

ผลของไลโซเลซิดินในอาหารต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายอาหาร และการเจริญเติบโตของปลานิล

พอพงศ์ กาบเกสร¹ และบัณฑิต ยวงสร้อย^{1*}¹ ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

การเสริมไลโซเลซิดินระดับต่างๆ คือ 0.0125, 0.0250 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารปลานิล ที่มีการลดระดับโปรตีนลง 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบด้วยอาหารควบคุมที่มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่เสริมไลโซเลซิดิน ทำการอนุบาลปลานิล น้ำหนักเฉลี่ย 4.15 ± 0.10 กรัม/ตัว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง แบบเต็มอิม เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การเสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลานิลมีสัมประสิทธิ์การย่อยได้ (67.61 ± 3.44) ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (79.54 ± 2.17) และมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (0.84 ± 0.05) ดีที่สุด ($p < 0.05$) การเสริมไลโซเลซิดินทุกระดับทำให้ปลามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ($p > 0.05$) และการเสริมที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อัตราแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน มีค่าที่ดีขึ้น และไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม นอกจากนี้ทุกชุดการทดลองมีค่าโปรตีนสะสมในตัวปลา และปริมาณไขมันสะสมในช่องท้อง ที่ใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) แต่การเสริมที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ ปลานิลมีค่าดัชนีตับที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม การเสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ สามารถเสริมในอาหารที่มีการลดระดับโปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร สามารถช่วยให้ปลาเจริญเติบโตดี และส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่มสูงขึ้น และเป็นแนวทางในการช่วยลดต้นทุนการผลิตอาหารปลาได้อีกด้วย

คำสำคัญ: ไลโซเลซิดิน, ประสิทธิภาพการย่อย, การเจริญเติบโต, ปลานิล

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: bundyu@kku.ac.th

Effect of Dietary Lysolecithin on Nutrient Digestibility and Growth Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Porpong Karbkesorn¹ and Bundit Yuangsoi^{1*}

¹ Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

Abstract

Supplementation of varying levels of lysolecithin in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets were reduced 1% of crude protein containing total protein 29% at 0, 0.0125, 0.0250 and 0.0375 % in comparison with control group (30% of crude protein) as a basal diet. The experiment was conducted to study the effects of lysolecithin on nutrient digestibility and growth performance in tilapia with an average body weight of 4.15±0.10 g/fish. All fish were fed test diets twice a day to apparent satiation for 6 weeks. The results showed that lysolecithin supplementation at 0.0250 % increased significantly ($p<0.05$) digestibility coefficient (67.61±3.44), protein digestibility (79.54±2.17) and lipase activity (0.84±0.05). There were no differences in growth performance among treatments ($p>0.05$). However, feed conversion ratio (FCR) and protein efficiency ratio (PER) were best ($p<0.05$) for fish fed the diet supplemented with lysolecithin at 0.0250 %. Supplementation of lysolecithin in the diets did not significantly ($p<0.05$) affect on protein gain (PG) in whole body and intraperitoneal fat, while hepatosomatic index increased significantly ($p<0.05$) compared with the control group but had a lower of feed production cost than those of the control. The reduction of 1% crude protein and supplementation of 0.0250% Lysolecithin in fish diet has improved protein digestibility and feed conversion in fish related to decrease cost value of diet production.

Keywords: lysolecithin, digestibility, growth performance, Nile tilapia

*Corresponding author: bundyu@kku.ac.th

บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จัดเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ เลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตเร็ว การบริโภคปลานิลในประเทศไทยสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของ

การบริโภคปลาทั้งหมด (Piumsombun, 2003) ในปี 2556 ผลผลิตปลานิลภายในประเทศมีผลผลิตสูงถึง 197,595 ตัน (ศูนย์สารสนเทศกรมประมง, 2558) สามารถพัฒนาการผลิตได้อย่างไม่จำกัด อาจส่งผลให้เกิดการแข่งขันทั้งในด้านปริมาณ คุณภาพ และราคา (วรรณชัย, 2546) จากข้อมูลดังกล่าวทำให้อาหารสัตว์น้ำมีบทบาทต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์

น้ำเป็นอย่างมาก ในด้านต้นทุนผันแปรของการเลี้ยง มีผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรโดยตรง (ทรงศักดิ์, 2551) ในปัจจุบัน หลักการการผลิตอาหารสัตว์น้ำที่ตินั้น เมื่อสัตว์น้ำได้รับอาหารแล้ว ทำให้มีผลการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีต้นทุนการผลิตต่ำ และได้ผลตอบแทนกำไรสูงสุด เมื่อพิจารณาต้นทุนการอาหารสัตว์น้ำ ต้นทุนการผลิตส่วนใหญ่มาจากปลาป่น ซึ่งวัตถุดิบอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ ปกติสัตว์น้ำจะใช้โปรตีนส่วนที่เกินความต้องการในการเจริญเติบโต ไปเป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งเป็นการใช้แหล่งโปรตีนที่มีราคาแพงอย่างไม่คุ้มค่า (Lovell, 1989) สัตว์น้ำจะใช้ประโยชน์จากโปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อได้รับพลังงานจากส่วนประกอบของพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein energy) คือ คาร์โบไฮเดรตและไขมัน (Nankervis *et al.*, 2000) จึงจะนำไปสู่การใช้โปรตีนสูงสุดหรือการสำรองโปรตีน (protein-sparing effect) (Tan *et al.*, 2007)

ไลโซเลซิดินเกิดขึ้นเมื่อเอนไซม์ฟอสโฟไลเปส A₂ (Phospholipase A₂) ทำปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ตรงตำแหน่งคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของฟอสฟาติลโคลีน (Phosphatidylcholine) หรือเลซิดิน (Kini, 1997) จากโครงสร้างของไลโซเลซิดิน พบว่า มีคุณสมบัติช่วยทำให้ไขมันแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ (Emulsifying agent) สามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำ ทำให้ร่างกายมีการย่อย และการดูดซึมไขมันได้ดีขึ้น การเติมสารอิมัลซิไฟเออร์จากภายนอกในกระบวนการอิมัลซิฟิเคชัน (Emulsification) อาจช่วยให้ไขมันมีขนาดเล็กลง และมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งทำหน้าที่ย่อยไขมันได้ดีขึ้น (kussaibati, 1982) ปัจจุบัน มีการเสริมไลโซเลซิดิน จากภายนอก (Exogenous emulsifiers) ในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำให้ไขมันกระจายตัวได้ดีกว่าน้ำดี (Lennox *et al.*, 1968) ประสิทธิภาพการย่อยไขมันที่ดีในสัตว์น้ำ สามารถทำให้เพิ่มการใช้ประโยชน์จากไขมันได้มากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณพลังงานในร่างกายเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ (เวียง, 2542) และ การใช้ประโยชน์จากโปรตีนก็จะดีขึ้นตามไปด้วย (Sena *et al.*, 1990; Orire and Sadiku, 2011) ดังนั้น การศึกษาผลของการเสริมไลโซเลซิดินในอาหารปลาชนิด ต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายอาหาร และการเจริญเติบโตของปลานิลสามารถใช้เป็นแนวทางปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์น้ำ ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตที่ดี และเพิ่มขีดจำกัดในการใช้ประโยชน์จากแหล่งโปรตีนและไขมันอย่างมีประสิทธิภาพ ตลอดจนสามารถลดต้นทุนในการผลิตอาหารได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) โดยมี 5 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ (Replication) อาหารชุดควบคุมมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และอาหารทดลองที่มีการลดระดับโปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ และมีเสริมไลโซเลซิดินระดับที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารที่มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่เสริมไลโซเลซิดิน (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารที่มีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ ไม่เสริมไลโซเลซิดิน

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารที่มีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ เสริมไลโซเลซิดิน 0.0125 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารที่มีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ เสริมไลโซเลซิดิน 0.0250 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารที่มีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ เสริมไลโซเลซิดิน 0.0375 เปอร์เซ็นต์

2. การเตรียมปลาทดลอง

ทำการทดลองในปลานิลเพศผู้ น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 4.16 ± 0.09 กรัม/ตัว ปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับอาหารทดลอง เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยให้อาหารชุดควบคุม วันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 น. และ 16.00 น. จากนั้น ทำการคัดปลานิลให้มีขนาดใกล้เคียง กันในตู้กระจกความจุ 50 ลิตร อัตราการปล่อย 20 ตัว/ตู้ มีการให้อากาศ ตรวจวัดคุณภาพน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตลอดการทดลอง

3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองและตัวปลานิล

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง และปลาก่อนเริ่มทำการทดลองรวมทั้งปลานิลหลังสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า โดยวิเคราะห์ตามวิธี Proximate analysis (AOAC, 1990)

4. ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร (*In vivo* nutrient digestibility)

เก็บมูลปลาหลังจากให้อาหารทดลองที่มีการเติมสารบ่งชี้ (โครมิกออกไซด์) ในสูตรอาหาร เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากให้อาหาร 2 ชั่วโมง ทำการเก็บและรวบรวมมูลปลา ด้วยวิธี Water collection ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Boonyaratpalin and Phromkunthong

(2000) โดยใช้ถุงกรองขนาด 20 ไมครอน รองรับน้ำจากปลายสายยาง นำมูลที่รวบรวมได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณโครมิกออกไซด์ในอาหารและมูลตามวิธีของ ประเสริฐ และคณะ (2525) และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมันในมูล (AOAC, 1990) จากนั้น นำข้อมูลไปใช้ในการคำนวณประสิทธิภาพการย่อยอาหารต่อไป

5. ศึกษาการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร

ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง จนปลาอัมระเวลา 6 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักปลานิลโดยใช้เครื่องชั่งดิจิตอลและนับจำนวนปลาทุก ๆ 2 สัปดาห์ โดยเก็บข้อมูลน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; WG; กรัม/ตัว), การเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน (Average daily gain; ADG; กรัม/ตัว/วัน) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR; เปอร์เซ็นต์/วัน) ปริมาณการกินอาหาร (Feed intake; FI; กรัม/ตัว), อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) อัตราการรอดตาย (Survival rate; SR; เปอร์เซ็นต์) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ ทำการสุ่มตัวอย่างปลาจากทุกชุดการทดลองวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวปลา เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio; PER) โปรตีนเพิ่ม (Protein gain; PG) ทำการเก็บตับ และไขมันในช่องท้อง เพื่อประเมินค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index; HSI) และ ปริมาณไขมันสะสมในช่องท้อง (Intraperitoneal fat; IPF)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9.1

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

สัมประสิทธิ์การย่อยได้และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนและไขมันของอาหาร

ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และอาหารทดลองที่มีการลดระดับโปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ และมีเสริมไลโซเลซิดินในระดับที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 0.0125, 0.0250 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอาหาร และประสิทธิภาพการ

ย่อยโปรตีนในอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินในอาหารที่ใช้ในการอนุบาลปลานิลนั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอาหารและประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงสุด มีค่า 67.67±3.44 และ 79.54±2.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Li *et al.* (2010) ที่รายงานว่า อาหารปลานิลที่ได้รับการเสริมไลโซเลซิดิน ที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของอาหาร สูงกว่าอาหารที่ไม่ได้เสริมไลโซเลซิดิน ($p < 0.05$) ในขณะที่ประสิทธิภาพการย่อยไขมันในอาหารทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 69.34 – 83.95 เปอร์เซ็นต์ จากการสังเกต พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มทำให้ประสิทธิภาพการย่อยไขมันสูงกว่าการเสริมไลโซเลซิดินระดับอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 83.95±1.58 เปอร์เซ็นต์ ไลโซเลซิดินจัดเป็นสารมีขั้ว และไม่มีขั้วอยู่ในโมเลกุล เดียวกัน (amphipathic molecule) (พชร และคณะ, 2551) นอกจากนี้ และโครงสร้างของไลโซเลซิดินสามารถช่วยทำให้ไขมันแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็ก (emulsifying agent) ในกระบวนการอิมัลซิฟิเคชัน (emulsification) (Deuel, 1951) เป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของไขมันให้สัมผัสกับเอนไซม์ไลเปสได้มากขึ้น Lennox *et al.* (1968) ส่งผลให้เกิดประสิทธิภาพการย่อยไขมันในอาหารดีขึ้น (Jones *et al.*, 1992) นอกจากนี้ การเสริมไลโซเลซิดินในอาหารสามารถทำให้เกิด micelles ขนาดเล็ก ซึ่งส่งผลให้มีการดูดซึมผ่านผนังเซลล์ได้ง่ายขึ้น (Reynier *et al.*, 1985)

กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

ผลการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ที่สกัดได้จากทางเดินอาหารทั้งหมดของปลานิล หลังจากการอนุบาลด้วยอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสจากทางเดินอาหารทั้งหมดของปลานิลทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่า 1.15±0.07, 1.18±0.06, 1.20±0.08, 1.14±0.07 และ 1.16±0.07 mU/mg protein⁻¹ ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสในปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินนั้นมีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.84±0.05 และ 0.80±0.05 $\mu\text{mol } p\text{-nitrophenol h}^{-1}\text{mg protein}^{-1}$ ตามลำดับ จากการเสริมไลโซเลซิดินในอาหารปลานิล สามารถชี้ให้เห็นว่าปลานิลสามารถใช้ประโยชน์จากไขมันได้ดีขึ้น เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่มีค่า

สูงขึ้นเมื่อมีการเสริมไลโซเลซิดินเพื่อตอบสนองต่อการใช้ย่อยของไขมัน (Fat hydrolysis) หลังจากไขมันผ่านกระบวนการอิมัลซิฟิเคชัน (Singh *et al.*, 2009; Golding and Wooster, 2010)

การเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากสารอาหาร

ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และอาหารทดลองที่มีการลดระดับโปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ และมีเสริมไลโซเลซิดินระดับที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 0.0125, 0.0250 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอด (SR) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุมที่ไม่เสริมไลโซเลซิดิน อย่างไรก็ตาม ปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีอัตราแลกเนื้อต่ำสุด (1.35 ± 0.04) เมื่อเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินที่ระดับอื่นๆ ($p < 0.05$) และมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมไลโซเลซิดิน ในอาหารเลย Blarin and Haller (1982) รายงานว่าอัตราการแลกเนื้อที่ต่ำลงเป็นผลมาจากกระบวนการย่อยอาหารที่สมบูรณ์ทำให้สามารถดูดซึมสารอาหารได้มากขึ้น Lennox *et al.* (1968) และ Zeisel (1990) รายงานว่า ไลโซเลซิดินสามารถช่วยเพิ่มระดับการย่อยและดูดซึมไขมันภายในลำไส้ ทำให้กรดไขมันมีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ ที่ได้รับอาหารเสริมไลโซเลซิดิน ที่ระดับ 0.0250 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าดัชนีตับ (hepatosomatic index; HSI) สูงกว่าสูตรอาหารอื่นๆ ($p < 0.05$) ค่าดัชนีตับมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับระดับของโปรตีนและพลังงานที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการสะสมไกลโคเจน (glycogen) ในตับเพิ่มมากขึ้นจากอาหารที่มีพลังงานและไขมันที่สูง (Brown *et al.*, 1992) จากผลการทดลองซึ่งสอดคล้องกับ Li *et al.* (2010) รายงานว่า ในการเสริมไลโซเลซิดินในสูตรอาหารปลานิล มีน้ำหนักเฉลี่ย 5.35 ± 0.02 กรัม พบว่า สูตรอาหารที่เสริมไลโซเลซิดิน ที่ระดับ 0.0125 และ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลานิลมีค่าน้ำหนักเพิ่ม, อัตราการเจริญจำเพาะต่อวัน มีค่าดัชนีตับ และค่าดัชนีไขมันในช่องท้องมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่เสริมไลโซเลซิดิน (ชุดควบคุม) ($p < 0.05$) จากผลทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการลดระดับโปรตีน และมีการเสริมไลโซเลซิดินในสูตรอาหารปลานิล มีความเป็นไปได้ว่า ช่วยให้มีการนำกรดไขมันมาใช้เป็นแหล่งพลังงานเพิ่มมากขึ้น ไลโซเลซิดินสามารถช่วยเพิ่มระดับการย่อย และดูดซึมไขมันในระบบทางเดินอาหาร ทำให้กรดไขมันที่ได้รับมีปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ Page and Andrew (1973) รายงานว่า ปลาที่ได้รับโปรตีนต่ำจะทำให้มีการ

เจริญเติบโตช้า เนื่องจากคุณภาพของโปรตีนหรือสัดส่วนของโปรตีนและพลังงานไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ สัดส่วนระหว่างระดับโปรตีน และไขมัน (น้ำมันปลา) ที่เหมาะสมในสูตรอาหารปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 8.05 ± 0.05 กรัม นั้น มีค่าเท่ากับ 30:10 เปอร์เซ็นต์ ที่ส่งผลให้ปลานิลมีอัตราการแลกเนื้อที่ต่ำลง, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, ปริมาณการกินอาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ที่สูงขึ้น ($p < 0.05$) (Orire and Sadiku, 2011) นอกจากนี้ Sena *et al.* (1990) รายงานว่า สัดส่วนระหว่างระดับโปรตีนและไขมันที่เหมาะสมในสูตรอาหารปลานิลแดง (*O. mossambicus* × *O. niloticus*) ขนาด 1.18 กรัม พบว่า อาหารที่มีระดับไขมัน 18 เปอร์เซ็นต์ นั้นสามารถใช้ได้กับระดับโปรตีนในอาหาร 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยส่งผลให้ปลานิลมีการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม มีรายงานในปลาหลายชนิด ที่พบว่า การเพิ่มระดับไขมันหรือพลังงานในอาหาร จะสามารถช่วยลดระดับโปรตีนในอาหารลงได้โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำลดลง (protein sparing effect) (Tibaldi *et al.* 1996; Skalli *et al.* 2004; Vergara *et al.* 1996; Company *et al.* 1999; Santinha *et al.* 1999; Lupatsch *et al.* 2001)

จากการทดลอง พบว่า อาหารเสริมไลโซเลซิดิน ทั้ง 5 ระดับ ไม่มีผลต่อโปรตีนที่เพิ่มขึ้นในตัวปลา ($p > 0.05$) ระดับโปรตีนที่สะสมในตัวปลาขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่กิน และการใช้ประโยชน์จากอาหารที่ปลาได้รับ จึงทำให้น้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้นปริมาณโปรตีนที่มีในเนื้อปลาก็จะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย วิมล และ กิจจา (2535) รายงานว่า ในการเลี้ยงลูกปลานิลแดงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกัน คือ 16.5, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า โปรตีนของตัวปลานิลแดง (น้ำหนักแห้ง) มีค่าเท่ากับ 89.86, 91.23 และ 91.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่การศึกษารั้งนี้การลดโปรตีนลง 1 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร และมีการเสริมไลโซเลซิดิน กลับทำให้การสะสมโปรตีนในกล้ามเนื้อไม่มีความแตกต่างจากปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมส่วนประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ในสูตรอาหารที่เสริมไลโซเลซิดินทั้ง 5 ระดับ ที่โปรตีนระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 29 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการเสริมไลโซเลซิดินที่ระดับ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ การประสิทธิภาพการใช้โปรตีนลดลง วุฒิพร และคณะ (2540) รายงานว่า เมื่อเกิดความสมดุลของสัดส่วนของโปรตีน และพลังงานในอาหาร ปลาจะใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงาน และใช้โปรตีนสำหรับการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในปลานิลพบว่า

อาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีน และไขมันที่เหมาะสม ส่งผลให้ปลาชนิดนี้มีการเจริญเติบโต และมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่สูงขึ้น (De Silva *et al.*, 1991; Orire and Sadiku, 2011; and Sena *et al.*, 1990)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของการเสริมไลโซเลซิทินในอาหารของปลานิลในสูตรอาหารที่มีการลดระดับโปรตีนลง 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับโปรตีน 29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการเสริมไลโซเลซิทินที่ระดับต่างๆ กัน คือ 0, 0.0125, 0.025 และ 0.0375 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุมที่มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการเสริมไลโซเลซิทิน ทำการอนุบาลปลานิลน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 4.15 ± 0.10 กรัม/ตัว เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนระดับ 29 เปอร์เซ็นต์ และเสริมไลโซเลซิทินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ทำให้ปลานิลมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และมีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสดีที่สุดในส่วนอัตราแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้

โปรตีน ดีขึ้นโดยใกล้เคียงกับปลานิลที่ได้รับอาหารที่ได้รับอาหารชุดควบคุม ในขณะที่เดียวกันกับการเสริมไลโซเลซิทินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร มีผลทำให้ค่าดัชนีดัชนีในปลานิลสูงขึ้นไปด้วย อย่างไรก็ตาม การเสริมไลโซเลซิทินที่ระดับ 0.0250 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลานิลที่มีการลดระดับโปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ หรือปริมาณปลาปน 6 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลานิลได้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ ประจำปีการศึกษา 2557 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

Table 1 Ingredients and chemical composition of experimental diets

Ingredients (%)	Levels of lysolecithin (%)				
	0	0	0.0125	0.0250	0.0375
	30% CP	29%CP	29%CP	29% CP	29% CP
Fish meal(60%CP)	33	27	27	27	27
Soybean meal (45%CP)	10	12	12	12	12
Rice bran	36	44	44	44	44
Corn meal	9	5	5	5	5
Soybean oil	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Fish oil	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
α -starch	5	5	5	5	5
Dicalcium phosphate	1	1	1	1	1
Vitamin-mineral premix ¹	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100
Proximate composition by analysis (% dry weight on basis)					
Moisture	8.78	7.74	7.91	8.24	8.49
Ash	11.38	10.78	10.41	10.98	10.92
protein	30.32	29.43	29.33	29.38	29.41
fat	12.81	12.76	12.67	13.05	12.25

fiber	1.06	0.96	0.97	0.94	0.95	Not e: ¹ Vita
Feed cost (baht/kg)	32.20	30.56	30.58	30.60	30.62	

min and mineral mixture provided the following per kg diet: vitamin A 1,130,000 IU, vitamin D3 1,043,170 IU, vitamin E 30,000 IU, vitamin K3 3.25 g, vitamin B1 12 g, vitamin B2 5 g, vitamin B6 30 g, vitamin B12 12 g, vitamin C 30 g, cholinechloride 5g, niacin 10 g, pantothenic acid 27 g, selenium 30 mg, calcium 30 g.

Table 2 The digestibility performances and enzyme activities of Nile tilapia fed diets Nile tilapia fed diets containing different level of Lysolecithin. (Mean \pm SD)

Parameters	Levels of lysolecithin (%)					P-value
	0 30% CP	0 29% CP	0.0125 29% CP	0.0250 29% CP	0.0375 29% CP	
Digestibility coefficient	47.61 \pm 3.63 ^c	59.20 \pm 3.47 ^b	43.42 \pm 3.77 ^c	67.61 \pm 3.44 ^a	35.00 \pm 2.78 ^d	0.0001
Protein digestibility	67.29 \pm 1.94 ^c	74.23 \pm 2.19 ^b	64.26 \pm 2.37 ^c	79.54 \pm 2.17 ^a	58.90 \pm 1.74 ^d	0.0001
Lipid digestibility	77.62 \pm 3.29	76.70 \pm 0.14	75.62 \pm 1.02	83.95 \pm 1.58	69.34 \pm 5.13	0.0654
Protease activity ¹	1.15 \pm 0.07	1.18 \pm 0.06	1.20 \pm 0.08	1.14 \pm 0.07	1.16 \pm 0.07	0.2786
Lipase activity ²	0.64 \pm 0.05 ^b	0.64 \pm 0.04 ^b	0.71 \pm 0.04 ^b	0.84 \pm 0.05 ^a	0.80 \pm 0.05 ^a	0.0001

Note Means within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

1 Expressed as increase in absorbance at 440 nm h⁻¹ mg protein⁻¹ (mU/mg protein⁻¹)

2 Expressed as increase in absorbance at 410 nm h⁻¹ mg protein⁻¹ (μ mol p-nitrophenol h⁻¹ mg protein⁻¹)

Table 3 Growth performance and feed utilization of tilapia fed with experimental diets for 6 weeks. (Mean \pm SD)

Parameters	Levels of lysolecithin (%)					P-value
	0 30% CP	0 29% CP	0.0125 29% CP	0.0250 29% CP	0.0375 29% CP	
SGR	3.27 \pm 0.16	3.32 \pm 0.19	3.44 \pm 0.09	3.30 \pm 0.03	3.23 \pm 0.0.11	0.3797
FCR	1.35 \pm 0.17 ^b	1.39 \pm 0.11 ^{ab}	1.41 \pm 0.02 ^{ab}	1.35 \pm 0.04 ^b	1.51 \pm 0.07 ^a	0.0435
PG	0.24 \pm 0.01	0.27 \pm 0.02	0.26 \pm 0.01	0.25 \pm 0.01	0.24 \pm 0.01	0.0552
PER	0.45 \pm 0.05 ^a	0.49 \pm 0.02 ^a	0.50 \pm 0.04 ^a	0.49 \pm 0.04 ^a	0.41 \pm 0.08 ^b	0.0443
SR	97.50 \pm 5.00	98.33 \pm 2.89	98.75 \pm 2.50	97.50 \pm 2.89	93.75 \pm 4.79	0.4139
HSI	1.15 \pm 0.04 ^c	1.33 \pm 0.14 ^{ab}	1.22 \pm 0.02 ^{bc}	1.42 \pm 0.07 ^a	1.38 \pm 0.06 ^a	0.0052
IPF	0.91 \pm 0.13	1.04 \pm 0.54	1.33 \pm 0.13	1.22 \pm 0.36	1.31 \pm 0.30	0.4860

Note Means within the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

- จันทกานต์ นุชสุข, อรุณี อิงคากุล, อุทัยวรรณ โกวิทาทิ และอรพินท์ จินตสถาพร. 2549. คุณลักษณะของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลาสวายหนู (*Heligophagus leptorhynchus*, Ng & Kottelat, 2000).. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.
- ทรงศักดิ์ จำปาอะดี. 2551. อาหารและการใช้อาหารในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. พิมพ์ครั้งที่1 คณะสัตวแพทยศาสตร์ และสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. จังหวัดมหาสารคาม. 249หน้า.
- ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, มะลิ บุญรัตน์ผลิน, นันทิยา อุ่นประเสริฐ. 2525. อาหารปลา. สถาบันการประมงน้ำจืดกองประมงน้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ 88 หน้า
- รุ่งกานต์ กล้าหาญ, นนทวิทย์ อารีชัยน, เรื่องวิญญูยืนพันธ์ และ อรุณีอิงคากุล. 2551. กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารในปลา นิล (*Oreochromis niloticus*, L.) ที่ขนาดต่างๆ. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมงปีที่ 2 ฉบับที่ 2. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 33-44.
- วรรณชัย พรหมเกิด. 2546. ผลของแหล่งวัตถุดิบพืชต่อประสิทธิภาพการย่อยและการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 133.
- วิมล จันทโรทัย และ กิจจา ใจเย็น. 2535. การศึกษาชนิดของอาหารสำเร็จรูปเพื่อใช้ในการเลี้ยงลูกปลานิลสีแดง.สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 11น.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง, วิมล จันทโรทัย, นรินทร์ สงสีจันท์ และนพพร มานะจิตต์. 2540. ระดับโปรตีนในอาหารที่เหมาะสมต่อปลากดเหลืองขนาดปลานี้. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตหาดใหญ่ 19(3): 327-335.
- เวียงเชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255หน้า.
- ศูนย์สารสนเทศกรมประมง. 2558. สถิติการประมงปี 2556. กรมประมง. (สืบค้นเมื่อ 10 มกราคม 2558) Available from: URL: http://www.fisheries.go.th/it-stat/yearbook/data_2556/Yearbook/yearbook2013-1.7.pdf
- AOAC. 1990. Official method of analysis, 13 th Edition Association of Official Analytical Chemist. Washington. D.C., USA
- Balarin, J.D., and Haller, R.O. 1982. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and cages. In Muir, J.R., Roberts, R.J. (eds.). Recent and advance in aquaculture. Croom helm publisher, London, England. p. 267-355.
- Bezerra, A.R.G.F., Malafaia, P., Mancini, M.C., Bezerra, E.S. and Vieira, R.A.M. 2005. Kinetic parameters of the ruminal *in vitro* degradation of feedstuffs given to different ruminant species. Arq. Bras. Med. Vet. Zootech. 57 (4): 494-501.
- Boonyaratpalin, M., and Phromkunthong, W. 2000. Effects of Ronozyme VP treated rice bran and oil palm meal on growth of sex reversed *Tilapia nilotica*. The 6th Roche Aquaculture Conference Asia Pacific, Bangkok, Thailand, September 29.
- Brown, M., Nematipour, G.R. and Gatlin, D.M. 1992. Dietary protein requirement of juvenile sunshine bass at different salinities. Prog. Fish-Cult. 54: 148-156.

- Company, R., Calduch-giner, J.A., Perez-sanchez, J. and Kaushik, S.J. 1999. Protein sparing effect of dietary lipids in common dentex (*Dentex dentex*): a comparative study with sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources* 12: 23–30.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Shim, K.F. 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. *Aquaculture* 95: 305-318.
- De Silva, S.S., Rasanthi, M., Gunasekera and Shim, K.F. 1990. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. Department of Zoology. v, National University of Singapore, Singapore. 305-318.
- Furukawa, A., and Tsukahara, H. 1966. On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 32:502-506.
- Golding, M. and Wooster, T.J. 2010. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15:90–101.
- Jones, D.B., Hancock, J.D., Harmon, D. and Walker, C.E. 1992. Effects of exogenous emulsifiers and fat sources on nutrient digestibility, serum lipids, and growth performance in weanling pigs. *J. Anim. Sci.*, 70: 3473–3482.
- Lennox, A.M., Lough A.K. and Garton, G.A. 1968. Observations on the nature and origin of lipids in the small intestine of the sheep. *British Journal of nutrition* 22, 237-246.
- Li, H.T., Tian, L.X., Wang Y.D. and HU, Y.h. 2010. Effect of lysolecithin on growth performance, body composition and hematological indices of hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* ♂ × *Oreochromis niloticus* ♀). *Journal of Dalian Fisheries University*. SunYat-sen University. 7-44.
- Lim, C. and Dominy, W.G. 1989. Utilization of plant proteins by warm water fish. Paper Presented at the AOCS World Congress on Vegetable Protein Utilization in Human Food and Animal Feed-stuff, 2-7 october 1988, Singapore. ASA Technical Bulletin, Vol. 3AQ15 89-4. 13 p.
- Lovell, T. 1989. Nutrition and feeding of fish. Van Nostr and Reinhold, New York. 260 pp.
- Lupatsch, I., Kissil, G.W., Sklan, D. and Pfeffer, E. 2001. Effects of varying dietary protein and energy supply on growth, body composition and protein utilization in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 7: 71–80.
- Nankervis L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient retention and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 191:323-335.
- NRC. 1993. Nutrient requirements of fish. National Academy Press. Washington, D.C.
- Markweg, H., Lang, M.S. and Wagner, F. 1995. Dodecanoic acid inhibition of lipase from *Acinetobacter* sp. OPA 55. *Enz. Microb. Tech.* 17: 512 – 516.
- Orire, A.M. and Sadiku, S.O.E. 2011. Protein sparing effects of lipids in the practical diets of *Oreochromis Niloticus* (Nile tilapia). *Nig. J. Basic Appl. Sci.* 19(1): 142-150.
- Page, J.M. and Andrew, J.W. 1973. Interaction of dietary level of protein and energy on channel catfish. Chemists, Washington DC.
- Piumsombun, S. 2003. Analysis of demand for fish consumed at home in Thailand. *Fisheries Gazette*, 56: 113–121.
- Reynier, M.O., Lafont, H., Crotte, C., Sauve, P. and Gerolami, A. 1985. Intestinal cholesterol uptake: comparison between mixed micelles containing lecithin or lysolecithin. *Lipids*, 20: 145-150.

- Santinha, P.J.M., Medale, F., Corraze, G. and Gomes, E.F.S. 1999. Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrients utilization in gilthead Seabream (*Sparus aurata* L). *Aquaculture Nutrition*, 5: 147–156.
- Skalli, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E., Arizcun, M. and Cardenete, G. 2004. Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex* L.) at different growth stages. *Aquaculture* 235: 1–11.
- Singh, H., Ye, A., and Horne, D. 2009. Structuring food emulsions in the gastro intestinal tract to modify lipid digestion. *Prog. Lipid Res.* 48:92–100.
- Steve, B. 2012. Understanding dietary fats and oils: A scientific guide to their health effects. College of Word health. 238p.
- Stone, D.A.J. 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 337-369.
- Shiau, S.Y. and Lung, C.Q. 1993. No dietary vitamin B12 required for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. aureus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 105A: 147 – 150.
- Tan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W. and Yang, Y. 2007. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid rations on growth and feed utilization in Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Gunther). *Journal of Applied Ichthyology* 23: 605-610.
- Tacon, A.G.J. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrim- atraning manual. The essential-nutrients. GCP/RLA/075/ITA Field Document 2, FAO, Brasilia, Brazil 129 p.
- Tibaldi, E., Robaina, L., Izquierdo, M. and De La Higuera, M. 1996. Growth response of juvenile dentex (*Dentex dentex* L.) to varying protein level and protein to lipid ratio in practical diets. *Aquaculture* 139:91–99.
- Vergara, J.M., Robaina, L., Izquierdo, M. and De La Higuera, M. 1996. Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream. *Fisheries Science.* 62: 624–628.
- Zeisel, S.H. 1990. Choline deficiency. *J. Nutr. Biochem.* 1: 332-34.