

เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตท และอนินทรีย์ฟอสฟอรัส
ในข้าวโพดลูกผสมงอก 2 พันธุ์ (สุวรรณ 3 และแปซิฟิก 999)

Comparison of Phytase Activity, Content of Phytate and Inorganic Phosphorus in Two Hybrid
Varieties (Suwan 3 and Pacific 999) of Germinated Maize (*Zea mays* L.)

จริยา ไทยเพิ่มพูน¹ จันทกานต์ น้อยสวาด¹ ยอดขวัญ ชื่นจิตพวง¹ พรรณธิภา ณ เชียงใหม่¹ และยุภา ปู่แดงอ่อน¹

Jariya Thaipuempun¹, Junthakan Noisawad¹, Yortkuan Cheunjitphuang¹, Pantipa Na Chiangmai¹

and Yupa Pootaeng-on¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตท และอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในข้าวโพดลูกผสมกำลังงอก 2 พันธุ์ ที่ระยะการงอกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ 2×4 factorial in CRD โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ข้าวโพดลูกผสม 2 พันธุ์ (สุวรรณ 3 และแปซิฟิก 999) และระยะการงอก 4 ระยะ (เมล็ดปกติ และในต้นกล้าที่ระยะการงอก 1 6 และ 11 วัน) ผลการทดลอง พบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กับระยะการงอกทั้ง 3 ลักษณะที่ศึกษา ดังนี้ กิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสมีค่าสูงขึ้นตามระยะการงอกแต่มีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ ($p < 0.05$) โดยกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสของข้าวโพดทั้ง 2 พันธุ์ ไม่ต่างกันในระยะการงอก 5 วัน แต่แตกต่างกันในระยะการงอก 11 วัน โดยข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ขณะที่ข้าวโพดพันธุ์แปซิฟิก 999 มีค่าไม่แตกต่าง ลักษณะปริมาณไฟเตทพบว่า มีระดับลดลงตามระยะการงอก ซึ่งพันธุ์สุวรรณ 3 มีปริมาณไฟเตทต่ำกว่าพันธุ์แปซิฟิก 999 ทั้งที่ระยะการงอก 1 และ 6 วัน แต่ไม่แตกต่างกันที่ระยะการงอก 11 วัน สำหรับปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส พบว่าพันธุ์สุวรรณ 3 มีค่าเพิ่มสูงขึ้นหลังการแช่น้ำ (ระยะการงอก 1 วัน) ขณะที่พันธุ์แปซิฟิก 999 มีค่าไม่ต่างจากเมล็ดปกติ ($p < 0.01$) อย่างไรก็ตาม พบว่าในพันธุ์แปซิฟิก 999 มีปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 ทั้งในระยะการงอก 6 วัน และ 11 วัน

คำสำคัญ: ไฟเตส ไฟเตท อนินทรีย์ฟอสฟอรัส ข้าวโพดงอก

ABSTRACT

The objective of this study is to compare the phytase activity, phytate and inorganic phosphorus contents in two germinated maize varieties at different of stage of germination. The experiment was conducted by 2×4 factorial in CRD, which arranged the treatments with two varieties of maize (Suwan 3 and Pacific 999) and four stages of seed germination (normal seed and seedling at germination stage at day 1, 6 and 11). The results showed the significant interaction between varieties and germination stages

¹ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี จ. เพชรบุรี 76120

Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, IT Campus, Petchburi 76120

on three characteristics. The phytase activity progressively increased with the increasing stages of germination and was significantly difference by varieties ($p < 0.01$). The increasing of phytase activity was not different between Suwan 3 and Pacific 999 in seedling stage at 1 and 6 days. However, the value of phytase activity was high in Suwan 3 more than Pacific 999 at 11 days. At day 11, the phytase activity of Suwan 3 increased higher than Pacific 999 ($p < 0.01$). The phytate content progressively decreased with the developing stage of germination ($p < 0.05$). The phytate content of Suwan 3 in seedling stage at day 1 and day 6 was lower than Pacific 999, but there was no difference on the value at day 11. The inorganic phosphorus content was increasing in germinated seed at 1 day from normal seed but was not found this evidence in Pacific 999 ($P < 0.01$). However, the inorganic phosphorus content of Pacific 999 had high value than Suwan 3 both at 6 and 11 days after germination.

Key Words: phytase, phytate, inorganic phosphorus, germinated maize

E-mail: p_yupa120@hotmail.com

คำนำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เป็นแหล่งพลังงานและแร่ธาตุที่สำคัญในอาหารสัตว์ที่มีต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ทั้งนี้ องค์ประกอบส่วนใหญ่ในอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ได้แก่ เมล็ดธัญพืชต่าง ๆ เนื่องจากธัญพืชยังมี แร่ธาตุต่าง ๆ โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัส โดยพบว่าส่วนใหญ่ประมาณ 60-80% ของฟอสฟอรัสในธัญพืชอยู่ในรูปของไฟเตท (Phytate) ซึ่งไฟเตทเป็นอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านโภชนะ โดยเป็นสารคีเลต (chelate) สามารถจับกับไอออนของธาตุที่ประจุ +2 และ +3 เช่น Fe^{2+} Fe^{3+} Ca^{2+} Cu^{2+} Mg^{2+} Mn^{2+} และ Zn^{2+} (Jongbloed *et al.*, 1992) มีผลทำให้ร่างกายมีความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุมาใช้ประโยชน์ได้ลดลง (Wei *et al.*, 2007) และนอกจากนี้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่มีเอนไซม์ไฟเตส (phytase) ที่ช่วยย่อยไฟเตท ทำให้สัตว์ไม่สามารถนำฟอสฟอรัสในเมล็ดธัญพืชไปใช้ประโยชน์ได้ (Jongbloed *et al.*, 1992; Sebastian *et al.*, 1996) เกษตรกรจึงต้องเสริมอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์เพื่อให้เพียงพอแก่ความต้องการของสัตว์ อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่เสริมในอาหารสัตว์อยู่ในรูปฟอสเฟต (phosphate, PO_4^{3-}) ซึ่งการเพิ่มอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในอาหาร เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ แต่ทำให้มีฟอสฟอรัสเกินความต้องการในอาหาร เนื่องจากยังมีฟอสฟอรัสปริมาณมากในเมล็ดธัญพืช แต่สัตว์ยังไม่สามารถนำมาใช้ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ฟอสฟอรัสส่วนเกินที่มีการขับออกมาจะส่งผลถึงสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มต้นทุนของการผลิตอาหารสำหรับเกษตรกร (McCann *et al.*, 2004)

ปัจจุบันมีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารสัตว์เพื่อช่วยให้การใช้ประโยชน์ได้ของฟอสฟอรัสในอาหารเพิ่มขึ้น และสามารถลดการใช้ฟอสฟอรัส และสารอาหารอื่นลงได้ (บุญล้อม และสุชน, 2540) รวมทั้งยังลดการขับออกของฟอสฟอรัสในมูล และลดการตกค้างของฟอสฟอรัสในดินด้วย นอกจากนี้ยังส่งผลให้สมรรถภาพการผลิตได้แก่ ผลผลิตไข่ ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น

เอนไซม์ไฟเตสทำหน้าที่ย่อยไฟเตท โดยตัดพันธะฟอสเฟตเอสเทอร์ปลดปล่อยหมู่ฟอสเฟตอิสระ (available phosphate) ซึ่งเป็นรูปที่สัตว์สามารถดูดซึมเอาฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตอิสระนี้ไปใช้ประโยชน์ได้ เอนไซม์ไฟเตสที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันเป็นเอนไซม์ที่แยกได้จากจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* (Saneoka et al., 2003) เป็นต้น

นอกจากนี้ในเมล็ดพืชที่กำลังงอกยังมีการผลิตเอนไซม์ไฟเตสขึ้นเองเพื่อนำมาใช้ในการย่อยไฟเตทที่เมล็ดพืชสะสมไว้ และปลดปล่อยฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตออกมาเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารตัวกลางต่าง ๆ เพื่อการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ (Kyriakidis et al., 1998; Senna et al., 2006)

การศึกษานี้จึงมีแนวคิดในการศึกษาผลของระยะเวลาการงอกต่อระดับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตท และอนินทรีย์ฟอสฟอรัส เปรียบเทียบระหว่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 2 พันธุ์ คือพันธุ์สุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เกษตรกรนิยมเพาะปลูกและนำมาใช้กันอย่างมากในการเลี้ยงสัตว์

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมข้าวโพดทดลอง

เมล็ดข้าวโพดที่ศึกษา ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น และฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ในสารละลาย 2% NaOCl 10 นาที ล้างเมล็ดข้าวโพดด้วยน้ำกลั่นจนมี pH เป็นกลาง แล้วแช่ด้วยน้ำกลั่น นาน 24 ชั่วโมง นับเริ่มต้นเป็นต้นกล้า (seedling) ที่ระยะการงอก 1 วัน แล้วนำเมล็ดข้าวโพดไปเพาะบนกระดาษรองปลูก นำไปวางในที่มืด ให้น้ำเข้า-เย็น โดยการให้น้ำแบบสเปรย์ เพื่อให้เกิดกระบวนการงอก เป็นระยะเวลา 11 วัน เก็บตัวอย่างที่ระยะ 4 ระยะ คือ เมล็ด (ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ) ต้นกล้าที่ระยะการงอกที่ 1 6 และ 11 วัน มาศึกษาโดยวิเคราะห์รวมหมดทุกส่วนของเมล็ด และทุกส่วนของต้นกล้าที่แต่ละระยะงอก ทำการวิเคราะห์โดย แบ่งตัวอย่างสดมาวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสตามวิธีร่วมของ Senna et al., (2006) และ Fujian Fuda Biotech Co., Ltd. (n. d.) และแบ่งตัวอย่างอีกส่วนไปอบแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 3 วัน ทิ้งให้เย็น และบดละเอียดให้มีขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.5 mm เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไฟเตท ตามวิธีร่วมของ Gao et al., (2007) และ Raboy et al., (2000) และปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ตามวิธีร่วมของ Chen et al., (1956) และ Raboy et al., (2000)

แผนการทดลอง

เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตท และปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ในข้าวโพดงอก โดยวางแผนการทดลองแบบ 2x4 factorial in CRD ทำการทดลอง 10 ซ้ำ แบ่งปัจจัยการทดลองออกเป็น 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1 พันธุ์ข้าวโพดที่ใช้เลี้ยงสัตว์ 2 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 และปัจจัยที่ 2 ระยะการงอก 4 ระยะ ได้แก่ เมล็ดปกติ และต้นกล้าที่ระยะการงอก 1 6 และ 11 วัน วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทั้งหมดตามแผนการทดลองแบบ 2x4 factorial in CRD และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าสังเกตของ สิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS for window (SPSS, USA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตส และอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในข้าวโพดกำลังงอก โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ข้าวโพดที่ใช้เลี้ยงสัตว์ 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 และ ปัจจัยที่ 2 เปรียบเทียบระยะเวลาการงอกที่แตกต่างกัน 4 ระยะ คือ เมล็ดปกติ และต้นกล้าที่ระยะงอก 1 6 และ 11 วัน ตามลำดับ ผลการทดลองมีดังนี้

กิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส

กิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 สูงกว่าพันธุ์แปซิฟิก 999 ($p < 0.05$) และพบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างเมล็ดกับต้นกล้าที่ระยะการงอกต่าง ๆ ($p < 0.01$) โดยระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้นจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสเพิ่มสูงขึ้นและสูงกว่าเมล็ดปกติ ตามลำดับ นอกจากนี้ในลักษณะดังกล่าวยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และระยะเวลาการงอก ($p < 0.01$) แม้จะไม่พบความแตกต่างของระดับกิจกรรมเอนไซม์ไฟเตส ระหว่างข้าวโพด 2 พันธุ์ ในเมล็ด และต้นกล้าที่ระยะการงอก 1 วัน และ 6 วัน แต่มีความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ในต้นกล้าที่ระยะการงอก 11 วัน โดยพันธุ์สุวรรณ 3 มีระดับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสสูงขึ้นหลังจากระยะเวลาการงอกที่ 6 วันถึงระยะเวลาการงอกที่ 11 วัน หรือมีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 8.5 เท่า และ 11.5 เท่าของเมล็ดตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์แปซิฟิก 999 มีระดับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสสูงขึ้นในระยะเวลาการงอก 6 วัน (ประมาณ 5.5 เท่าของเมล็ด) แต่เมื่อระยะเวลาการงอกนานขึ้นถึงวันที่ 11 (ประมาณ 5.1 เท่าของเมล็ด) พบว่าในพันธุ์ดังกล่าวยังคงมีกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสที่ไม่แตกต่างจากในระยะเวลาการงอกที่ 6 วัน

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระดับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในข้าวโพดขึ้นกับความแตกต่างกันทั้งในด้านพันธุกรรมและระยะเวลาการงอกของข้าวโพด และอาจรวมถึงปัจจัยผลการศึกษาร่วมกัน เช่น การเก็บรักษา อายุการเก็บเกี่ยว เป็นต้น (บุญล้อม และสุชน, 2540) ซึ่งผลของพันธุกรรมต่อการแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์ไฟเตสยังพบได้ในพืชอื่น ๆ เช่น ข้าว และถั่วแขก (Kyriakidis *et al.*, 1998; Sulieman *et al.*, 2007)

นอกจากนี้ระดับของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าที่ระยะงอก 11 วันมีค่าสูงแตกต่างกันระหว่างข้าวโพด 2 พันธุ์ อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางด้านพันธุกรรม ซึ่งข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 เป็นสายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นในประเทศไทย เกิดจากการผสมระหว่างข้าวโพดหลากหลายสายพันธุ์ (พันทิพา, 2547) ในขณะที่แปซิฟิก 999 เป็นพันธุ์นำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งรูปแบบของระดับกิจกรรมของไฟเตสในข้าวโพดงอกของแปซิฟิก 999 ยังสอดคล้องกับข้าวโพดงอกที่เก็บตัวอย่างได้ในประเทศไนจีเรีย Azeke *et al.*, (2011) ดังนั้น รูปแบบการปรับปรุงพันธุ์ จำนวนสายพันธุ์แท้ที่เกี่ยวข้อง คุณลักษณะของแต่ละสายพันธุ์ คุณสมบัติของลูกผสม จึงมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของระดับกิจกรรมของไฟเตส (Jones, 1917; 1922)

ตารางที่ 1 กิจกรรมเอนไซม์ไฟเตส (ค่าเฉลี่ย \pm SD) ในข้าวโพดสุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 ที่กำลังออกใน
ระยะต่าง ๆ

| ระยะการงอก | Phytase activity (U/kg DM) | | ค่าเฉลี่ย (ระยะเวลาการงอก) ^{1/} |
|----------------------------------|--|---|---|
| | พันธุ์สุวรรณ 3 | พันธุ์แปซิฟิก 999 | |
| เมล็ด | 119.99 \pm 32.78 ^d (1.0) | 191.75 \pm 39.36 ^{dc} (1.0) | 155.87 \pm 29.79 ^d |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 1 วัน | 244.13 \pm 31.17 ^c (2.0) | 249.61 \pm 48.18 ^c (1.3) | 246.87 \pm 22.67 ^c |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 6 วัน | 1025.88 \pm 90.09 ^b (8.5) | 1063.79 \pm 134.68 ^b (5.5) | 1044.83 \pm 68.20 ^b |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 11 วัน | 1385.02 \pm 258.33 ^a (11.5) | 981.71 \pm 143.46 ^b (5.1) | 1183.37 \pm 140.65 ^a |
| ค่าเฉลี่ย (พันธุ์) ^{2/} | 693.75 \pm 58.99 ^a | 621.71 \pm 47.20 ^b | |
| F-test พันธุ์ | * | | |
| F-test เวลา | ** | | |
| F-test พันธุ์ \times เวลา | ** | | |
| % CV | 18.58 | | |

^{a b c d} อักษรกำกับแตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)

^{1/} อักษรกำกับแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (ระยะการงอก)

^{2/} อักษรกำกับแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (พันธุ์)

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง จำนวนเท่าของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นจากเมล็ดปกติ

ปริมาณไฟเตท

ปริมาณไฟเตทในต้นกล้าข้าวโพดพันธุ์แปซิฟิก 999 มีค่าสูงกว่าพันธุ์สุวรรณ 3 ($p < 0.01$) และพบว่ามีค่าต่างกันระหว่างเมล็ดปกติกับต้นกล้าที่ระยะการงอกต่างกัน ($p < 0.01$) โดยจะมีปริมาณไฟเตทสูงกว่าในต้นกล้าที่ระยะการงอก 1 วัน แต่ปริมาณไฟเตทในต้นกล้าที่ระยะการงอก 6 วัน และ 11 วันจะมีค่าลดต่ำลงกว่าในเมล็ดปกติ และต้นกล้าที่ระยะงอก 1 วัน ตามลำดับ และยังพบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ข้าวโพดกับระยะการงอก ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) ซึ่งพบความแตกต่างของปริมาณไฟเตทในต้นกล้าที่ระยะการงอก 1 วัน และ 6 วัน ซึ่งปริมาณไฟเตทใน ต้นกล้าพันธุ์สุวรรณ 3 ทั้งที่ระยะการงอก 1 วัน (16.76 g/kg DM) และ 6 วัน (9.82 g/kg DM) มีค่าต่ำกว่าในต้นกล้าพันธุ์แปซิฟิก 999 ที่ระยะการงอก 1 วันและ 6 วัน (17.95 และ 10.86 g/kg DM ตามลำดับ) ในขณะที่ปริมาณไฟเตทในต้นกล้าทั้งสองพันธุ์ที่ระยะการงอก 11 วัน มีค่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีปริมาณไฟเตทในต้นกล้าพันธุ์สุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 อยู่ที่ 63.4 และ 60.6% ของไฟเตทในเมล็ดปกติ ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ปริมาณไฟเตท (ค่าเฉลี่ย \pm SD) ในข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 และพันธุ์แปซิฟิก 999 ที่กำลังงอกในระยะต่าง ๆ

| ระยะการงอก | ปริมาณไฟเตท (g/kg DM) | | ค่าเฉลี่ย (ระยะเวลาการงอก) ^{1/} |
|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|---|
| | พันธุ์สุวรรณ 3 | พันธุ์แปซิฟิก 999 | |
| เมล็ด | 14.02 \pm 0.80 ^c (100) | 14.21 \pm 0.46 ^c (100) | 14.12 \pm 0.55 ^b |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 1 วัน | 16.76 \pm 1.43 ^b (119) | 17.95 \pm 0.88 ^a (126) | 17.36 \pm 1.06 ^a |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 6 วัน | 9.82 \pm 0.24 ^e (70.0) | 10.86 \pm 0.62 ^d (76.4) | 10.34 \pm 0.38 ^c |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 11 วัน | 8.89 \pm 0.81 ^f (63.4) | 8.64 \pm 0.65 ^f (60.6) | 8.77 \pm 0.64 ^d |
| ค่าเฉลี่ย (พันธุ์) ^{2/} | 12.37 \pm 0.60 ^b | 12.92 \pm 0.25 ^a | |
| F-test พันธุ์ | ** | | |
| F-test เวลา | ** | | |
| F-test พันธุ์ \times เวลา | * | | |
| % CV | 10.71 | | |

^{a b c d} อักษรกำกับแตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)

^{1/} อักษรกำกับกับแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (ระยะการงอก)

^{2/} อักษรกำกับกับแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (พันธุ์)

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง จำนวนเท่าของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นจากเมล็ดปกติ

ในการศึกษานี้พบว่าปริมาณไฟเตทมีการลดลงตามระยะเวลาการงอกมีลักษณะเช่นเดียวกับที่ปรากฏในธัญพืชต่างพันธุ์ชนิดอื่น เช่น ถั่วแขก (Kyriakidis *et al.*, 1998; Sulieman *et al.*, 2007) นอกจากนี้ ในศึกษานี้เป็นการศึกษาในต้นกล้าข้าวโพดทั้งต้น ซึ่งมีการลดลงของปริมาณไฟเตทในต้นกล้าที่ระยะงอก 11 วัน โดยเหลือไฟเตท 60.6-63.4% ของไฟเตทในเมล็ดปกติ ยังน้อยกว่าที่มีในรายงานของ Azeke *et al.*, (2011) ซึ่งพบว่าในข้าวโพดงอกระยะ 10 วัน ที่แยกรากงอก (rootlet) และต้นอ่อน (sprouts) ออกแล้วนำเฉพาะเมล็ด (grain matter) มาศึกษาพบว่าปริมาณไฟเตทเพียง 0.72 mg/g DM (เหลือเพียง 12.2% ของปริมาณไฟเตทในเมล็ดปกติ) แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของไฟเตทในเมล็ดพืชกำลังงอก ในแต่ละส่วนของต้นกล้าไม่เท่ากัน แต่ทั้งนี้ มีการรายงานว่าพบไฟเตทในเมล็ดข้าวโพดส่วนใหญ่จะอยู่ที่บริเวณคัพภะ (embryo) สูงถึง 88% และมีน้อยในส่วนเอนโดสเปิร์ม (endosperm) (3.2%) (Reddy *et al.*, 1989) และเมื่อคัพภะมีการพัฒนาในกระบวนการงอกจะกลายเป็นต้นอ่อน แสดงว่าอาจยังมีไฟเตทส่วนใหญ่สะสมมากในต้นอ่อน ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการวิเคราะห์รวมหมดทั้งต้นอ่อน ราก และเมล็ด จึงพบว่าที่ระยะงอกใกล้เคียงกันนี้จึงเป็นสาเหตุที่มีปริมาณไฟเตทสูงกว่าที่มีในรายงานของ Azeke *et al.*, (2011)

ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส

ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในต้นกล้าข้าวโพดพันธุ์แปซิฟิก 999 สูงกว่าพันธุ์สุวรรณ 3 ($p < 0.01$) และมีค่าต่างกันระหว่างเมล็ดปกติกับต้นกล้าที่ระยะการงอกต่างกัน ($p < 0.01$) โดยปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีค่าสูงขึ้นตาม

ระยะการงอก และยังมีพบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ข้าวโพดกับระยะการงอก ($p < 0.01$) (ตารางที่ 3) โดยพบว่าปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีค่าสูงขึ้นในต้นกล้าพันธุ์สุวรรณ 3 ที่ระยะการงอก 1 วัน ในขณะที่พันธุ์แปซิฟิก 999 ยังมีค่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัสไม่แตกต่างจากในเมล็ดปกติ แต่ที่ระยะการงอก 6 วัน พบว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในต้นกล้าพันธุ์แปซิฟิก 999 (0.874 g/kg) มีค่าสูงกว่าในพันธุ์สุวรรณ 3 (0.627 g/kg) และที่ระยะการงอก 11 วัน ยังคงมีอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในต้นกล้าของพันธุ์แปซิฟิก 999 (1.279 g/kg) สูงกว่าพันธุ์สุวรรณ 3 (1.029g/kg)

ตารางที่ 3 ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (ค่าเฉลี่ย \pm SD) ในข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 3 และข้าวโพดพันธุ์แปซิฟิก 999 ที่กำลังงอกในระยะต่าง ๆ

| ระยะการงอก | ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (g/kg DM) | | ค่าเฉลี่ย (ระยะเวลาการงอก) ^{1/} |
|----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|
| | พันธุ์สุวรรณ 3 | พันธุ์แปซิฟิก 999 | |
| เมล็ด | 0.243 \pm 0.02 ^f (1.00) | 0.304 \pm 0.01 ^f (1.00) | 0.273 \pm 0.01 ^b |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 1 วัน | 0.379 \pm 0.16 ^e (1.56) | 0.298 \pm 0.03 ^f (0.98) | 0.338 \pm 0.08 ^a |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 6 วัน | 0.627 \pm 0.04 ^d (2.58) | 0.874 \pm 0.04 ^c (2.88) | 0.750 \pm 0.03 ^c |
| ต้นกล้าที่ระยะงอก 11 วัน | 1.029 \pm 0.04 ^b (4.23) | 1.279 \pm 0.07 ^a (4.21) | 1.154 \pm 0.03 ^d |
| ค่าเฉลี่ย (พันธุ์) ^{2/} | 0.593 \pm 0.04 ^b | 0.694 \pm 0.02 ^a | |
| F-test พันธุ์ | ** | | |
| F-test เวลา | ** | | |
| F-test พันธุ์ \times เวลา | ** | | |
| % CV | 10.58 | | |

^{a b c d e f} อักษรกำกับแตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$)

^{1/} อักษรกำกับแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (ระยะการงอก)

^{2/} อักษรกำกับแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย (พันธุ์)

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง จำนวนเท่าของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นจากเมล็ดปกติ

ปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในต้นกล้าพันธุ์สุวรรณ 3 ที่ระยะการงอก 1 วัน มีปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเป็น 1.56 เท่า ของเมล็ดปกติ ส่วนแปซิฟิก 999 ยังมีปริมาณไม่แตกต่างจากเมล็ดปกติ (ตารางที่ 3) และปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะสูงขึ้นตามระยะการงอกและสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส โดยที่ระยะการงอกเดียวกันนี้ยังมีกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสยังมีค่าไม่สูง (ตารางที่ 1) แต่เมื่อระยะงอกนานขึ้นที่ 6 วัน อนินทรีย์ฟอสฟอรัสในต้นกล้าพันธุ์สุวรรณ 3 และแปซิฟิก 999 มีค่าเป็น 2.58 และ 2.88 เท่า ตามลำดับและที่ระยะเดียวกันนี้พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสสูงขึ้นเป็น 8.5 เท่า และ 5.5 เท่า ในสุวรรณ 3 และแปซิฟิก 999 ตามลำดับ ลักษณะเช่นนี้เหมือนกันในธัญพืชอื่น เช่น ถั่ว (Kyriakidis *et al.*, 1998)

ในต้นกล้าแปซิฟิก 999 ที่ระยะงอก 11 วัน มีปริมาณอนินทรีย์ฟอสฟอรัส สูงกว่าในต้นกล้าของสุวรรณ 3 (ตารางที่ 3) แต่ต้นกล้าแปซิฟิก 999 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสต่ำกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าสุวรรณ 3 (ตารางที่ 1) อีกทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าแปซิฟิก ยังมีแนวโน้มลดลง (แต่ยังไม่แตกต่างทางสถิติ) เมื่อเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสในต้นกล้าที่ระยะการงอก 6 วัน สอดคล้องกับ Mukherji *et al.*, (1971) ซึ่งรายงานไว้ว่า อัตราการสลายของไฟเตทถูกควบคุมโดยอนินทรีย์ฟอสฟอรัส เมื่ออนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีปริมาณมาก การสังเคราะห์เอนไซม์ไฟเตสจะลดลง เพื่อให้อัตราการสลายของไฟเตทสอดคล้องกับความต้องการใช้ ฟอสฟอรัส โบแตสเซียม และแมกนีเซียม ในกระบวนการเมตาบอลิซึมส่วนอื่น ๆ ของการงอก

สรุป

กระบวนการงอกของเมล็ดข้าวโพดทำให้มีการสร้างเอนไซม์ไฟเตสมาย่อยไฟเตทปลดปล่อยฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัสรูปที่สี่ตัวสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ จากการศึกษาพบว่าพันธุ์ข้าวโพดและระยะเวลาการงอกมีอิทธิพลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ปริมาณไฟเตท และอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ระยะเวลางอกที่นานขึ้นมีผลเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส และลดปริมาณไฟเตท ในขณะเดียวกันช่วยเพิ่มอนินทรีย์ฟอสฟอรัส โดยอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีค่าเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตส ต้นกล้าข้าวโพดที่ระยะงอก 1 วันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณต่าง ๆ เพียงเล็กน้อย เมื่อต้นกล้ามีระยะงอกนานขึ้น พบว่าต้นกล้าข้าวโพดแปซิฟิกมีอนินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าสุวรรณ 3 ต้นกล้าข้าวโพดสุวรรณ 3 และแปซิฟิก 999 ที่ระยะงอก 6 วัน มีปริมาณไฟเตทเหลือ 70.0 และ 76.4% และเมื่อระยะงอกนานขึ้น 11 วันจะมีปริมาณไฟเตทเหลือ 63.4 และ 60.6% ของเมล็ดปกติตามลำดับ ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาผลของโภชนาการอื่น เช่น พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งแร่ธาตุที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เหลืออยู่ในต้นกล้าข้าวโพดเพิ่มเติมด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และสุชน ตั้งทวีพัฒน์. 2540. ไฟเตสสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสในสัตว์. ว. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 7(37): 23-30.
- พันทิพา พงษ์เพียรจันทร์. 2547. หลักการอาหารสัตว์: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์ เล่ม 2. โอ-เดียน สโตร์ กรุงเทพฯ. 611 หน้า.
- Azeke, M. A., S. J. Egielewa, M. U. Eigbogbo and I. G. Ihimire. 2011. Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*), millet (*Panicum miliaceum*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*). J. Food Sci. 48(6): 724-729.

- Chen, P. S., T. Y. Toribara and H. Warner. 1956. Microdetermination of phosphorus. **Analyt. Chemistry**. 28: 1756-58.
- Fujian Fuda Biotech Co., Ltd. **Determination of phytase activity molybdate-blue method**. 3/f., Building No. 1, No. 7, Jin Zhou Road North, JinShan Industrial Zone, FuZhou City, Fujian, P. R. China.
- Gao, Y., C. Shang, M. A. Saghai Maroof, R. M. Biyashev, E. A. Grabau, P. Kwanyuen, J. W. Burton and G. R. Buss. 2007. A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean. **Crop. Science**. 47: 1797-1803.
- Jones, D. F. 1917. Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. **Genet.** 2: 466-479.
- _____. 1922. The productiveness of single and double first generation corn hybrids. **Agron. J.** 14: 241-252.
- Jongbloed, A. W., Z. Mroz and P. A. Memme. 1992. The effect of supplement *Aspergillus niger* phytase in diet for pig on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus and phytic acid in different sections of the alimentary tract. **J. Anim. Sci.** 70: 1159-1168.
- Kyriakidis, N. B., M. Galiotou-Panayotou, A. Stavropoulou and P. Athanasopoulos. 1998. Increase in phytase activity and decrease in phytate during germination of four common legumes. **Biotechnology. Latt.** 20: 475-478.
- McCann, M. E. E., K. J. Mc Cracken, V. E. Beattie, E. Magowan, S. Smyth, R. Bradford and W. Henry. 2004. Investigations into Phosphorus Requirements of growing/ finishing pigs and the use phytase. **ARINI**. 33: 51-64.
- Mukherji, S., B. Dey, A. K. Pul and S. M. Sircar. 1971. Changes in phosphorus fractions and phytase activity of rice seeds during germination. **Phys. Plantarum**. 25: 94-97.
- Raboy, V., P. F. Gerbasi, K. A. Young, S. D. Stoneberg, S. G. Pickett, A. T. Bauman, P. P. N. Murthy, W. F. Sheridan, and D. S. Ertl. 2000. Origin and seed phenotype of maize *low phytic acid 1-1* and *low phytic acid 2-1*. **Plant Physiol.** 124: 355-368.
- Reddy, N. R., M. D. Pierson, S. K. Sathe and D. K. Salunkle. 1989. **Phytates in cereals and legumes**. CRC Press, INC., Boca Raton, Florida. USA., 152 p.
- Saneoka, H. and T. Kuna. 2003. Plant growth and phytic acid accumulation in grain as affected by phosphorus application in maize (*Zea mays* L.). **Grassland. Sci.** 48(6): 485-489.
- Senna, R., V. Simoni, Saliva-Neto and M. A. C. Fialho. 2006. Induction of acid phosphatase activity during germination of maize (*Zea mays* L.) seed. **Plant Physiology and Bio chemistry**. 44 : 467-473.

- Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez and P. C. Laque. 1996. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. *Poult. Sci.* 75: 1516-1523.
- Suliman, M. A., M. M. Eltyeb, M. A. Abbass, E. E. A. Ibrahim, E. E. Babiber and A. H. Eltinay. 2007. Changes in chemical composition, phytate, phytase activity and mineral extractability of Sprouted lentils cultivars. *J. Biol. Sci.* 7(5): 776-780.
- Wei, W., C. Fang-min., L. Zheng-hui and W. Ke-su. 2007. Difference of Phytic Acid Content and its Relation to Four Protein Composition Contents in Grains of Twenty-nine japonica Rice Varieties from Jiangsu and Zhejiang Provinces, China. *Rice Science.* 14(4): 311-314.