

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 2

The 2nd STOU Graduate Research Conference

ผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ

Effects of Melamine and Cyanuric Acid in Sex-Reversed Red Tilapia [*Oreochromis niloticus* (Linnaeus) x *O. Mossambicus* (Peters)] Feeds

ประวิทย์ ชูช่วย (Prawit Choochuay)* วุฒิพร พรหมขุนทอง (Wutiporn Phromkunthong)**

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการตกค้างในเนื้อและเครื่องในปลา

แบ่งการทดลองเป็น 7 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ โดยผสมเมลามีนและกรดไซยานูริกลงในอาหาร คือ สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมไม่ใส่เมลามีนและกรดไซยานูริก สูตรที่ 2-5 ใส่เมลามีนและกรดไซยานูริกในอาหารตามระดับความเข้มข้นที่เท่ากันในแต่ละสูตรคือ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 6 ใส่เมลามีนอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่ 7 ใส่กรดไซยานูริกอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้ปลานิลแดงน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 4.32 กรัมต่อตัว จำนวน 25 ตัวต่อซ้ำ ให้อาหารวันละ 2 มื้อ ระยะเวลาในการทดลอง 12 สัปดาห์

ผลการศึกษาพบว่าเมลามีนและกรดไซยานูริกที่เสริมในอาหารมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะสูตรที่ 6 ใส่เมลามีนอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด ($p < 0.05$) ในขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าเพิ่มสูงกว่าชุดควบคุม ($p < 0.05$) ยกเว้นสูตรที่ 7 ใส่กรดไซยานูริกอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ตกค้างในเนื้อปลาและเครื่องในรวม พบมีค่าอยู่ในช่วง 200 -1,670 , 80 - 4,950 และ 1,400 -1,550 , 130 - 1,440 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวอย่างตามลำดับ

Abstract

The study was conducted to determine the effects of dietary melamine and cyanuric acid in sex-reversed red tilapia [*Oreochromis niloticus* (Linnaeus) x *O. mossambicus* (Peters)] on growth, feed efficacy and their accumulation in fillet and viscera.

The trial comprised 7 treatments with 4 replications each. Seven diets were designed as basal diet without melamine and cyanuric acid supplementation (diet 1), with melamine and cyanuric acid 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1% for diets 2-5, respectively, with melamine 1% for diet 6, and with cyanuric acid 1% for diet 7. Fingerling red tilapia with an initial average body weight of 4.32 g were released in 190 l glass aquarium. Twenty five fishes were stocked per replication. Trial feeds were given twice daily for a 12 week period.

Growth as well as feed efficacy was influenced by the inclusion of melamine and its derivative. Particularly, the fish which received a high dose of melamine alone (diet 6) gave the worst growth and FCR compared to the other treatments ($p < 0.05$). The analysis of melamine and cyanuric acid in fillet and viscera indicated that these two values reflected their inclusion levels.

คำสำคัญ เมลามีน กรดไซยานูริก ปลานิลแดงแปลงเพศ

Keywords: Melamine, Cyanuric acid, Sex-reversed red tilapia

* นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ cp2.aqua27wit@yahoo.com

** รองศาสตราจารย์ระดับ 9 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ wutipomp@yahoo.com

บทนำ

ปัจจุบันวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์มีราคาสูงขึ้น โดยเฉพาะปลาป่นที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในสูตรอาหาร ทำให้ราคาค้นทุนผลิตอาหารสัตว์น้ำสูงขึ้นตามไปด้วย จากข้อมูลของ FAO (2008) รายงานราคาปลาป่นในเดือนมิถุนายน ค.ศ. 2002 ที่ 600 เหรียญสหรัฐต่อตันและเพิ่มเป็น 2 เท่าในปี ค.ศ. 2008 ด้วยเหตุนี้จึงเป็นเหตุจูงใจให้มีการนำเข้าวัตถุดิบอาหารปลอมปนเมลามีนในอาหารสัตว์โดยเฉพาะที่มีรายงานในประเทศจีน (Chen, 2009; Wu et al., 2009) เนื่องจากเมลามีน (melamine) เป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตพลาสติกและปุ๋ยเพื่อการเกษตรกรรม โดยมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ 66.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณเป็นปริมาณโปรตีนจะสูงถึง 416.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในทางอุตสาหกรรม กระบวนการผลิตเมลามีนจะใช้ยูเรียเป็นสารตั้งต้นซึ่งผลิตที่ได้คือ เมลามีน แอมโมเนีย และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (IARC, 1999) โดยปกติเมลามีนใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโฟมทำความสะอาดพื้นผิว วัสดุเคลือบผิว แผ่นฟอรัไมกา กาว งาน ชาม ไม้บอร์ดยึดกันความร้อน ขาฆ่าแมลง ปุ๋ย และผลิตภัณฑ์ตัวอื่นๆ (Nemil et al., 2005; Anderson et al., 2007) เมลามีนประกอบด้วยอนุพันธ์ 3 ชนิด ได้แก่ แอมมีลีน (ammeline) แอมมีไลด์ (ammelide) และกรดไซยานูริก (cyanuric acid) (เขาวมาลย์, 2550) ในทางปศุสัตว์จัดเมลามีนเป็นไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen - NPN) (Newton and Utley, 1978) จึงเป็นโปรตีนเทียมชนิดหนึ่ง ที่มีราคาถูกเมื่อเทียบกับแหล่งโปรตีนจากธรรมชาติและผู้ผลิตหวังเพียงเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในอาหารเท่านั้น จากสถานการณ์การปนเปื้อนของสารเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหารทำให้องค์การต่างๆ ทั่วโลกติดตามและเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิด (Tacon and Metian, 2008) และผลจากการตรวจพบสารตกค้างของสารเมลามีนและปฏิกิริยาที่เกิดจากสารอนุพันธ์ต่างๆ ทั้งในเนื้อเยื่อและอวัยวะภายในทั้งในสัตว์บกและสัตว์น้ำ

สืบเนื่องมาจากการศึกษาของ ปวีณา และคณะ (2552), Xue และคณะ (2011) และ Phromkunthong และคณะ (2012) ที่พบว่าการเสริมเมลามีนที่ระดับมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา และมีการตกค้างของเมลามีนในเนื้อเยื่อและเครื่องใน โดยมีผลทำให้เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ผู้วิจัยเสนอแนะว่า ควรมีการทดสอบปริมาณเมลามีนในระดับที่ต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ และควรมีการศึกษาถึงผลของเมลามีนและอนุพันธ์ต่างๆ ของเมลามีนด้วย ดังนั้นการศึกษาดังนี้จึงเป็นการศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกในระดับต่ำกว่าที่เคยศึกษามา โดยใช้ฐานข้อมูลจากผลการศึกษาที่ได้ของ Phromkunthong และคณะ (2012) การที่เลือกใช้ปลานิลแดงแปลงเพศเป็นปลาทดสอบ เนื่องจากเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ อีกทั้งความต้องการบริโภคภายในประเทศยังมีอยู่สูง

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกรวมทั้งอัตราการตายในปลานิลแดงแปลงเพศ
2. เพื่อศึกษาการตกค้างของเมลามีนและกรดไซยานูริกในเนื้อเยื่อและเครื่องในของปลานิลแดงแปลงเพศซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และปลาสำหรับการทดลอง

เตรียมถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร สำหรับอนุบาลปลาทดลองเพื่อให้ได้ขนาด 4.5 กรัม เลี้ยงโดยให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 (สูตรควบคุมไม่ใส่เมลามีนและกรดไซยานูริก) วันละ 2 มื้อ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. การทดลอง

The 2nd STOU Graduate Research Conference

ทำในตู้กระจกขนาด 45x91x45 เซนติเมตร ความจุน้ำเต็มตู้ประมาณ 184 ลิตร ติดตั้งระบบให้อากาศ ใช้พลาสติกสีเขียวทึบ ปิด 3 ด้าน เพื่อป้องกันปลาถูกรบกวนจากภายนอก จากนั้นเติมน้ำประปาที่พักไว้จนปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตรน้ำในตู้ทดลอง 150 ลิตร เมื่อปลาทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย 4-5 กรัม/ตัว (จากการสุ่มชั่ง) จึงคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันและมีสุขภาพแข็งแรงลงในตู้ทดลอง คู่ละ 25 ตัว ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ก่อนชั่งคิให้อาหารปลาเป็นเวลา 1 วัน)

2. การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 7 สูตร สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมไม่ใส่เมลามีนและและกรดไซยานูริก สูตรที่ 2-5 ใส่เมลามีนและกรดไซยานูริกลงในอาหารตามระดับความเข้มข้นที่เท่ากันในแต่ละสูตร คือ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 6 ใส่เมลามีนอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์ และสูตรที่ 7 ใส่กรดไซยานูริกอย่างเดียว 1 เปอร์เซ็นต์ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานที่ย่อยได้ 3,500 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กิโลกรัม (สูตรอาหารแสดงในตารางที่ 1) รายละเอียดอาหารทดลองทั้ง 7 สูตรประกอบด้วย

สูตรที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่ใส่เมลามีนและไม่ใส่กรดไซยานูริก)

สูตรที่ 2 ใส่เมลามีน 0.25 เปอร์เซ็นต์และกรดไซยานูริก 0.25 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 ใส่เมลามีน 0.50 เปอร์เซ็นต์และกรดไซยานูริก 0.50 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 4 ใส่เมลามีน 0.75 เปอร์เซ็นต์และกรดไซยานูริก 0.75 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 5 ใส่เมลามีน 1 เปอร์เซ็นต์และกรดไซยานูริก 1 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 6 ใส่เมลามีน 1 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 7 ใส่กรดไซยานูริก 1 เปอร์เซ็นต์

ก่อนการทดลองส่งอาหารที่เตรียมไว้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณเมลามีนและกรดไซยานูริก ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพฯ ตามวิธีการของ USFDA LIB No.4423 (2008) ด้วยเครื่อง GC-MS เพื่อยืนยันว่าปริมาณเมลามีนที่ใส่ลงไปในการอาหารมีค่าตรงกับที่คำนวณไว้ (รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 1)

ระเบียบวิธีวิจัย

ศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกระดับต่างๆ ในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) แบ่งเป็น 7 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ระยะเวลาที่ทำการทดลอง 12 สัปดาห์ ให้อาหารวันละ 2 มื้อ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม เปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 80 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรน้ำในตู้ทดลอง

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ตรวจสอบลักษณะภายนอก และพฤติกรรมของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร ชั่งน้ำหนักรวมของปลาและน้ำหนักอาหารที่ปลากินทุก 2 สัปดาห์ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารก่อนชั่งน้ำหนัก 1 มื้อ) เพื่อนำข้อมูลน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและน้ำหนักอาหารที่ปลากินไปคำนวณค่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ทุก 2 สัปดาห์ ทุกชุดการทดลอง พร้อมจดบันทึกตลอดจนจบการทดลอง นำข้อมูลที่ได้อ้างอิงอัตราอดตาย

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 2

The 2nd STOU Graduate Research Conference

1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนการทดลองจำนวน 15 ตัว และเมื่อสิ้นสุดการทดลองชุดการทดลองๆ ละ 8 ตัวนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาตามวิธีการของ AOAC (1990) และนำค่าโปรตีนที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีนตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิตามวิธีการของ Robinson และ Wilson (1985)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ส่วนประกอบของวัตถุดิบ (ก./กก. อาหาร)	ปริมาณเมลามีนและกรดไซยานูริก (ก./กก. อาหาร)						
	0 (Control)	2.5:2.5	5: 5	7.5: 7.5	10:10	10:0	0:10
วัตถุดิบพื้นฐาน ¹	887	887	887	887	887	887	887
น้ำมันปลา: น้ำมันถั่วเหลือง (1:1)	30	30	30	30	30	30	30
โคลีน คลอไรด์ (60%)	1	1	1	1	1	1	1
วิตามินผสม ²	10	10	10	10	10	10	10
แร่ธาตุผสม (ปราศจากฟอสฟอรัส) ³	30	30	30	30	30	30	30
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	22	22	22	22	22	22	22
CMC ⁴	20	15	10	5	0	10	10
เมลามีน ⁵	0	2.5	5	7.5	10	10	0
กรดไซยานูริก ⁶	0	2.5	5	7.5	10	0	10
ค่าจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี							
โปรตีน (Nx6.25)	304.1±0.09	336.6±0.39	348.6±0.40	350.2±0.21	376.5±0.69	362.5±0.34	339.7±0.35
ไขมัน	76.3± 0.42	74.2± 0.14	70.8± 0.10	71.7± 0.33	68.0± 0.00	67.4± 0.21	69.0± 0.33
เถ้า	119.6±0.07	121.5±0.16	119.6±0.16	115.1±0.02	120.0±0.01	119.8±0.09	122.3±0.12
พลังงานรวม (กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กก.)	3,689.77	3,441.77	3,440.79	3,439.72	3,438.30	3,440.79	3,440.79
เมลามีน	0	2.5	4.4	7.6	7.9	10.9	0
กรดไซยานูริก	0	2.2	4.2	7.4	9.7	0	10.6

¹ วัตถุดิบพื้นฐาน (กรัม/กิโลกรัมอาหาร): ปลาป่น (โปรตีน 623 กรัม/กิโลกรัม) 100; กากถั่วเหลือง (โปรตีน 506 กรัม/กิโลกรัม) 420; ข้าวโพด 110; รำละเอียด 120; มันสำปะหลังป่น 137

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

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

⁴ Carboxymethyl cellulose

⁵ เมลามีน : Chang Chun Petrochemical CO.,LTD, Taipei Taiwan (purity 99.5%)

⁶ กรดไซยานูริก (98%) : Sigma, ALDRICH CO.,LTD

2. การวิเคราะห์เมลามีนและกรดไซยานูริกที่ตกค้างในเนื้อปลาและเครื่องใน

เก็บตัวอย่างปลาในแต่ละชุดการทดลองหลังจากทำการทดลองครบ 12 สัปดาห์ แล้วเอาส่วนของเนื้อและเครื่องในรวม นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้งสนิท นำตัวอย่างดังกล่าว ส่งตรวจวิเคราะห์หาเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ตกค้าง ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพฯ ตามวิธีการของ USFDA LIB No.4423 (2008) ด้วยเครื่อง GC-MS

3. การวิเคราะห์ข้อมูลค่าความแปรปรวน

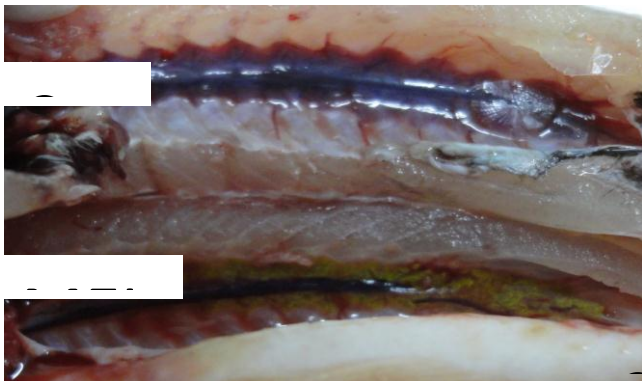
วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน ANOVA ด้วย CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 16.0)

สรุปผลการวิจัย

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ระดับตั้งแต่ 0.25 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา และมีการตกค้างของเมลามีนและกรดไซยานูริกในเนื้อและเครื่องใน ในปริมาณสูงซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค แต่มีข้อน่าสังเกตว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมกรดไซยานูริกเพียงอย่างเดียว ส่งผลให้การเจริญเติบโต ดีกว่าปลาในชุดควบคุม ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาค้นคว้าต่อไปถึงผลของอนุพันธ์ของเมลามีนชนิดนี้ นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการกำหนดแนวทางป้องกัน เพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้น ในกรณีที่มีการปนเปื้อนของสารเมลามีนในอาหารสัตว์น้ำ

อภิปรายผลการวิจัย

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 4.32 กรัม ด้วยอาหารที่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ระดับต่างกัน 7 ระดับ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนอย่างเดียวก่อนที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะผิดปกติที่แสดงให้เห็นภายนอกอย่างชัดเจนหลังจากได้รับอาหารเป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ คือ ลำตัวพอง (ภาพที่ 1) กินอาหารลดลง ว่ายน้ำช้าลงและมักหลบอยู่บริเวณพื้นตู้ทดลอง เกือบหลุดออกได้ง่าย เมื่อตรวจสอบอวัยวะภายใน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ระดับ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของไตมีสีเขียว (ภาพที่ 2) ซึ่งคาดว่าเกิดจากการรวมกันของเมลามีนและกรดไซยานูริก (melamine-cyanurate) (Reimschuessel et al., 2008, 2009) นอกจากนี้ ยังพบการก่อตัวของเม็ดสีดำบริเวณลำตัวเพิ่มมากขึ้น ซึ่งไม่พบลักษณะทั้งหมดดังที่กล่าวมาในปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (ไม่เสริมเมลามีน) ดังแสดงในภาพที่ 3 ความผิดปกติดังกล่าวสอดคล้องกับที่มีรายงานในปลาอุกพันธุ์ผสม (ปวีณา และคณะ, 2552) และปลา darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*) (Xue et al., 2011) ทั้งนี้อธิบายได้ว่า เมลามีนเป็นสารพิษ เมื่อปลาที่ได้รับเมลามีนในปริมาณสูง ส่งผลให้การเจริญเติบโตของปลาลดลงตามไปด้วย โดยปลาจะต้องใช้พลังงานจำนวนมากในการกำจัดสารพิษที่สะสมภายในร่างกาย สารอาหารที่ปลาได้รับจึงถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานเพื่อใช้ในการกำจัดสารพิษมากกว่านำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต จึงเป็นสาเหตุให้การเจริญเติบโตลดลง (Di Giulio and Hinton, 2008)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะและขนาดของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริก T1-T7

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะไตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (control) จะมีลักษณะสีแดงปกติ และไตปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ระดับ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จะมีสีเขียว

ภาพที่ 3 แสดงเม็ดสีบริเวณลำตัวในปลาที่ได้รับอาหารที่มีเมลามีน 1 เปอร์เซ็นต์ (T6)

นอกจากนี้ Xue และคณะ (2011) ทดลองให้ปลา darkbarbel catfish กินอาหารที่ใส่เมลามีนระดับ 0, 0.2, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีเม็ดสีเมลานินลดลงและค่าความสว่าง (Lightness) ของหนังบริเวณลำตัวส่วนบนเพิ่มขึ้น ตามระดับการเสริมเมลามีนที่ระดับ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผู้วิจัยศึกษากิจกรรมเอนไซม์ tyrosinase ของหนังบริเวณลำตัวส่วนบนพบว่าไม่มีผลต่อการสร้างเม็ดสี เนื่องจากเกิดการออกซิเดชันของ O-diphenols ที่ใช้ในกระบวนการ melanogenesis (Sánchez-Ferrer et al., 1995) นอกจากนี้ในสัตว์น้ำประเภทอื่นพบว่า ชลอ และคณะ (2552) ศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริกต่อการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภายนอกและพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) พบว่า

กุ้งขาวบางตัวเริ่มมีลักษณะส่วนหัวบวมโตหลังจาก 30 วัน จะชัดเจนมากขึ้นหลังจาก 70 วัน เมื่อนำส่วนเปลือกคลุมหัวออก พบลักษณะเป็นถุงขนาดกลางถึงขนาดใหญ่และมีน้ำอยู่ภายใน กุ้งขาวบางตัวพบจุดหรือแถบสีขาวบนตัวและตัวอ่อน สอดคล้องกับการทดลองของเขาวมาลย์ และสาโรช (2550) พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีเมลามีน พบว่าในส่วนหัวจะโตผิดปกติและพบจุดขาว ลำตัวบวม เมื่อผ่าดูอวัยวะภายในพบว่า ลำไส้และระบบสืบพันธุ์มีลักษณะโป่งพองผิดปกติ และสังเกตเห็นผลึกในส่วนของระบบสืบพันธุ์ สาเหตุมาจากการใช้วัตถุเคมีและโปรตีนทดแทนที่มีการปลอมปนของเมลามีน เช่นเดียวกับ ปริณูทิพย์ และคณะ (2551) พบว่าการเลี้ยงกุ้งที่ได้รับอาหารที่ปนเปื้อนเมลามีนจะมีการขยายใหญ่และสะสมน้ำในช่องท้อง จุดเลือดออกและเนื้อตายกระจายทั่วตัวและไต โตขยายใหญ่และมีสีเข้มกว่าปกติทั้งสองข้างและมีการอักเสบของเนื้อเยื่อหัวใจ ไต และตับ

นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนอย่างเดียว มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ต่ำกว่าปลาทุกชุดการทดลอง ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) เนื่องจากเมื่อปลาได้รับสารพิษจากอาหารเข้าสู่ร่างกาย สารพิษนั้นจะถูกขับทิ้งทางมูลและเหงือกเป็นหลัก แต่ถ้าสารพิษมีปริมาณมากเกินไปที่จะขับทิ้งได้ จะเกิดการสะสมตามอวัยวะต่างๆ และสอดคล้องกับการทดลองของ นัทท์ และวุฒิพร (2554) ที่ศึกษาผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า เมลามีนที่เสริมในอาหารมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง และจากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารที่มีเมลามีน 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองสัปดาห์ที่ 12 อัตราการรอดตายต่ำกว่าปลากลุ่มอื่นๆ (ตารางที่ 2) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมกรดไซยานูริกเพียงอย่างเดียว (สูตรที่ 7) พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ($p > 0.05$) ซึ่งนำไปได้ว่าการที่ปลาได้รับกรดไซยานูริกในความเข้มข้นต่ำ อาจมีส่วนในการเพิ่มความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร ทำให้ปลาสามารถนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong และคณะ (2010) อีกทั้งยังไม่มีรายงานถึงพิษของกรดไซยานูริกเพียงอย่างเดียว เมื่อเสริมลงไปในการอาหารสัตว์น้ำ แต่ FDA กล่าวถึง การยอมรับให้มีการใช้สารชนิดนี้เป็นสารเสริมของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (WHO, 2008) อย่างไรก็ตาม การได้รับกรดไซยานูริคติดต่อกันเป็นเวลานาน ก็จะส่งผลเสียต่อการทำงานของไต (OECD, 1999) สอดคล้องกับการที่วิเคราะห์พบปริมาณของกรดไซยานูริกในปริมาณสูง ทั้งในส่วนเนื้อและเครื่องในปลา (ตารางที่ 3) จึงยังไม่แนะนำให้เสริมกรดไซยานูริกในอาหารปลา อีกทั้งเนื่องจากการทดลองนี้ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงปลาเพียง 3 เดือน จึงยังไม่เห็นพิษของสารนี้ต่อปลา

ในส่วนของการศึกษาประสิทธิภาพการใช้อาหารพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริกในทุกชุดการทดลองมีค่า อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ($p > 0.05$) และผลจากการทดลองครั้งนี้ พบว่า มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำกว่าปลาในชุดควบคุม ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) ทั้งที่ปริมาณโปรตีนในอาหารที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงกว่า นั้นมาจากไนโตรเจนของเมลามีน แสดงให้เห็นว่าไนโตรเจนที่มีในเมลามีนและกรดไซยานูริก ปลาไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย สอดคล้องกับ Smith และคณะ (1994) รายงานว่า เมื่อเมลามีนผ่านเข้าสู่ร่างกายโดยการกิน จะถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดแต่จะไม่ถูกนำมาเผาผลาญเป็นพลังงานที่ดับเหมือนกรดอะมิโนทั่วไป เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม

จากการวิเคราะห์การสะสมของเมลามีนและกรดไซยานูริกในเนื้อและเครื่องในปลา จากการทดลองนี้พบว่า ปริมาณเมลามีนที่สะสมในเนื้อปลาและเครื่องใน มีค่าอยู่ในช่วง 200 - 1,670 และ 80-4,950 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวอย่าง และปริมาณกรดไซยานูริกที่สะสมในเนื้อปลาและเครื่องใน มีค่าอยู่ในช่วง 1,400-1,550 และ 130-1,440 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวอย่าง (ตารางที่ 3) ซึ่งจากการรายงานของ Puschner และคณะ (2007) กล่าวว่า ระดับของเมลามีนที่เป็นพิษต่อสัตว์ คือ 10 -3,200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวอย่าง นอกจากนี้จากการรายงานของ Reimschuessel และคณะ (2009) ที่ศึกษาการตกค้างของเมลามีนในเนื้อปลาคอดอเมริกันและปลาเรนโบว์เทราท์ ภายหลังได้รับเมลามีน 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว (single oral dose) พบว่าปริมาณเมลามีนที่สะสมในเนื้อปลาจะมีค่าสูงสุดในวันที่ 1 (12.73 และ 12.26 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 2
The 2nd STOU Graduate Research Conference

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการรอดของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์¹

Parameters	ปริมาณเมลามีนและกรดไคยานูรีค (ก./กก. อาหาร)						
	0 (ชุดควบคุม)	2.5:2.5	5:5	7.5:7.5	10:10	10:0	0:10
น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (ก.)							
Week 0	4.32±0.00	4.33±0.00	4.33±0.00	4.32±0.00	4.32±0.01	4.33±0.01	4.32±0.00
Weeks 2	9.08±0.26 ^{ab}	9.16±0.24 ^{ab}	9.27±0.25 ^{ab}	8.85±0.55 ^b	9.37±0.27 ^{ab}	8.30±0.23 ^c	9.42±0.36 ^a
Weeks 4	16.57±0.74 ^{ab}	16.00±0.52 ^{ab}	16.15±1.00 ^{ab}	15.49±1.13 ^b	16.23±0.86 ^{ab}	13.14±0.56 ^c	16.94±0.07 ^a
Weeks 6	29.05±0.78 ^a	27.31±0.89 ^{ab}	27.47±2.27 ^{ab}	26.53±1.01 ^b	27.42±2.40 ^{ab}	20.62±0.47 ^c	29.00±0.21 ^a
Weeks 8	47.08±2.33 ^a	42.62±1.12 ^b	42.69±3.21 ^b	42.23±2.02 ^b	44.48±3.58 ^{ab}	32.31±0.51 ^c	47.08±1.86 ^a
Weeks 10	66.45±3.69 ^{ab}	61.57±2.76 ^b	61.10±4.91 ^b	60.42±2.48 ^b	62.98±5.99 ^b	43.85±0.95 ^c	69.70±3.65 ^a
Weeks 12	89.26±5.95 ^{ab}	83.23±6.27 ^b	82.95±7.10 ^b	86.52±2.61 ^b	85.53±7.50 ^b	60.25±1.16 ^c	96.78±5.91 ^a
อัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ (%/วัน)							
Weeks 0-12	3.60±0.08 ^{ab}	3.52±0.09 ^b	3.51±0.11 ^b	3.57±0.04 ^b	3.55±0.11 ^b	3.13±0.02 ^c	3.70±0.07 ^a
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ							
Weeks 0-12	1.30±0.03 ^{bc}	1.39±0.09 ^b	1.36±0.12 ^{bc}	1.32±0.08 ^{bc}	1.37±0.15 ^b	1.60±0.06 ^a	1.23±0.02 ^c
ประสิทธิภาพการใช้อาหาร							
Weeks 0-12	2.56±0.05 ^a	2.14±0.17 ^c	2.21±0.09 ^{bc}	2.21±0.12 ^{bc}	2.04±0.14 ^c	1.72±0.08 ^d	2.40±0.06 ^{ab}
การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (เปอร์เซ็นต์)							
Weeks 0-12	40.05±0.77 ^a	32.82±2.55 ^{cd}	35.12±1.48 ^{bc}	34.34±1.77 ^{bcd}	31.83±2.24 ^d	27.60±1.25 ^e	36.55±0.88 ^b
อัตราการรอด(%)							
Weeks 0-12	95.00±5.03 ^a	89.00±6.00 ^a	90.00±2.31 ^a	90.00±4.00 ^a	88.00±5.66 ^a	76.00±3.27 ^b	92.00±4.62 ^a

ตัวเลขที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ด้วยซ้ำ 4 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 2
The 2nd STOU Graduate Research Conference

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัว และปริมาณเมลามินและกรดไซยานูริกที่ตกค้างในเนื้อปลาและเครื่องในที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 7 สูตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์¹.

Parameters	ปริมาณเมลามินและกรดไซยานูริก (ก./กก. อาหาร)						
	0 (ชุดควบคุม)	2.5:2.5	5:5	7.5:7.5	10:10	10:0	0:10
องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา (ก./กก.)							
น้ำหนักแห้ง	266.4±0.65	259.0±1.34	271.3±1.16	255.6±1.82	260.0±0.71	261.9±1.40	270.9±0.37
โปรตีน	553.4±1.07 ^{ab}	565.9±1.63 ^a	556.3±0.29 ^{ab}	559.0±0.95 ^{ab}	571.7±1.99 ^a	575.3±1.42 ^a	533.0±1.99 ^b
ไขมัน	266.1±0.15 ^{ab}	266.2±0.48 ^{ab}	269.0±0.97 ^a	260.9±0.71 ^{ab}	252.8±1.03 ^b	234.6±0.57 ^c	256.1±0.85 ^{ab}
เถ้า	148.2±0.09	141.6±0.39	142.7±0.44	145.3±0.14	144.6±0.09	155.1±0.24	155.3±0.26
ปริมาณเมลามินที่ตกค้าง (มก./กก.)							
เนื้อปลา	ND	280	200	200	1,670	520	ND
เครื่องใน	ND	80	150	250	4,950	3,140	ND
ปริมาณกรดไซยานูริกที่ตกค้าง (มก./กก.)							
เนื้อปลา	ND	ND	ND	ND	1,550	ND	1,400
เครื่องใน	ND	ND	130	140	1,440	ND	1,430

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (จากการวิเคราะห์ด้วยซ้ำ 3 ซ้ำ)

ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p>0.05)

ND =Not Detected

น้ำหนักตัว ในปลาคออเมริกันและปลาเรนโบว์เทราท์ตามลำดับ) และจะมีค่าลดลงต่ำกว่า 2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ภายในวันที่ 7 ในปลาคออเมริกันและภายใน 14 วันในปลาเรนโบว์เทราท์ ซึ่งสูงกว่าค่าที่หน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารประจำสหภาพยุโรป (EFSA, 2007) ได้เสนอให้มีการกำหนดค่าอนุโมลในการบริโภค melamine ต่อวันของมนุษย์และสัตว์ (Tolerable Daily Intake : TDI) ไว้ที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวัน (Burns, 2007; Chan et al., 2008; WHO, 2008; Heiene et al., 2009) ต่อวัน หากเปรียบเทียบกับปริมาณเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ตกค้างในเนื้อและเครื่องในจากการทดลองครั้งนี้พบว่า มีค่าสูงกว่ามาก ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.มะลิ บุญขันธ์พลิน ที่ปรึกษากรมประมงที่เป็นผู้ให้แนวคิดตั้งแต่เริ่มต้นงานวิจัย และได้ให้คำปรึกษาจนกระทั่งงานวิจัยบรรลุตามวัตถุประสงค์ งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการ NRU (National Research University Project) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ, ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE) และทุนวิจัยบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ (2552) การศึกษาลักษณะภายนอกและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปผลิตจากวัตถุดิบที่ปนเปื้อนของเมลามีนและกรดไซยานูริก. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17 – 20 มีนาคม 2552 : หน้า 490-499.
- นัทธ์ นันทพงศ์ และวุฒิพร พรหมขุนทอง (2554) ผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 28 มกราคม 2554 : หน้า 110.
- ปริญทิพย์ วงศ์ไทย, วิมล บุญญาวิวัฒน์, ชีราภรณ์ พูลพิพัฒน์ และภัทรา มูลจิตร (2551) ผลกระทบของเมลามีนต่อฟาร์มกบ ขุน. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46. 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2551 : หน้า 471-477.
- ปวีณา จันทรเล็ก และคณะ (2552) ผลของเมลามีน (melamine) ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในปลาคูงพันธุ์ผสม [*Clarias macrocephalus* (Gunther) x *Clarias gariepinus* (Burchell)]. วารสารการประมง 62 : หน้า 331-340.
- เขวามาเลย์ คำเจริญ (2550) เมลามีน (Melamine) ภัยร้ายในอาหารสัตว์ที่ผู้เลี้ยงต้องระวัง. ว. สัตว์เศรษฐกิจ 25. หน้า 8-12.
- เขวามาเลย์ คำเจริญ และสาโรช คำเจริญ (2550) วิธีตรวจเช็คการปลอมปนเมลามีนและอนุพันธ์เอมีน (Melamine and amine -derivatives) หรือ ยูเรียฟอร์มัลดีไฮด์ปลอมปนในอาหารสัตว์. ขอนแก่น: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : หน้า 48-77.

The 2nd STOU Graduate Research Conference

- Anderson, W.C., Turnispeed, S.B., Karbiwnyk, C.M. and Madson, M.R. (2007). Determination of melamine residues in catfish tissue by triple quadrupole LC-MS-MS with HILIC Chromatography. U.S. Food and Drug Administration, Animal Drug Research Center, Denver CO. Laboratory Information Bulletin LIB 4396 : p. 23.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). Official Methods of Analysis 15th Edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Burns, K. (2007). Events leading to the major recall of pet foods. J. Am. Vet. Med. Assoc. 230 : pp. 1600–1620.
- Chan, E.Y.Y., Griffiths, S.M. and Chan, C.W. (2008). Public-health risks of melamine in milk products. The Lancet 372 : pp. 1444-1445.
- Chen, J. S. (2009). A worldwide food safety concern in 2008- melamine-contaminated infant formula in China caused urinary tract stone in 290,000 children in China. J. Chinese Medical 122 : pp. 243-244.
- Di Giulio, R.T. and Hinton, D.E. (2008). The toxicology of fishes. New York: CRC Press.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2007. EFSA/contam/634 EFSA's provisional statement on a request from the European commission related to melamine and structurally related compounds such as cyanuric acid in protein-rich ingredients used for feed and food question. Available at URL:<http://cc.msnsnscache.com/cache.aspx?q=8339288095763&lang=en-MY&mkt=en-my&form=cvre>. (22 September 2010).
- FAO (Food and Agriculture Organization). (2008). The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. FAO Fisheries Circular No. 1018. Rome: FAO.
- Heiene, R., Rumsby, G., Ziener, M., A-Dahl, S., Tims, C., Teige, J. and Ottesen, N. (2009). Chronic kidney disease with three cases of oxalate-like nephrosis in Ragdoll cats. J. Feline Med. Surg. 11 : pp. 474-480.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). (1999). Some chemicals that cause tumours of the kidney, or urinary bladder in rodents and some other substances. IARC Monogr. Eval. Carcinogen. Risks. Hum. 73 : pp. 329-338.
- Nemil, G., Yildiz, S. and Gezer, E.D. (2005). Effects of melamine raw paper weight, varnish type and the structure of continuous pressed laminate (CPL) on the physical, mechanical properties and decay resistance of particleboard. Int. Biodeterior. Biodegrad. 56 : pp. 166–172.
- Newton, G. L. and Utley, P.R. (1978). Melamine as a dietary nitrogen source for ruminants. J. Anim. Sci. 47 : pp. 1338-1344.
- OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). (1999). Isocyanuric acid CAS No 108-80-5. Available at URL: <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDIDS/108805.pdf>. (22 September 2010).
- Phromkunthong, W., Nuntapong, N., Boonyaratpalin, M. and Viswanath, K. (2012). Toxicity of melamine, an adulterant in fish feeds: experimental assessment on its effects on tilapia. J. Fish Dis. In press.
- Phromkunthong, W., Nuntapong, N. and Gabaudan, J.(2010). Interaction of phytase RONOZYME®P(L) and citric acid on the utilization of phosphorus by common carp (*Cyprinus carpio*). Songklanakarin J. Sci. Technol. 32 : pp. 547-554.
- Puschner, B., Poppenga, R.H., Lowenstine, L.J., Filigenzi, M.S., Pesavento, P.A., (2007). Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. J. Vet. Diagn. Invest. 19 : pp. 616–624.
- Reimschuessel, R., Evans, E., Andersen, W.C., Turnipseed, S.B., Karbiwnyk, C.M., Mayer, T.D., Nochetto, C., Rummel, N.G. and Giesecker, C.M. (2009). Residue depletion

The 2nd STOU Graduate Research Conference

- of melamine and cyanuric acid in catfish and rainbow trout following oral administration. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 33 : pp. 172–182.
- Reimschuessel, R., Gieseke, C.M., Miller, R.A., Ward, J., Boehmer, J., Rummel, N., Heller, D.N., Nochetto, C., De Alwis, G.K., Bataller, N., Andersen, W.C., Turnipseed, S.B., Karbiwnyk, C.M., Satzger, R.D., Crowe, J.B., Reinhard, M.K., Roberts, J.F., Witkowski, M.R., (2008). Evaluation of the renal effects of experimental feeding of melamine and cyanuric acid to fish and pigs. *Am. J. Vet. Res.* 69 : pp. 1217–1228.
- Robinson, E.H. and Wilson, R.P. (1985). Nutrition and feeding. *In: Channel Catfish Culture.* (ed. Tucker, C.S.). Development in Aquaculture and Fisheries Science. Amsterdam: Elsevier. : pp. 323-404.
- Sánchez-Ferrer, A., Rodríguez-López, J.N., García-Cánovas, F., and García-Carmona, F. (1995). Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 1247 : pp. 1–11.
- Smith, J.L., Wishnok, J.S. and Deen, W.M. (1994). Metabolism and excretion of methyamines in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 125 : pp. 296-308.
- Tacon, A.G. and Metian, M. (2008). Aquaculture feed and food safety. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1140 : pp. 50-59.
- WHO (World Health Organization). (2008). Melamine and Cyanuric acid: Toxicity, Preliminary Risk Assessment and Guidance on Levels in Food. Available at URL: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/Melamine.pdf. (20 December 2010).
- Wu, Y.N., Zhao, Y.F., Li, J.G. and Melamine Analysis Group. (2009). A survey on occurrence of melamine and its analogues in tainted infant formula in China. *J. Biomed. Environ. Sci.* 22 : pp. 95-99.
- Xue, J., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Yang, Y. and Liufu, Z. (2011). Effects of melamine on growth performance and skin color of darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*). *Aquaculture*. 320 : pp. 142-146.
- Zeitoun, I.H., Jack, P.I., Halver, J.E. and Ullrey, D.E. (1973). Influence of salinity on protein requirement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling. *J. Fish. Res. Board Can.* 30 : pp. 1867-1873.