส่วนแบคทีเรียพบ 56 ชนิด และมี 18 ชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ เช่น *Bacillus subtilis* (Kruger *et al.,* 1987) โดยมีลักษณะเป็นเซลล์รูปท่อนตรง ขนาด 0.3 – 2.2 x 1.2 – 7.0 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนที่ได้ ติดสีแกรมบวก มีกระบวนการสร้างและสลายเป็นการหายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายหรือไนเตรท เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต สร้างเอนโดสปอร์ทนความร้อนเป็นพวกมีโซไฟล์ อุณหภูมิสูง

สุดในการเจริญเติบโต 45 – 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดในการเจริญเติบโต 5 – 20 องศาเซลเซียส ชอบพีเอชต่ำหรือกลาง สำหรับการผลิตเอนไซม์ไฟเตสจาก *Bacillus subtilis* มักนิยมใช้เป็นตัวหมักธัญพืช (Piva *et al.,* 1993)

3.2 เอนไซม์ไฟเตสจากรา เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในวงการอาหารสัตว์น้ำในปัจจุบัน เช่น *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Cunninghamella* spp., *Neurospora* spp. (Shieh and Ware, 1968) ซึ่งกลุ่มที่ผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ดีที่สุดคือ *Aspergillus* spp. ซึ่งพบว่ามีถึง 28 ชนิด จาก 82 ชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ โดย *A. niger* เป็นชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้มากกว่า *Aspergillus spp.* ในกลุ่มอื่นๆ ส่วนปฏิกิริยา (activity) ของราในสายพันธุ์ *A. ficuum* NRRL 3135 มี activity สูงที่สุดคือ 10.5 units/ml ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Piva *et al.* (1993) *A. niger* และ *A. ficuum* เป็นสายพันธุ์ที่ให้ไฟเตสดีที่สุด

Aspergillus spp. เป็นราซึ่งโคโลนีมีขอบเขตจำกัด เส้นใยแตกกิ่งก้านสาขามีผนังกั้นตามขวาง ส่วนใหญ่ไม่มีสี คอนิดิโอฟอร์ (conidiophore) ขยายใหญ่ เรียกว่า เวสิเคิล (vesicle) มีสเตอริกมาอยู่บนเวสิเคิล ทำหน้าที่สร้างคอนิเดีย (conidia) คอนิเดียมีขนาดเล็ก เซลล์เดียว เรียงต่อกันเป็นสายมักมีสีเขียวน้ำตาลหรือดำ เจริญดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (corn–starch–based) ต้องการคาร์บอนและฟอสฟอรัสในอัตราสูง (Shieh and Ware, 1968)

3. การนำมาใช้

3.1 วิธีการเสริม

จากการค้นคว้ารวมรวบเอกสารงานทดลองที่ผ่านมา สามารถจำแนกวิธีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาได้ 3 วิธีการ คือ

3.1.1 การเสริมเอนไซม์ไฟเตสโดยการผสมลงไปในอาหารเช่นเดียวกับส่วนผสมอื่นๆ ซึ่งในการทดลองของ Eya and Lovell. (1997); Forster *et al.* (1999); Oliva *et al.* (1998); Robaina *et al.* (1998); Weerd *et al.* (1999) ใช้การเสริมเอนไซม์ไฟเตสโดยวิธีการนี้ การเสริมเอนไซม์ไฟเตสโดยวิธีการนี้สามารถทำได้ง่ายและสะดวก แต่หากในขั้นตอนการอัดเม็ดที่มีอุณหภูมิสูงเกิน 75 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการสลายของเอนไซม์ได้ (Jackson *et al.,* 1996)

3.1.2 การเสริมโดยวิธีการหมักวัตถุดิบพืชด้วยเอนไซม์ไฟเตส เป็นวิธีการทำให้เกิดความยุ่งยากเพิ่มขึ้น เนื่องจากต้องเตรียมการหมักวัตถุดิบพืชก่อนโดยวัตถุดิบพืชที่สามารถใช้หมักได้ได้แก่ กากถั่วเหลือง ข้าวโพด คาโนลา (canola) เช่นในการทดลองของ Cain *et al.* (1995); Ramseyer *et al.* (1999); Storebakken *et al.* (1998) โดยขั้นตอนการหมักต้องนำเอนไซม์ไฟ เตสมาละลายในซิเตรทบัฟเฟอร์ (citrate buffer) พีเอช 5 ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำกากถั่วเหลืองลงไปผสม ใช้อุณหภูมิในระหว่างการผสม 50-55 องศาเซลเซียส เวลา 5- 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นหมักทิ้งในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Cain *et al.*, 1995) จึงสามารถนำวัตถุดิบพืชที่หมักแล้วมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร

3.1.3 การเสริมโดยวิธีการฉีดพ่นเอนไซม์ไฟเตสในเม็ดอาหารที่ได้ผ่านกระบวนอัดเม็ดแล้ว วิธีนี้อาจเป็นวิธีการที่สามารถป้องกันการสลายตัวของเอนไซม์ไฟเตสได้อีกระดับหนึ่ง เช่นการทดลองของ Jackson *et al.* (1996); Li and Robinson (1997); Vielma *et al.* (1998, 2000)

วิธีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารนอกจากจะมีผลต่อการคงอยู่และการสลายตัวของเอนไซม์ไฟเตสแล้ว ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไฟเตสยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีกหลายประการ

3.2 ระดับที่ใช้

ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารสัตว์โดยทั่วไปอยู่ในช่วงตั้งแต่ 800–3,200 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมหรือมากกว่านี้ ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ สภาวะการทดลอง และองค์ประกอบของอาหาร (Soares and Hughes, 1995) โดยระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารสัตว์บก เช่น หมูและไก่ อยู่ในช่วง 500-1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Simons *et al.,* 1990; Crowell *et al.,* 1993; Liebert *et al.,* 1993) ส่วนระดับเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารปลาพบว่าอยู่ในช่วงกว้าง เนื่องจากปลากินอาหารในน้ำดังนั้นการเสริมเอนไซม์ในอาหารปลาอาจมีการละลายได้มากน้อยต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายๆปัจจัยตั้งแต่ชนิดของวัตถุดิบอาหาร คุณภาพน้ำ (Forster *et al.,* 1999) ทำให้ผลการศึกษาอาจมีความผันแปรได้มากกว่าในสัตว์บก

ส่วนระดับเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเสริมในอาหารปลานิลยังไม่มีการรายงาน มีเพียงการทดลองของ Gur (1998) รายงานว่าเอนไซม์ไฟเตสในอาหารจะส่งผลในด้านบวกต่อการเจริญเติบโตของปลานิลเท่านั้น

3.3 ประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตส

ประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตสจะได้ผลหรือไม่เพียงใดขึ้นอยู่กับสิ่งต่างๆดังนี้ (Kornegay, 2001)

- ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่ใช้
- ระดับของฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหาร
- ระดับของฟอสฟอรัสในรูปของไฟเตทในอาหาร
- ระดับของแคลเซียมและสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหาร
- ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่มีอยู่จริงในอาหาร
- ขั้นตอนการผลิตและอัดเม็ด

4. บทบาทของเอนไซม์ไฟเตส

4.1 เพิ่มการนำฟอสฟอรัสจากพืชไปใช้ประโยชน์และลดปริมาณฟอสฟอรัสจากมูล

แหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ มาจาก 2 แหล่งที่สำคัญคือ แหล่งวัตถุดิบจากพืช และแหล่งวัตถุดิบจากสัตว์ เนื่องจากแหล่งวัตถุดิบจากสัตว์มีราคาค่อนข้างสูง จึงมีความพยายามลดต้นทุนของอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ โดยการนำแหล่งวัตถุดิบจากพืชมาใช้ทดแทนแหล่งวัตถุดิบจากสัตว์แต่การนำวัตถุดิบจากพืชมาใช้ทดแทนวัตถุดิบจากสัตว์มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น กลิ่น รสชาดของอาหาร และการใช้ประโยชน์จากสารอาหารจากพืชได้ไม่เต็มที่ เช่น ฟอสฟอรัส จากแหล่งวัตถุดิบจากพืชบางอย่างมีปริมาณใกล้เคียงกับแหล่งวัตถุดิบจากสัตว์ โดยจากข้อมูลใน NRC (1993) พบว่า รำข้าวสาลี, รำข้าวที่สกัดน้ำมัน, เมล็ดฝ้ายสกัดน้ำมัน มีเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในวัตถุดิบอาหารใกล้เคียงกับปลาป่นจากปลาเฮอริง (herring) และ เนื้อป่นจากสัตว์ปีก (poultry by product meal) แต่ความสามารถในการดูดซึมฟอสฟอรัสจากแหล่งวัตถุดิบจากพืชและสัตว์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน

NRC (1993) รายงานการดูดซึมฟอสฟอรัสจากแหล่งวัตถุดิบอาหารจากพืชและสัตว์ของปลา 3 ชนิด คือ ปลากดอเมริกัน ปลาคาร์พ ปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่าปลาสามารดูดซึม

ฟอสฟอรัสจากสัตว์ได้มากกว่าจากพืช โดยความสามารถในการดูดซึมฟอสฟอรัสจากพืชจะอยู่ในช่วง 20–50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่จากสัตว์อยู่ในช่วง 60–90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาดูดซึมฟอสฟอรัสจากแหล่งวัตุดิบจากพืชได้น้อยเนื่องจากมีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของกรดไฟติกไฟเตท หรือไฟติน

ฟอสฟอรัสจากพืชมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์จะอยู่ในรูปของกรดไฟติก ซึ่งสัตว์กระเพาะเดียว (monogastric animals) และปลา ไม่สามารถนำฟอสฟอรัสในรูปของกรดไฟติก ไฟเตท หรือไฟติน ออกมาใช้ได้เนื่องจากขาดเอนไซม์ไฟเตส ในการทำหน้าที่ดึงหมู่ฟอสเฟตออกมาใช้ประโยชน์ (Pointillart *et al.,* 1987) ทำให้ปลาไม่สามารถใช้ฟอสฟอรัสจากพืชได้อย่างเต็มที่ เกิดการสูญเสียโดยเปล่าประโยชน์ และเกิดการปัญหามลภาวะตามมา

Riche and Brown (1996) ศึกษาความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสของปลาเรนโบว์เทราท์ จากวัตถุดิบอาหารจากพืชที่มีการเสริมด้วยไฟเตสและไม่เสริมด้วยไฟเตส โดยไฟเตสที่เสริมอยู่ในระดับ 3,750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กรัม จากผลการศึกษาพบว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส ช่วยเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัส (apparent phosphorus availability) จากแหล่งวัตถุดิบอาหารจากพืช โดยเพิ่มความสามารถในการฟอสฟอรัสได้ในระดับ 46.2 – 76.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lanari *et al.* (1998) รายงานว่าการเสริมด้วยไฟเตสในอาหารปลาเรนโบว์ เทราท์ในระดับ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสได้ 58.6-68.1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างสูตรอาหารที่ไม่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส สำหรับ Rodehutscord and Pfeffer (1995) รายงานว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์เพิ่มความสามารถในการย่อยฟอสฟอรัสจากพืชได้ 75 เปอร์เซ็นต์ และ Schafer *et al.* (1995) รายงานว่าการเพิ่มเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซึมไฟเตท ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ในปลาคาร์พ

Jackson *et al.* (1996) ศึกษาผลของการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส ในอาหารปลากดอเมริกัน โดยอาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหารสำเร็จรูป มีแหล่งวัตถุดิบส่วนใหญ่จากพืช และมีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส ในระดับ 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ศึกษาการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การสะสมเถ้าและฟอสฟอรัสในกระดูก และปริมาณฟอสฟอรัสในมูล ผลการศึกษาพบว่าสูตรอาหารที่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสมีน้ำหนัก การสะสมเถ้าและฟอสฟอรัสใน

กระดูก ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าสูตรที่ไม่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสและพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสในระดับ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีน้ำหนักและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงสุด และมีอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด การเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสปริมาณยิ่งมากจะยิ่งทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออกมาจากมูลน้อยลง ถึงแม้ว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ 500 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมกับการไม่เสริมด้วยเอนไซม์ มีปริมาณฟอสฟอรัสในมูลเท่ากัน Oliva *et al.* (1998) ศึกษาประสิทธิภาพการใช้อาหารที่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสของปลากะพงวัยอ่อน (seabass, *Dicentrarchus labrax*) พบว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสจะไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสจากปลาป่นแต่จะมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสจากพืช

ดังนั้นการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสจึงมีบทบาทต่อการใช้ฟอสฟอรัสจากพืชและลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออกจากมูล

4.2 ลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟต

อนินทรีย์ฟอสเฟตเป็นฟอสฟอรัสที่สังเคราะห์ขึ้นผสมลงในอาหารสัตว์น้ำ มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถนำไปใช้ได้ในอาหาร เนื่องจากวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ มักจะมีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่สัตว์น้ำไม่สามารถนำไปใช้ได้ เช่นในปลาป่นฟอสฟอรัสที่พบมักจะอยู่ในรูปสารประกอบไฮดร๊อกซีอะพาไทด์ หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งอยู่ในกระดูกและเกล็ดของปลา ฟอสฟอรัสในรูปดังกล่าวปลานำมาใช้ประโยชน์ได้น้อย ส่วนฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของไฟเตท ไฟติน ไฟติก (Pointillart *et al.,* 1987) ซึ่งปลาไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ Wilson (1991) รายงานว่าในอาหารปลากดอเมริกัน ควรมีสัดส่วนฟอสฟอรัสจากแหล่งต่างๆ ดังนี้ ฟอสฟอรัสจากสัตว์ 40 เปอร์เซ็นต์ จากพืช 25 – 30 เปอร์เซ็นต์ จากอนินทรีย์ฟอสเฟต 30 – 35 เปอร์เซ็นต์ เห็นได้ว่าสัดส่วนฟอสฟอรัสจากอนินทรีย์ฟอสเฟตค่อนข้างสูง ก็เพราะปลาสามารถดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตได้สูงเมื่อเทียบกับวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ โดยจากรายงานของ NRC (1993) พบว่าเปอร์เซ็นต์การดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตของปลากดอเมริกัน ปลาคาร์พ ปลาเรนโบว์เทราท์ มีเปอร์เซ็นต์สูงมาก เมื่อเทียบการดูดซึมฟอสฟอรัสจากแหล่งวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ และพบว่าอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของโมโน มีเปอร์เซ็นต์การดูดซึมได้มากที่สุดถึง 94 เปอร์เซ็นต์ เช่น โมโนแคลเซียม โมโนโพแทสเซียม โมโนโซเดียม ซึ่งเหมือนกันในปลาทั้ง 3

ชนิด และดูดซึมได้รองลงมา คือ ไดแคลเซียม โดยปลากดอเมริกันดูดซึมได้ 65 เปอร์เซ็นต์ ปลาคาร์พดูดซึมได้ 46 เปอร์เซ็นต์ ปลาเรนโบว์เทราท์ดูดซึมได้ 71 เปอร์เซ็นต์ และอนินทรีย์ฟอสเฟตรูปที่ดูดซึมได้ต่ำสุดในปลาทั้ง 3 ชนิดคือ ไตรแคลเซียม โดยปลาคาร์พดูดซึมได้ 13 เปอร์เซ็นต์ ปลาเรนโบว์เทราท์ดูดซึมได้ 64 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าปลาสามารถดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตได้ในอัตราสูง แต่การเพิ่มอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร ไม่ได้ช่วยเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสที่มีอยู่เดิมในอาหาร

ดังนั้นปริมาณฟอสฟอรัสจากแหล่งวัตถุดิบพืชและสัตว์ ที่อยู่ในรูปที่ปลาไม่สามารถใช้ได้ ก็จะถูกขับทิ้ง การเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร ไม่สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ต้องขับทิ้งได้ การเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในปริมาณที่มากขึ้นจะยิ่งส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออกจากมูลมากขึ้นด้วย (Kim *et al.,* 1998) เพราะฉะนั้นการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตจึงไม่ได้เป็นการแก้ไขปัญหาที่ดี

การนำเอนไซม์ไฟเตสมาเสริมในอาหารเพื่อเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากพืช หรือเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสในรูปไฟเตท จึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งสำหรับการใช้แก้ไขปัญหาที่ดี Eya and Lovell. (1997) ศึกษาการดูดซึมฟอสฟอรัสจากอนินทรีย์ฟอสเฟตและผลของการใช้เอนไซม์ไฟเตสต่อการดูดซึมฟอสฟอรัสจากพืชในอาหารปลากดอเมริกัน โดยอาหารทดลองในสูตรพื้นฐาน มีระดับโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ให้พลังงาน 3 กิโลแคลอรีต่อกรัม มีการเสริมด้วยวิตามินและแร่ธาตุยกเว้นฟอสฟอรัส แต่สำหรับสูตรอาหารในกลุ่มที่ศึกษาอนินทรีย์ฟอสเฟต จะมีการเพิ่มอนินทรีย์ฟอสเฟตในแต่ละรูปแบบ โดยเพิ่มในระดับ 0.40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตรูปแบบต่าง ๆ ผลการศึกษาพบว่าอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟตดูดซึมได้มากที่สุดและรองลงมาคือโมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต, หินฟอสเฟตละเอียด (finely ground defluorinated rock phosphate) ดังนั้นการที่ปลาดูดซึม โมโนโซเดียมฟอสเฟตได้ 88.6 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าปลาสามารถใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟตได้ 0.35 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลืออีก 0.05 เปอร์เซ็นต์ก็จะถูกขับทิ้ง ซึ่งเท่ากับเป็นการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งและหากอนินทรีย์ฟอสเฟตที่เสริมคือ ไตรแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งปลาดูดซึมได้เพียง 54.8 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าปลาใช้ไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 0.22 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลืออีก 0.18 เปอร์เซ็นต์ จะถูกขับทิ้ง สำหรับการทดลองในกลุ่มอาหารที่เสริมด้วยไฟเตส ในระดับ 0, 1,000, 3,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าอาหารสูตรพื้นฐานที่มีระดับไฟเตส 0 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสได้ 31.2 เปอร์เซ็นต์

และเพิ่มขึ้นเป็น 55.1 เปอร์เซ็นต์ และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารที่เสริมไฟเตส 1,000, 3,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าการเพิ่มด้วยเอนไซม์ไฟเตส 3,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพิ่มการดูดซึมได้เป็น 1 เท่าของอาหารสูตรพื้นฐาน การเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสแม้จะมีเปอร์เซ็นต์การดูดซึมฟอสฟอรัสน้อยกว่าการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟต แต่เป็นการใช้ฟอสฟอรัสที่มีอยู่เดิมในอาหาร ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่สามารถใช้ได้ให้สามารถใช้ได้ Li and Robinson (1997) ทำการทดลองการทดแทนอนินทรีย์ฟอสเฟตด้วยไฟเตส โดยวัตถุดิบของอาหารทดลองมาจากพืชเป็นส่วนใหญ่ อาหารทดลองแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีการเสริมด้วยไฟเตสในระดับ 0-750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และกลุ่มที่มีการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต1เปอร์เซ็นต์ในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟต ในสูตรที่มีการเสริมด้วยไฟเตส 0 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหาร 0.52 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้ 0.24 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มที่มีการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้ 0.39 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีผลการศึกษาดังนี้ การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักปลา ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การสะสมเถ้าและฟอสฟอรัสในกระดูก ปริมาณฟอสฟอรัสจากมูลของปลาในกลุ่มที่เสริมด้วยไฟเตสดีกว่าปลาที่ได้รับการเสริมด้วยไดแคลเซียมฟอสเฟตและปลาที่ไม่ได้รับการเสริมเอนไซม์ สำหรับปลาที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในระดับตั้งแต่ 250 – 750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 500 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักดีที่สุด แม้ว่าน้ำหนักปลา ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การสะสมฟอสฟอรัสในกระดูก และปริมาณฟอสฟอรัสขับจากมูลของปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสจะไม่มีความแตกต่างสถิติ แต่พบว่าการสะสมเถ้าและฟอสฟอรัสในกระดูกมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระดับเอนไซม์ที่เสริม ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับจากมูลมีการลดลงตามระดับเอนไซม์ที่เสริม โดยปลาที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ 750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมมีปริมาณฟอสฟอรัสขับจากมูลต่ำสุด ดังนั้นการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสจึงเป็นแนวทางของการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้ในอาหารให้เพิ่มขึ้น และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าการเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตและการไม่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส จึงควรเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสในอาหารแทนการใช้ อนินทรีย์ฟอสเฟต

4.3 ส่งเสริมการใช้โปรตีนจากพืช

โปรตีนจากวัตถุดิบพืชและสัตว์ล้วนมีความจำเป็นต่อสัตว์น้ำ เนื่องจากโปรตีนจากแต่ละแหล่งจะมีชนิดและจำนวนของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน สำหรับแหล่งโปรตีนจากพืชพบว่าเมื่อมีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสจะเพิ่มความสามารถของการใช้โปรตีน (Spinelli *et al.,* 1983) โดย Storebakken *et al.* (1998) ทำการทดลองเลี้ยงปลาซัลมอล (Atlantic salmon, *Salmo salar*)โดยให้อาหาร 3 สูตรคือ สูตรที่ 1 ใช้โปรตีนจากปลาป่น 61 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 2 ใช้โปรตีนจากปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนจากถั่ว 16 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 3 ใช้โปรตีนจากปลาป่น 50 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนจากถั่วซึ่งมีการทรีตด้วยไฟเตส 16 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 และ 3 ดีที่สุด ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 มีประสิทธิภาพดีที่สุดรองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 และ 2 ตามลำดับ สำหรับการสะสมโปรตีน ปลาที่ได้รับอาหารสูตร 3 มีการสะสมโปรตีนสูงสุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตร 1 และ 2 ตามลำดับ จากการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสจะส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการย่อยและการสะสมโปรตีนจากพืช สอดคล้องกับการศึกษาของ Lanari *et al.* (1998) ศึกษาในปลาเรนโบว์เทราท์ โดยอาหารทดลองมีแหล่งโปรตีนจากปลาป่นและถั่ว ซึ่งใช้โปรตีนจากถั่ว 33 เปอร์เซ็นต์ อาหารทดลองมี 2 สูตร คือสูตรที่ไม่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส และสูตรที่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส โดยระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่ใช้ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสในอาหารจะมีผลให้เพิ่มการสะสมโปรตีนในตัวปลา นอกจากนี้ Cain and Garling (1995) ทดลองในปลาเรนโบว์เทราท์วัยอ่อน โดยอาหารทดลองมีวัตถุดิบส่วนใหญ่จากพืชมีแหล่งโปรตีนจากถั่ว พบว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสในอาหารจะมีการสะสมโปรตีนที่ดีกว่าการไม่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส

การที่เอนไซม์ไฟเตสมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากพืช ก็เพราะเมื่อระดับพีเอชต่ำ โปรตีนซึ่งมีประจุบวกจะจับตัวกับประจุลบของไฟเตท ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายไม่ได้ แต่เมื่อพีเอชสูงขึ้นโปรตีนจะกลายเป็นประจุลบ จึงมีแร่ธาตุจำพวกประจุบวก เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี เข้ามาเป็นตัวเชื่อม ประจุลบของโปรตีนและไฟเตททำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนรูป ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนลดลง (Kornegay and Yi, 1996; Knuckles *et al.,* 1989 อ้างโดย บุญล้อม และ สุชน, 2540) ส่วนในการรายงานของ Singh and Krikorian (1982); Spinelli *et al.* (1983); Robaina *et al.* (1998);

Forster *et al.* (1999) กล่าวว่าไฟเตทขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนทำหน้าที่ย่อยโปรตีนทำให้ลดประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่าไฟเตทยังขัดขวางการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เช่น โพเตส (protease), อะไมเลส (amylase) และไลเพส (lipase) (Kornegay and Yi, 1996; Knuckles *et al.,* 1989 อ้างโดย บุญล้อม และ สุชน, 2540) ดังนั้นการเสริมด้วยไฟเตสจึงเป็นการช่วยให้เอนไซม์ต่าง ๆ ทำงานได้ตามปกติ

4.4 ส่งเสริมการใช้แร่ธาตุ

เกลือของไฟติกหรือไฟเตท คือการรวมกันของกรดไฟติกกับฟอสเฟตและแร่ธาตุอื่นๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี ซึ่งจากการรายงานของ Devis *et al.* (1961) and Mega (1982) อ้างโดย บุญล้อม และสุชน (2540) พบว่ากรดไฟติก 1 โมเลกุลสามารถจับกับแคลเซียมได้ 3-6 โมเลกุล และที่ระดับพีเอชของลำไส้ทำให้เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลาย ซึ่งทำให้ไม่สามารถดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้ (Ensminger *et al.,* 1994) ส่วน Satoh *et al.* (1989) ทดลองในปลากดอเมริกันพบว่าปริมาณสังกะสีในกระดูกปลาจะลดลงเมื่อในอาหารมีระดับของกรดไฟติก 2.2 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับสังกะสี 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัมแต่จะไม่มีผลเมื่อมีระดับสังกะสี 150 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม ขณะที่ Gatlin and Phillips (1989) รายงานว่าปลากดอเมริกันที่เลี้ยงด้วยอาหารบริสุทธิ์มีระดับกรดไฟติก 1.5 เปอร์เซ็นต์ จะลดความสามารถในการใช้สังกะสีและเพิ่มความรุนแรงขึ้น เมื่อมีการเสริมด้วยแคลเซียมในระดับ 0.5 – 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร ส่วน Richardson *et al.* (1985) รายงานว่าประสิทธิภาพการใช้สังกะสีของปลาซัลมอลจะลดลงเมื่อมีการเสริมแคลเซียม 5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่มีระดับกรดไฟติก 2.58 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Porn – ngam (1995) รายงานว่าการดูดซึม ฟอสฟอรัส สังกะสี และปริมาณสังกะสี แมงกานิสในปลาซัลมอลจะลดลง เมื่อระดับกรดไฟติกในอาหารเพิ่มขึ้น ส่วน Richardson *et al.* (1985) รายงานผลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลาซัลมอลที่ได้รับอาหารที่มีระดับของไฟติก 2.58 แคลเซียม 5.1 และสังกะสี 0.05 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีผลทำให้กระเพาะอาหารปลาในส่วน cardiac มีการขับเมือกมากผิดปกติ และเกิดสภาวะการแบ่งเซลมากผิดปกติ (hypertrophied) ในส่วนของ pyloric ceca นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปร่างของถุงไทรอยด์ และเกิดการเสื่อมสลายของท่อไต ส่วน Clain and Gatlin. (1988) รายงานว่าความสามารถในการใช้สังกะสีของปลานิล (*O. aureus*) จะลดลงเมื่อมีระดับของกรดไฟติก

ในอาหาร 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยทดลองในอาหารบริสุทธิ์ (purified diet) ที่มีระดับสังกะสี 20 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม แต่จะไม่มีผลเมื่อมีระดับสังกะสี 150 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กรัม

ดังนั้นการที่เอนไซม์ไฟเตสทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรซิสในกรดไฟติก ไฟเตทหรือไฟติน จึงเป็นการช่วยให้แร่ธาตุต่างๆที่เกาะรวมอยู่มีโอกาสนำมาใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น การศึกษาของ Vielma *et al.* (1998) ทดลองในปลาเรนโบว์เทราว์ พบว่าการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสในอาหารจะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุในตัวปลาคือ แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมงกานิส และเปอร์เซ็นต์เถ้าในกระดูก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัส

2. เพื่อศึกษารูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศ

3. เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อยและการดูดซึมอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย องค์ประกอบของฟอสฟอรัสในตัวปลา เปอร์เซ็นต์เถ้าและปริมาณฟอสฟอรัสในมูลรวมทั้งศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของเนื้อเยื่อตับและไตของปลากลุ่มที่เสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสและปลากลุ่มที่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตรูปแบบต่างๆ