ผลของวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง

Effects of Water-soluble Vitamins in *Mystus nemurus*

ประกอบ เส้งสีแดง

Prakob Sengseedang

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2541

เลขหมู่ QL 639 ป46 2541 ก.2

Bib Key 171502

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง
ผู้เขียน	นายประกอบ เส้งสีแดง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณเจรัส)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณเจรัส)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์)

.....กรรมการ
(ดร. อุดส่าห์ จันทร์อำไพ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ก้าน จันทร์พรหมมา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง
ผู้เขียน	นายประกอบ เส้งสีแดง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา	2541

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ในการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิดที่มีต่อปลากดเหลือง โดยใช้อาหารทดสอบกึ่งบริสุทธิ์ การทดลองนี้มี 6 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ซึ่งกำหนดให้อาหารสูตรที่ 1 ไม่เสริมวิตามินใด ๆ อาหารสูตรที่ 2 เสริมวิตามินครบถ้วน อาหารสูตรที่ 3, 4, 5 และ 6 มีองค์ประกอบเช่นเดียวกันกับอาหารสูตรที่ 2 แต่ไม่เสริมวิตามมินบี $_1$, วิตามินบี$_2$, วิตามินบี$_5$ และวิตามินซี ตามลำดับ หลังจากทำการทดลองเลี้ยงปลาได้ 10 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1, 5 และ 6 แสดงลักษณะการขาดวิตามินให้เห็นอย่างชัดเจน คือ สีลำตัวคล้ำ หนีแสง เฉื่อยชา ตื่นตกใจง่าย เสียสมดุล ช็อคง่าย ระยางค์ต่าง ๆ สึกกร่อน เหงือกมีสีคล้ำ ซี่เหงือกฉีกขาด ตกเลือดบริเวณโคนครีบ ตาโปนและขาวขุ่น กินอาหารน้อยลง ลำตัวผอมบาง ลอยตัวที่ผิวน้ำและตาย การเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่รับอาหารสูตรที่ 2, 3 และ 4 นอกจากนี้ ยังพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 และ 5 มีอัตราการรอดตายต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ ปริมาณไขมันในตัวปลาที่ได้รับอาหารสูตรดังกล่าวมีค่าต่ำ และมีปริมาณเถ้าสูง ค่าขององค์ประกอบเลือด เช่น ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และ ซีรัมโปรตีน ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 ถึง 6 มีค่าปกติและไม่แตกต่างกันทางสถิติ พบความผิดปกติทางเนื้อเยื่อของเหงือก ตับ และ ไต ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1, 4, 5 และ 6

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของวิตามินบี $_5$ ระดับต่าง ๆ (0, 30, 50, 100, 150 และ 200 มก./กก.) ในปลากดเหลือง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินบี$_5$ แสดงอาการผิดปกติภายนอกให้เห็นอย่างชัดเจน การเจริญเติบโตไม่ดี อัตราการตายสูง พบความผิดปกติทางเนื้อเยื่อในเหงือก ตับ และ ไต นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณไขมันในตัวปลามีค่า

ต่ำ และปริมาณเถ้ามีค่าสูงกว่าปลาในชุดการทดลองอื่น ๆ ปลาที่รับอาหารเสริมวิตามินบี $_5$ ที่ระดับ 30 มก./กก. พบความผิดปกติเล็กน้อยที่เนื้อเยื่อตับ ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินบี$_5$ ที่ระดับ 50-200 มก./กก. ไม่พบความเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อหรือความผิดปกติภายนอกอื่น ๆ แต่อย่างใด โดยปลาเหล่านั้นมีการเจริญเติบโตและมีข้อมูลด้านอื่น ๆ ที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินบี $_5$ ที่ระดับต่ำกว่านี้ ดังนั้นจึงเสนอแนะให้เสริมวิตามินแพนโตเทนิก ลงในอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลืองขนาดปลานิ้วอย่างน้อย 50 มก./อาหาร 1 กก.

Thesis Title	Effects of Water-soluble Vitamins in *Mystus nemurus*
Author	Mr. Prakob Sengseedang
Major Program	Biological Sciences
Academic Year	1998

Abstract

The present study is divided into two chapters. In the first chapter, the effects of four water-soluble vitamins on yellow mystus development are described. Feed used was the semi-purified diet. Six treatments with three replications each comprised the experiment. Diet one lacked vitamin supplements and diet 2 contained a complete vitamin supplement. Diet 3, 4, 5, and 6 were identical to diet 2, but vitamin B_1, vitamin B_2, vitamin B_5 or vitamin C were deleted, respectively. After 10 weeks fish on diets 1, 5 and 6 exhibited vitamin deficiency symptom, had slowly growth and a poor feed conversion rate. Fish on diets 2, 3 and 4 exhibited better growth and a better feed conversion rate in comparison to fish on diets 1, 5 and 6. Fish survival on diets 1 and 5 was significantly lower than that on other treatments. Fish in treatments 1 and 5 had lower lipid and higher total ash than fish on other treatments. Blood components, i.e. hematocrit, hemoglobin and serum protein of fish on diets 2 to 6 showed no significant differences among treatments. Histological abnormalities i.e. gills, livers or kidneys were confined to fish on diets 1, 4, 5 and 6. In chapter 2, the effects of different concentrations of calcium pantothenate (0, 30, 50, 100, 150 and 200 mg/kg) were tested in yellow mystus. Fish fed the pantothenic acid-free diet performed poorly in terms of growth parameters and exhibited typical signs of pantothenic acid deficiency and high mortality. Histological studies showed pathology in gills, livers and kidneys of fish fed on a pantothenic acid nonsupplemented dite. Furthermore, lower lipids and higher total ash than fish on other treatments were also observed. Fish fed diet supplemented with 30

mg/kg showed slight liver lesions. In contrast, fish fed on diets containing 50 - 200 mg/kg did not show histological changes or external pathologies; they performed significantly better in growth and other parameters. It is thus recommended that the diet of yellow mystus fingerling must be supplemented with pantothenic acid to at least 50 mg/kg diet to give maximum growth and to avoid gross and histological signs of deficiency.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือ ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำปรึกษาอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณจรัส กรรมการที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.กิจการ ศุภมาตย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ท่านอาจารย์ ดร. อุตส่าห์ จันทร์อำไพ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ สารเคมีและอุปกรณ์บางอย่าง

ขอขอบคุณ คุณชูศักดิ์ บริสุทธิ์ จากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา ที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์กับการทดลอง ขอขอบคุณ คุณพงศธร ทุมสุวรรณ คุณเพทาย หิรัญพันธุ์ ตลอดจนข้าราชการและเจ้าหน้าที่ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุกท่าน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทดลองครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณ คุณสุภฎา คีรีรัฐนิคม และ ดร.วิสุทธิ์ วีระกุลพิริยะ ที่กรุณาอ่านตรวจทานต้นฉบับให้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอขอบคุณ คุณกัญญาและเด็กชายปัญญวุฒิ เส้งสีแดง ที่ให้กำลังใจและคอยช่วยเหลือสนับสนุนตลอดมา จนประสบความสำเร็จเรียบร้อยตามวัตถุประสงค์

ประกอบ เส้งสีแดง

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(12)
รายการรูป	(15)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(19)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
1.1 ชีววิทยาของปลากดเหลือง	3
1.1.1 อนุกรมวิธานของปลากดเหลือง	3
1.1.2 ลักษณะโดยทั่วไปของปลากดเหลือง	3
1.1.3 การแพร่กระจายของปลากดเหลือง	4
1.1.4 อาหารและนิสัยการกินอาหารของปลากดเหลือง	4
1.1.5 ลักษณะการแพร่ขยายพันธุ์ของปลากดเหลือง	5
1.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวิตามิน	5
1.2.1 การจำแนกกลุ่มของวิตามิน	5
1.2.1.1 วิตามินที่ละลายในไขมัน	6
1.2.1.2 วิตามินที่ละลายในน้ำ	7
1.2.2 ความสำคัญของวิตามินในปลา	11
1.2.2.1 วิตามินไทอะมีน	11
1.2.2.2 วิตามินไรโบฟลาวิน	14

บทที่		หน้า
	1.2.2.3 วิตามินแพนโตเทนิก	18
	1.2.2.4 วิตามินซี	20
	วัตถุประสงค์ของโครงการ	28
2.	วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	29
	วัสดุ	29
	อุปกรณ์	29
	วิธีการทดลอง	31
	2.1 การทดลองที่ 1	31
	2.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง	31
	2.1.2 การเตรียมวิตามินและแร่ธาตุ	32
	2.1.3 การเตรียมอาหารทดสอบ	35
	2.1.4 แผนการทดลอง	36
	2.2 การทดลองที่ 2	39
	2.2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง	39
	2.2.2 การเตรียมวิตามินและแร่ธาตุ	39
	2.2.3 แผนการทดลอง	39
3.	ผลการทดลอง	41
	3.1 การทดลองตอนที่ 1 ผลของวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิด	41
	3.1.1 ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลากดเหลือง	41
	3.1.1.1 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 1	41
	3.1.1.2 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 2	42
	3.1.1.3 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 3	42
	3.1.1.4 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 4	42
	3.1.1.5 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 5	43

บทที่		หน้า
	3.1.1.6 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 6	43
	3.1.2 การเจริญเติบโต.....	52
	3.1.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทุกสองสัปดาห์.....	52
	3.1.2.1 น้ำหนักของปลาที่เพิ่มขึ้น.....	53
	3.1.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ.....	54
	3.1.4 อัตราการรอดตาย.....	54
	3.1.5 การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือด.....	54
	3.1.6 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลา.....	55
	3.1.7 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา.....	61
	3.1.7.1 เหงือก.....	61
	3.1.7.2 ตับ.....	62
	3.1.7.3 ไต.....	62
	3.2 การทดลองตอนที่ 2 ผลของวิตามินแพนโตเทนิกระดับต่าง ๆ....	76
	3.2.1 ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลากดเหลือง.....	76
	3.2.2 การเจริญเติบโตของปลากดเหลือง.....	76
	3.2.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทุกสองสัปดาห์.....	76
	3.2.2.1 น้ำหนักของปลาที่เพิ่มขึ้น.....	77
	3.2.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ.....	77
	3.2.4 อัตราการรอดตาย.....	77
	3.2.5 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลา.....	78
	3.2.6 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา.....	83
	3.2.6.1 เหงือก.....	83
	3.2.6.2 ตับ.....	83
	3.2.6.3 ไต.....	83

บทที่	หน้า
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	90
4.1 วิจารณ์ผลการทดลอง ตอนที่ 1	90
4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง ตอนที่ 2	93
5. สรุปผลการทดลอง	95
ข้อเสนอแนะ	96
บรรณานุกรม	97
ภาคผนวก	113
ภาคผนวก ก : ตารางผนวกที่ ก-1 ถึง ก-12	113
ภาคผนวก ข : วิธีวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ	126
ภาคผนวก ค : วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด	129
ภาคผนวก ง : วิธีการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยา	133
ภาคผนวก จ : วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ	137
ประวัติผู้เขียน	146

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	แสดงอนุพันธ์หรือโคเอนไซม์ และ รูปแบบที่แอกทีฟของวิตามินที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่างๆ	8
1.2	คุณลักษณะของวิตามินที่สำคัญสำหรับปลาและแหล่งที่พบ	10
2.1	แสดงส่วนประกอบและปริมาณของวัสดุอาหารที่ใช้	33
2.2	แสดงชนิดและปริมาณวิตามินในอาหารทดสอบสำหรับชุดควบคุม สูตรวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2)	34
2.3	แสดงชนิดและปริมาณของแร่ธาตุ	35
3.1	สรุปลักษณะอาการของปลากดเหลือง เมื่อขาดวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิด และระยะเวลาที่เริ่มแสดงอาการขาด	45
3.2	แสดงน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหาร 6 สูตรเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)	57
3.3	แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของปลากดเหลืองภายหลังจากให้อาหารทดสอบแตกต่างกัน 6 สูตรติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)	59
3.4	แสดงองค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดสอบแตกต่างกัน 6 สูตรติดต่อกันเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)	60
3.5	แสดงน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิกแตกต่างกัน 6 ระดับ ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)	80
3.6	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองทั้งตัว ที่ได้รับอาหารทดสอบเสริมวิตามินแพนโตเทนิก ต่างกัน 6 ระดับเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)	82

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก-1	แสดงน้ำหนักปลากดเหลืองเฉลี่ยต่อตัว(เป็นกรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1).....	114
ก-2	แสดงอัตราการรอดตาย(%) ของปลากดเหลือง ที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1).....	115
ก-3	แสดงน้ำหนักอาหารที่ปลากดเหลือง กินเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1).....	116
ก-4	แสดงน้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหาร 6 สูตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1).....	117
ก-5	แสดงอัตราการรอดตายของลูกปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1).....	118
ก-6	แสดงน้ำหนักปลากดเหลืองเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2).....	119
ก-7	แสดงน้ำหนักอาหาร(กรัม) ที่ปลากดเหลืองกินเฉลี่ยต่อตัวในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2).....	120
ก-8	แสดงน้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก แตกต่างกัน 6 ระดับ ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2).....	121
ก-9	แสดงอัตราการรอดตาย(%) ของปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก ปริมาณแตกต่างกัน 6 ระดับ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2).....	122
ก-10	แสดงอัตราการรอดตายของลูกปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก ปริมาณแตกต่างกัน 6 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2).....	123
ก-11	แสดงผลการวิเคราะห์น้ำจากการสุ่มตัวอย่างน้ำในแต่ละชุดการทดลองระหว่างทำการทดลอง (การทดลองที่ 1).....	124

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก-12	แสดงผลการวิเคราะห์น้ำจากการสุ่มตัวอย่างน้ำในแต่ละชุดการทดลองระหว่างทำการทดลอง (การทดลองที่ 2).....	125

รายการรูป

รูปที่		หน้า
ก-1	แสดงปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของ FAD และ FMN	15
1	ภาพเหงือกปกติของปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 2 (วิตามินครบถ้วน) ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์(ชุดควบคุมที่ 2 การทดลองที่ 1).....	47
2	ภาพเหงือกปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) ติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์(ชุดควบคุมที่ 1 การทดลองที่1).....	47
3	ภาพเหงือกปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) ติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (การทดลองที่1).....	47
4	ภาพแสดงการเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (T_2) กับปลาที่ได้รับอาหารขาดวิตามินทุกชนิด(T_1) (การทดลองที่ 1).....	49
5	ภาพแสดงการเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (T_2) กับปลาที่ได้รับอาหารขาดวิตามินไทอะมีน (T_3) (การทดลองที่ 1).....	49
6	ภาพแสดงการเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (T_2) กับปลาที่ได้รับอาหารขาดวิตามินไรโบฟลาวิน (T_4) (การทดลองที่ 1).....	51
7	ภาพแสดงการเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (T_2) กับปลาที่ได้รับอาหารขาดวิตามินแพนโตเทนิก (T_5) (การทดลองที่ 1).....	51
8	ภาพแสดงการเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (T_2) กับปลาที่ได้รับอาหารขาดวิตามินซี (T_6) (การทดลองที่ 1).....	51
9	กราฟแสดงการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่1).....	56

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
10	กราฟแสดงอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่1).....	58
11	แสดงลักษณะของซี่เหงือกปกติของปลาที่รับอาหารทดสอบวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2 การทดลองที่ 1)	65
12	แสดงลักษณะเหงือกปกติของปลาที่รับอาหารทดสอบวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นเซลล์เยื่อบุผิว	65
13	ภาพแสดงลักษณะโครงสร้างของซี่เหงือกที่ผิดปกติของปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินทุกชนิด (สูตรที่ 1 การทดลองที่ 1)	67
14	ภาพแสดงซี่เหงือกของปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบขาดวิตามินทุกชนิด (สูตรที่ 1 การทดลองที่1) ที่เกิดการรวมตัว ของเซลล์เยื่อบุผิวของ secondary gill lamellae ทำให้เกิดเป็นรูปกระบอง	67
15	ภาพแสดงการเกิดช่องว่างภายในเซลล์ และเกิดการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์ซี่เหงือกปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบขาดวิตามินแพนโต-เทนิก (สูตรที่ 5 การทดลองที่1)	69
16	ภาพแสดงซี่เหงือกรูปกระบอง, ช่องว่างภายในเซลล์ และเกิดการแยกตัวของเซลล์เยื่อบุผิวซี่เหงือกของปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบขาดวิตามินแพนโตเทนิก (สูตรที่ 5 การทดลองที่1).....	69
17	ภาพเหงือกปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบขาดวิตามินซี (สูตรที่ 6 การทดลองที่ 1) แสดงให้เห็นการแยกตัวของเซลล์เยื่อบุผิวซี่เหงือก.....	71
18	ภาพแสดงลักษณะปกติของเซลล์ตับปลากดเหลืองที่รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2 การทดลองที่ 1).....	71
19	ภาพแสดงความผิดปกติของเซลล์ตับปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินทุกชนิด (สูตรที่ 1 การทดลองที่ 1).....	73
20	ภาพแสดงความผิดปกติของเซลล์ตับปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินทุกชนิด (สูตรที่ 1 การทดลองที่ 1).....	73

racker) มีลักษณะสั้นขนาดเล็กปลายแหลมมีอยู่ 15 ซี่ ตาขนาดปานกลาง ตาไม่มีหนังปกคลุม ขอบล่างของตาอยู่เหนือระดับริมฝีปาก มีหนวด 4 คู่ คือที่จมูก ริมฝีปากบน ริมฝีปากล่าง และใต้คาง ครีบหลังและครีบหูมีก้านครีบแข็ง ครีบละ 1 ก้าน มีลักษณะเป็นฟันเลื่อย (serrate) อยู่ทางด้านหลังของก้านครีบ ครีบไขมันเจริญดี มีขนาดใหญ่และยาวอยู่บนด้านหลังของส่วนท้ายลำตัวและอยู่ตรงข้ามครีบก้น ครีบหลังประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 1 ก้าน และก้านครีบอ่อน 7 ก้าน ครีบหูมีเงี่ยงแหลมคม 1 คู่ มีก้านครีบอ่อน ข้างละ 9 ก้าน ครีบท้องมีก้านครีบอ่อน 6-7 ก้าน ครีบก้นมีก้านครีบอ่อน 10-11 ก้าน ครีบหางเว้าลึก แฉกบนยาวกว่าแฉกล่าง ลำตัวมีสีน้ำตาลปนเหลือง ด้านหลังสีน้ำตาลปนเขียว ท้องสีเหลืองอ่อน (โยธิน ลีลานนท์ และ รังสิต แย้มเอิบสิน, 2524) ลักษณะของสีจะเปลี่ยนแปลงตามอายุ ขนาดและที่อยู่อาศัย (Smith, 1965)

1.1.3 การแพร่กระจายของปลากดเหลือง

ปลากดเหลืองเป็นปลาเขตร้อน อาศัยอยู่ตามพื้นท้องน้ำที่เป็นแก่งหิน หรือพื้นดินแข็ง และมีกระแสน้ำไหลไม่แรงนัก ที่ระดับความลึก 2-10 เมตร (โยธิน ลีลานนท์ และ รังสิต แย้มเอิบสิน, 2524) พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในหมู่เกาะอินเดียตะวันออก ไปถึงแหลมมาลายูอันได้แก่ ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียตนาม ประเทศไทย ประเทศมาเลเซีย และหมู่เกาะอินโดนีเซีย (Smith, 1965; Khan, 1994) สำหรับประเทศไทย ปลากดเหลืองมีแหล่งอาศัยอยู่ทั่วไป ในทุกภาคของประเทศ ตลอดจนบริเวณน้ำกร่อยปากแม่น้ำ แต่ละพื้นที่มีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่น เช่น ปลากดเหลือง ปลากดนา ปลากดขาว ปลากดคลอง ปลากลาง หรือปลากดกลาง

1.1.4 อาหารและนิสัยการกินอาหารของปลากดเหลือง

ปลากดเหลืองจัดเป็นปลาที่กินเนื้อเป็นอาหาร เนื่องจากกระเพาะอาหารมีลักษณะตรง ผนังด้านในมีสีขาว และจากการศึกษาอาหารที่พบในกระเพาะอาหารของปลากดเหลืองที่จับได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ปรากฏว่าส่วนใหญ่จะเป็นปลาขนาดเล็ก 45-68 เปอร์เซนต์ รองลงมาคือ ตัวอ่อนของแมลง 17-32 เปอร์เซนต์ กุ้งฝอย 2.7-5.03 เปอร์เซนต์ พวกเศษพันธุ์ไม้น้ำ 0.4-2.2 เปอร์เซนต์ ที่เหลือเป็นพวกเศษกรวด หิน และดินโคลนประมาณ 10 เปอร์เซนต์ (โยธิน ลีลานนท์ และรังสิต แย้มเอิบสิน, 2524) และ Khan, *et al.* (1993) พบว่าปลากดเหลืองขนาดความยาวประมาณ 12-13 เซนติเมตร น้ำหนักตัวประมาณ 25 กรัม จะมีความต้องการปริมาณโปรตีน เพื่อการเจริญเติบโตที่ระดับ 42 เปอร์เซนต์ของ

อาหาร และในปีค.ศ.1994 Khanได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพการย่อย และ การดูดซึมอาหารของปลากดเหลือง พบว่าปลากดเหลืองสามารถย่อยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากเนื้อปลาได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ถั่วเหลือง รำข้าว เนื้อมะพร้าว ข้าวโพด และไส้ไก่ย่อยได้น้อยที่สุด

1.1.5 ลักษณะการแพร่ขยายพันธุ์ของปลากดเหลือง

ในประเทศไทย พบว่าฤดูวางไข่ของปลากดเหลือง อยู่ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน และปลาที่มีอายุประมาณ 1 ปี สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้ (โยธิน ลีลานนท์ และรังสิต แย้มเอิบสิน, 2524) สำหรับภูมิภาคอื่น ๆ ฤดูผสมพันธุ์วางไข่จะแตกต่างกันไปตามปริมาณน้ำฝนที่ตกในรอบปีเช่น ในประเทศอินโดนีเซีย อยู่ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนเมษายน ในประเทศมาเลเซีย มีอยู่ 2 ช่วงคือ ช่วงแรกในเดือนกุมภาพันธ์ จนถึงเดือนพฤษภาคม ช่วงที่สองคือเดือนสิงหาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน ฤดูกาลวางไข่ผสมพันธุ์ของปลากดเหลืองในแต่ละภูมิภาค จะสอดคล้องกับปริมาณน้ำฝน และระดับความสูงของน้ำในแหล่งธรรมชาติ สำหรับสัดส่วนของปลาเพศผู้ต่อเพศเมีย ที่พบจากธรรมชาติคือ 1:1.06 โดยที่ขนาดของปลาที่เริ่มผสมพันธุ์ได้ประมาณ 18 เซนติเมตร ปริมาณความดกของไข่ปลากดเหลืองขึ้นอยู่กับขนาดของแม่พันธุ์ปลา เช่น ปลาที่ความยาวในช่วง 34.8 - 45.0 เซนติเมตร จะมีจำนวนไข่อยู่ในช่วงตั้งแต่ 6,900 ถึง 93,510 ฟอง (Khan, *et al.*, 1990) โยธิน ลีลานนท์ และ รังสิต แย้มเอิบสิน (2524) รายงานว่า แม่ปลาที่มีความยาว 18 เซนติเมตรจะมีไข่ประมาณ 12,500 ฟองต่อตัวในขณะที่แม่ปลาที่ยาว 30 เซนติเมตร จะให้ไข่ประมาณ 40,000 ฟองต่อตัว

1.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวิตามิน

1.2.1 การจำแนกกลุ่มของวิตามิน

วิตามินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามคุณสมบัติของการละลาย คือ วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ, วิตามินดี, วิตามินอี, วิตามินเค และวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ได้แก่กลุ่มของวิตามินบีรวม (B-complex) ซึ่งมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน ที่สำคัญมี 8 ชนิด และยังรวมถึง กลุ่มของวิตามินที่สัตว์น้ำต้องการเป็นปริมาณมาก (macrovitamin) ได้แก่ วิตามินซี, โคลีนคลอไรด์ และอิโนซิทอล ซึ่งสองชนิดหลังนี้บางตำราไม่ได้จัดให้อยู่ในพวก

วิตามิน แต่ได้จัดเป็นพวกวิตามินเทียม (pseudovitamins) (Machlin, 1991) รายชื่อของวิตามินแต่ละชนิดรวมทั้งแหล่งที่พบแสดงไว้ในตารางที่ 1.2

1.2.1.1 วิตามินที่ละลายในไขมัน (fat-soluble vitamins)

วิตามินกลุ่มนี้มีคุณสมบัติละลายได้ดีในไขมัน มี 4 ชนิด ได้แก่ วิตามินเอ, วิตามินดี, วิตามินอี และวิตามินเค วิตามินเอ มีความจำเป็นต่อเซลล์เยื่อบุผิว ช่วยป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ วิตามินดี มีความสำคัญต่อการดูดซึมและการสะสมแคลเซียมในร่างกาย วิตามินอี มีความสำคัญในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันต่าง ๆ ที่จะทำความเสียหายให้กับเซลล์ (Lovell, 1989) และวิตามินเค มีความสำคัญต่อการแข็งตัวของเลือดโดยทำงานร่วมกับแคลเซียมในการเปลี่ยนโปรทรอมบิน (prothrombin) เป็นทรอมบิน (thrombin) (Lovell, 1989) วิตามินเหล่านี้สามารถสะสมในร่างกายได้มากกว่าวิตามินที่ละลายในน้ำ เนื่องจากวิตามินที่ละลายในน้ำถูกนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว และถูกขับออกนอกร่างกายเมื่อได้รับมากเกินความต้องการ ในขณะที่วิตามินที่ละลายในไขมันจะสะสมในร่างกายเมื่อได้รับมากเกินความต้องการของร่างกายวิตามินที่ละลายในไขมันจะถูกดูดซึมเข้าที่ลำไส้พร้อมกับการดูดซึมไขมัน โดยถ้าดูดซึมไขมันได้มากก็จะได้วิตามินที่ละลายในไขมันมากเช่นกัน การดูดซึมของวิตามินที่ละลายในไขมัน เหมือนการดูดซึมของไขมันทั่วไป โดยที่ส่วนหนึ่งจะรวมตัวกับไมเซลล์ (micells) ที่ประกอบไปด้วยเกลือน้ำดีและไขมันที่ถูกย่อยแล้ว เมื่อเข้ามาในเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กแล้วก็จะรวมตัวกับไคโลไมครอน (chylomicron) แล้วออกจากเซลล์ไปทางท่อน้ำเหลือง (Halver, 1989) สำหรับวิตามินเอ, วิตามินดี และวิตามิน$เค_3$ (menadione) จะถูกดูดซึมแบบอิสระไม่รวมกับไมเซลล์ และจะออกจากเซลล์ของลำไส้เล็กทางเส้นเลือด ส่วนวิตามินเอ, วิตามินอี และวิตามิน$เค_1$ (phylloquinone) วิตามิน$เค_2$ (menaquinone) การดูดซึมต้องอาศัยไมเซลล์ เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตแล้วก็จะถูกขนส่งไปยังตับโดยไคโลไมครอน (chylomicron) วิตามินเอ, วิตามินดี และวิตามินเค จะถูกเก็บสะสมไว้ในตับ ส่วนวิตามินอี จะถูกเก็บสะสมไว้ในเนื้อเยื่อไขมัน การขนส่งวิตามินพวกนี้ในกระแสเลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย อาศัยไลโปโปรตีน (lipoprotein) โปรตีนที่จำเพาะ (specific binding protein) เนื่องจากวิตามินกลุ่มนี้ไม่ละลายในพลาสมาเหมือนวิตามินที่ละลายในน้ำ ดังนั้นวิตามินที่ละลายได้ในไขมันจะไม่ถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะแต่

จะพบในน้ำดี และจะถูกขับออกนอกร่างกายทางอุจจาระ และถ้าได้รับวิตามินละลายในไขมันมากเกินความต้องการของร่างกาย (hypervitaminosis) ก็จะทำให้เกิดพิษในร่างกายได้ เนื่องจากสัตว์สามารถเก็บสะสมวิตามินละลายในไขมันไว้ในร่างกายได้มาก อาการขาดบางครั้งจะใช้เวลานานกว่าจะปรากฏอาการออกมาให้เห็นอย่างชัดเจน (Halver, 1989)

1.2.1.2 วิตามินที่ละลายในน้ำ (water-soluble vitamins)

วิตามินในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิตามินบีรวม ซึ่งทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์หลายชนิด (ดังตารางที่ 1.1) วิตามินซี, โคลีนคลอไรด์ และ มัยโออิโนซิทอล ซึ่งทั้ง 3 ชนิดหลังนี้เป็นวิตามินที่ร่างกายต้องการในปริมาณมาก (macrovitamin) (Lovell, 1989) วิตามินละลายได้ในน้ำทุกชนิดยกเว้นวิตามินB_{12} ถูกสังเคราะห์ขึ้นในพืชและยีสต์ นอกจากนี้ยังพบในนมและเนื้อสัตว์ (ดังตารางที่ 1.2) ทั้งวิตามินบีรวมและวิตามินซี ไม่มีรูปสะสมที่เสถียร จึงต้องได้รับจากอาหารตลอดเวลา (ยกเว้นวิตามินB_{12} ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่) เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำของวิตามินชนิดนี้ จึงถูกขับออกจากร่างกายได้ทางปัสสาวะ และจะไม่ถูกสะสมไว้ในร่างกาย (Combs, 1992)

ตารางที่ 1.1 แสดงอนุพันธ์หรือโคเอนไซม์ และรูปแบบที่แอกทีฟของวิตามินที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่าง ๆ (Garrett and Grisham, 1995)

วิตามิน	อนุพันธ์หรือโคเอนไซม์ : รูปแบบที่แอกทีฟ	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง
ไทอะมีน (thiamine)	ไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate)	ขนย้ายหมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde)
ไรโบฟลาวิน (riboflavin)	ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (flavin adenin dinucleotide; FAD) และ ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ (flavin mononucleotide ; FMN)	ออกซิเดชัน - รีดักชัน (oxidation - reduction)
ไนอะซิน (niacin)	นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (nicotinamide adinine dinucleotide ; NAD^+)และ นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (nicotinamide adinine dinucleotide phosphate ; $NADP^+$)	ออกซิเดชัน - รีดักชัน
ไพริดอกซีน (pyridoxine)	ไพริดอกซอลฟอสเฟต (pyridoxal phosphate)	ขนย้ายหมู่อะมิโน (amino)
แพนโตเทนิก (pantothenic acid)	โคเอนไซม์เอ (Co A)	ขนย้ายหมู่เอซิล (acyl)
ไบโอติน (biotin)	ไบโอติน-ไลซีนคอมเพล็ก (biotin - lysine complex) หรือ ไบโอไซติน (biocytin)	คาร์บอกซิเลชัน (caboxylation)
โฟลิก (folic acid)	เตตระไฮโดรฟอเลต(tetrahydrofolate)	ขนย้ายหมู่ที่มีคาร์บอน 1อะตอม

ตารางที่ 1.1 (ต่อ)

วิตามิน	อนุพันธ์หรือโคเอนไซม์ : รูปแบบที่แอกทีฟ	ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง
ไซยาโนโคบาลามิน (cyanocobalamin)	โคเอนไซม์คาร์บาไมด์ (5′-deoxyadenosylcobalamin; methylcobalamin)	อัลไคเลชัน (alkylation)
โคลีน (choline)[1]	อะเซทิลโคลีน (acetylcholine)	เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิด และให้หมู่เมทิลแก่สารอื่น
อิโนซิทอล (inosital)[1]	ไมโออิโนซิทอล (myo - inositol)	เป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์ และเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตสำรองในกล้ามเนื้อ
วิตามินซี[1]	แอล - แอสคอร์บิก (L - ascorbic acid)	การเติมหมู่ไฮดรอกซี, สร้างคอลลาเจน (collagen)
วิตามินเอ	เรตินอล (All - trans - retinol)	วัฏจักรการมองเห็น
วิตามินดี	1, 25 - ไดไฮดรอกซีโคลีแคลซิเฟอรอล (1, 25 -dihydroxyvitamin D_3)	เมแทโบลิซึมของแคลเซียม
วิตามินอี	แอลฟา - โทโคเฟอรอล (α - tocoferal)	ป้องกันการออกซิไดส์, ป้องกันเยื่อเซลล์
วิตามินเค	แกมมา - คาร์บอกซีกลูตามิก (γ - carboxyglutamic acid)	โคแฟกเตอร์ในปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชัน

หมายเหตุ 1 : ไม่ได้เป็นโคเอนไซม์หรือส่วนประกอบของโคเอนไซม์

ตารางที่ 1.2 คุณลักษณะของวิตามินที่สำคัญสำหรับปลาและแหล่งที่พบ (Halver, 1989)

ชื่อวิตามิน	กลุ่ม	การละลาย	แหล่งที่พบมาก
ไทอะมีน	บี	ละลายในน้ำ	พืชมีฝัก รำ ยีสต์
ไรโบฟลาวิน	บี	ละลายในน้ำ	ยีสต์ ตับ นม ถั่วเหลือง
ไพริดอกซีน	บี	ละลายในน้ำ	ยีสต์ ธัญพืช
แพนโตเทนิก	บี	ละลายในน้ำ	รำ ยีสต์ เครื่องในสัตว์ เนื้อปลาสด
ไนอะซิน	บี	ละลายในน้ำ	ยีสต์ พืชมีฝัก
ไบโอติน	บี	ละลายในน้ำ	ตับ ยีสต์ ผลิตภัณฑ์ของนม
โฟลิก	บี	ละลายในน้ำ	ยีสต์ เนื้อเยื่อและเครื่องในของปลาใบพืช ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์
บี$_{12}$; APF*	บี	ละลายในน้ำ	ปลาป่น เครื่องในปลา
โคลีน	-	ละลายในน้ำ	ข้าวสาลีที่กำลังงอก พืชมีฝัก
อิโนซิทอล	-	ละลายในน้ำ	พืชมีฝัก ยีสต์ ข้าวสาลีที่กำลังงอก
กรดแอสคอร์บิก; ซี	-	ละลายในน้ำ	ผลไม้รสเปรี้ยว เนื้อปลาสด
เรตินอล; เอ	-	ละลายในไขมัน	น้ำมันปลา
โคลีแคลซิเฟอรอล; ดี	-	ละลายในไขมัน	น้ำมันปลา
โทโคเฟอรอล; อี	-	ละลายในไขมัน	น้ำมันพืช
แนฟโทควิโนน; ฟิลโลควิโนน; เค	-	ละลายในไขมัน	ใบพืชที่ใช้เป็นอาหารสัตว์

หมายเหตุ *APF=Animal protein factor

1.2.2 ความสำคัญของวิตามินในปลา

สัตว์หลายชนิดรวมทั้งปลา ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินได้เอง หรืออาจสังเคราะห์ได้ แต่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร การศึกษาความต้องการวิตามินในปลาได้กระทำกันมานานแล้วโดยมุ่งศึกษาทั้งวิตามินละลายในน้ำและวิตามินละลายในไขมัน มีรายงานครั้งแรกโดย Jewell, *et al.*(1933) (quoted in Halver, 1989) ซึ่งเป็นความรู้พื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาความต้องการวิตามินของปลาในเวลาต่อมา ในปัจจุบันระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นแบบหนาแน่น (intensive culture) (Watanabe, 1988) ดังนั้นการเสริมวิตามินในอาหาร จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการที่จะประกันการเจริญเติบโต อัตราการรอด และผลผลิตของปลาที่เพาะเลี้ยง

ปลาแต่ละชนิด มีความต้องการวิตามินทั้งในแง่ชนิดและปริมาณแตกต่างกัน โดยทั่วไปปลาในกลุ่มที่มีพฤติกรรมการกินอาหารคล้ายกัน เช่น ปลากินพืช ปลากินเนื้อ หรือปลากินทั้งพืชและเนื้อจะมีความต้องการวิตามินคล้ายกันแต่ระดับความต้องการอาจแตกต่างกันบ้าง ขึ้นกับ อายุ ขนาด และสภาพแวดล้อม รวมทั้งความสัมพันธ์ของสารอาหาร สำหรับอาการเบื้องต้นของการขาดวิตามินในปลาจะคล้ายกัน คือ เบื่ออาหาร อัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงขึ้น และสีของลำตัวเข้มขึ้น แต่อาจมีอาการผิดปกติของเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกายแตกต่างกันไป (Halver, 1989) ดังนั้นการศึกษาถึงชนิดและระดับความต้องการที่พอเหมาะของวิตามินแต่ละชนิด สำหรับการเจริญเติบโตของปลาแต่ละชนิดจึงเป็นสิ่งจำเป็น

1.2.2.1 วิตามินไทอะมีน

วิตามินไทอะมีนเป็นโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde) ซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยาที่สำคัญ 2 ชนิดคือ ออกซิเดทีฟดีคาร์บอกซีเลชัน ของแอลฟาคีโตแอสิด (α-ketoglutarate และ pyruvate) และทรานสคีโตเลส ซึ่งเกี่ยวข้องกับเมแทโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในการสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอาหาร การขาดไทอะมีนทำให้เกิดโรคเหน็บชา (beriberi) ในคน และอาการโรคประสาทชา (polyneuritis) ในนก (Woodward, 1994; Garrett and Grisham, 1995)

วิตามินไทอะมีนถูกดูดซึมที่ลำไส้ การเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของโคเอนไซม์ ต้องการเอนไซม์ไทอะมีนไพโรฟอสโฟทรานสเฟอเรส (ATP - dependent thiamine pyrophospho - transferase) หรือไทอะมีนไพโรฟอสโฟไคเนส (thiamine pyrophosphokinase)

ซึ่งพบในสมองและตับ และเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) ในระบบทางเดินอาหารและในเนื้อเยื่อสามารถกำจัดไพโรฟอสเฟตออกจากไทอะมีนไพโรฟอสเฟตได้ ซึ่งไทอะมีนไพโรฟอสเฟต เป็นเอสเทอร์ของกรดไพโรฟอสโฟริก (pyrophosphoric acid ester) ของไทอะมีน ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับคาร์บอนอะตอมที่ 2 ของวงแหวนไทอะโซล โดยที่ไฮโดรเจนอะตอม ที่คาร์บอนอะตอมที่ 2 จะแตกตัวออกไปเป็นโปรตอน (H^+) ทำให้เกิดคาร์แบนไอออน (carbanion) และคาร์แบนไอออนนี้จะเข้าไปเกี่ยวข้องใน ปฏิกิริยาที่กล่าวมาแล้ว คือ ดีคาร์บอกซีเลชันของกรดแอลฟาคีโต (α-keto acid) เช่น แอลฟาคีโตกลูตาเรต (α-keto glutarate) และแอลฟาคีโตไพรูเวต (α-keto pyruvate)

วิตามินไทอะมีน มีความสำคัญเกี่ยวกับกระบวนการทางชีวเคมีของคาร์โบไฮเดรต และไขมันในปลา ได้มีการศึกษาถึงระดับความต้องการไทอะมีนในปลาหลายชนิด ทำให้ทราบว่าปลาแต่ละชนิดมีระดับความต้องการวิตามินต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพการเลี้ยงเช่นเลี้ยงในบ่อหรือตู้กระจก ชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงตลอดจนสภาพแวดล้อมอื่น ๆ โดยที่Morito, *et al.* (1986) เสนอแนะว่าปลาเรนโบว์เทราท์ต้องการไทอะมีนไม่เกิน 2 มก./กก.ซึ่งอยู่ในช่วงแนะนำของสภาวิจัยแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (NRC, 1983) แต่สูงกว่าปริมาณที่รายงานถึงความต้องการในปลากดอเมริกัน *(Ictalurus punctatus)* วัยอ่อน (ปลานิ้ว) และปลาไน (*Cyprinus carpio*) (Murai and Andrews,1979; Aoe, *et al.*, 1969) ส่วนปลาเทอร์บ็อต (*Scophthalmus maximus*) ก็ต้องการไทอะมีนในปริมาณใกล้เคียงกับปลากดอเมริกัน (Cowey, *et al.*, 1975) ปลาในกลุ่มแคชฟีชและปลาไน มีความต้องการไทอะมีนอยู่ในเกณฑ์ต่ำ คือ ปลาดุกด้าน *(Clarias batrachus)* ไม่พบว่ามีความต้องการขณะที่ทำการทดลอง (Butthep, *et al.*, 1985) ในปลากดอเมริกันมีความต้องการ 1 มก./กก.(Murai and Andrews, 1978) สำหรับปลาไนมีความต้องการไทอะมีน 0.5 มก./กก. ในขณะที่ปลาในกลุ่มปลาเทราท์มีความต้องการสูงกว่า โดยที่ปลาเรนโบว์เทราท์ *(Salmo gairdneri)* ต้องการ 1-12 มก./กก.(McLaren *et al.*, 1947; Morito, *et al.*, 1986; Halver, 1972) และ Halver (1989) พบว่าปลาบราวเทราท์ (*S. trutta*) ปลาบรุคเทราท์ *(Salvelinus fontinalis)* ต้องการไทอะมีน 10-12 มก./กก.ปลาชินุคแซลมอน *(Oncorhynchus tshawytscha)* ปลาโคโฮแซลมอน *(O. kisutcha)* ปลาแอตแลนติกแซลมอน *(Salmo salar)* มีความต้องการไทอะมีนที่ระดับ 10-15 มก./กก.ในขณะที่ปลาเทอร์บ็อตต้องการอยู่ในช่วง 0.6-2.6 มก./กก.เท่านั้น (Cowey, *et al.*, 1975) และ

ปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambica* X *O. urolepis hornorum*) ต้องการไทอะมีน 2.5 มก./กก.(Lim, *et al.*, 1993)

ไทอะมีนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไทอะมิเนสซึ่งมีอยู่ในเนื้อปลาและหอยสดแต่เอนไซม์ดังกล่าวจะไม่อยู่ตัวที่อุณหภูมิขึ้นเกิน 80 องศาเซลเซียส ในการเตรียมอาหารปลาจึงควรป้องกันการสูญเสียไทอะมีน ด้วยการเติมไทอะมีนในปริมาณ 10-15 มก./กก. ในปลาพวกแคชฟิชและปลาไน ต้องการไทอะมีนในปริมาณต่ำกว่าปลากินเนื้อที่อาศัยอยู่ในเขตอบอุ่น

ได้มีผู้ทำการศึกษาผลของการขาดวิตามินไทอะมีน ไว้ในปลาหลายชนิด Dupree (1966) และ Murai and Andrews (1978) รายงานว่าปลากดอเมริกันที่ขาดวิตามินไทอะมีนแสดงอาการเสียสมดุล มีอาการทางประสาทและมีอาการคล้าย ๆ กันในปลาไนและในปลาเรดซีบรีม *(Chrysophrys major)* (Aoe, *et al.*, 1969) สำหรับปลาไน จะพบอาการตกเลือด และสีลำตัวซีดจางเพิ่มขึ้นอีกด้วย จากการทดลองในปลาแซลมอนพบว่าเมื่อขาดวิตามินนี้ทำให้ปลามีความบกพร่องทางระบบประสาท การกินอาหารลดลง เจริญเติบโตต่ำ ช็อคได้ง่าย ในปลาไหลญี่ปุ่น *(Anguilla japonica)* พบว่ามีการคดงอของลำตัว ตกเลือดและเลือดคั่งบริเวณใต้ผิวหนังและครีบ (Tacon, 1991 quoting Hashimoto, *et al.*, 1970) ส่วน Murai and Andrews (1978) พบว่าปลาแสดงอาการผิดปกติเพียงกินอาหารน้อยลง ตัวมีสีดำคล้ำเช่นเดียวกับปลาหมอที่มีอาการสีผิวลำตัวซีดจาง และพบว่าค่าฮีมาโตคริตต่ำอีกด้วย (Lim, *et al.*, 1991)

ประเสริฐ สีตะสิทธิ์ และคณะ (2527) พบว่าปลาดุกอุย *(C. macrocephalus)* ขาดวิตามินชนิดนี้ จะมีอาการเบื่ออาหาร ตัวสีดำคล้ำ ว่ายน้ำหมุนตัวอย่างรวดเร็ว เสียสมดุลในการว่ายน้ำ พบอาการตกเลือดเล็กน้อยที่ฐานครีบหลัง และพบว่าอาการดังกล่าวจะหายไปเมื่อปลาดุกได้รับอาหารเสริมวิตามินไทอะมีนกลับเข้าไปใหม่ในช่วง 1 - 3 สัปดาห์แรก ซึ่ง Boonyaratpalin and Wanakowat (1993) และ Phromkunthong, *et al.* (1993b) ก็พบว่าปลากะพงขาวที่ขาดวิตามินไทอะมีน จะมีอาการเบื่ออาหาร ลำตัวจะมีสีดำเข้มขึ้น การเจริญเติบโตไม่ดี มีอาการช็อค และตายในที่สุด

Masumoto, *et al.* (1987) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานสคีโตเลส และระดับของไทอะมีนไพโร-

ฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate) ในเม็ดเลือด (erythrocytes) และในตับของปลาเรนโบว์-เทราท์ โดยเลี้ยงปลาด้วยอาหารบริสุทธิ์ที่ปราศจากไทอะมีน เป็นเวลา 30 สัปดาห์ สังเกตพบว่าปลาที่ขาดไทอะมีน จะมีอาการเบื่ออาหาร สีผิวหนังดำคล้ำ และตายในที่สุด หลังจาก 4 สัปดาห์พบว่ามีความแตกต่างของระดับทรานสคีโตเลสในเลือดอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชุดควบคุมกับชุดที่ขาดไทอะมีน แต่ไม่พบความแตกต่างในตับ

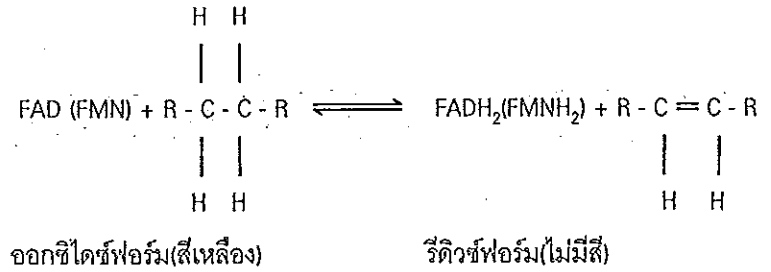
Boonyaratpalin and Wanakowat (1993) พบว่าปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)* ที่ขาดวิตามินไทอะมีนทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพของการใช้อาหาร และอัตราการรอดตายลดต่ำลง

Sato, *et al.* (1993) ศึกษาถึงเมแทโบลิซึมของวิตามินไทอะมีนในปลาไน โดยใช้ radioactive thiamine พบว่า ไทอะมีนในปลาไน มีการเก็บรักษาไว้ในรูปของไทอะมีนอิสระ หรือไทอะโซล (thiazole) โดยที่พบว่าส่วนของดวงตามีอยู่สูงมากกว่าส่วนอื่นในรูปของ ^{14}C - thiamine ซึ่งสูงกว่าในรูปของ ^{14}C-TDP (thiamine diphosphate) ^{14}C - thiazole พบได้ในเนื้อเยื่อทั่วไป และถูกขับถ่ายออกสู่ภายนอกในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลามากกว่าในเนื้อเยื่อของปลาไน ในส่วนของเซลล์ตับ (hepatocytes) สามารถพบ ^{14}C-thiamine, ^{14}C-TDP และ ^{14}C-thiazole ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้บอกได้ว่าตับสามารถสังเคราะห์ ไทอะมีนฟอสเฟต และไทอะโซลได้

1.2.4.2 วิตามินไรโบฟลาวิน

วิตามินชนิดนี้ เป็นส่วนประกอบของฟลาวินนิวคลีโอไทด์ 2 ชนิด คือ FMN และ FAD ทั้ง FMN และ FAD เป็นหมู่พรอสเธอติกของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน คือ พวกฟลาวินดีไฮโดรเจเนส (flavin dehydrogenase) หรือที่เรียกว่าฟลาโวเอนไซม์ (flavoenzyme) หรือ ฟลาโวโปรตีน(flavoprotein) ส่วนของโครงสร้างของ FAD และ FMN ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา คือ ไอโซอัลโลซาซีน (isoallosaxine) เมื่อถูกรีดิวซ์โดยได้รับ 2 อิเลคตรอนจากไฮโดรเจน 2 อะตอมโดยตรงจากสับสเตรท (substrate) ได้เป็น $FADH_2$ และ $FMNH_2$ (รูปที่ ก-1) การเกิดรีดักชันของฟลาโวโปรตีนเกิดขึ้น 2 ขั้นตอน โดยแต่ละขั้นตอนมีการเติมไฮโดรเจนอะตอม 1 อะตอม ในขั้นตอนแรกเมื่อเติม 1 ไฮโดรเจนอะตอมจะเกิดสารประกอบเซมีรีดิวซ์ (semireduced compound) ที่เรียกว่าเซมิควิโนน (semiquinone) ซึ่งมีอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ (unpaired electron) แล้วเซมิควิโนนจะรับไฮโดรเจนเข้ามาอีก 1 อะตอม เกิดเป็นรีดิวซ์ฟอร์มที่สมบูรณ์ของฟลาวินโคเอนไซม์ ($FADH_2$ หรือ $FMNH_2$) คุณสมบัติทาง

เคมีที่สำคัญของฟลาโวโปรตีนก็คือ เมื่อเกิดรีดักชัน สีเหลืองของรูปที่ออกซิไดส์จะหายไป เพราะว่าเกิดเป็นรูปที่รีดิวซ์ที่ไม่มีสี เมื่อถูกอากาศจะเกิดสีเหลืองของรูปที่ออกซิไดส์กลับคืนมา ฟลาโวโปรตีนนี้มี FMN และ FAD จับกับโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนท์



รูปที่ ก-1 แสดงปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของ FAD และFMN

ที่มา : ดัดแปลงจาก Garrett and Grisham (1995)

สรุปก็คือวิตามินไรโบฟลาวินมีหน้าที่สำคัญโดยเป็นโคเอนไซม์ออกซิเดสและรีดักเตส (oxidoreductase) ในการขนย้ายอิเลคตรอนในรูปของไฮโดรเจน ในเมแทโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และ โปรตีน เช่น เอนไซม์ออกซิเดส (xanthine oxidase, aldehyde oxidase, glucose oxidase, D - and L - amino acid oxidase), เอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase, fumarate dehydrogenase), และเอนไซม์โมโนออกซิเจนเนส (monooxygenase) และเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของไพริดอกซีน (pyridoxine), ทริปโตแฟน (tryptophan) และไนอะซิน (nicotinic acid) วิตามินไรโบฟลาวินมีความสำคัญต่อเนื้อเยื่อของกระจกตาและการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสีในเรตินาของตาขณะที่มีการรับแสงสว่าง การขาดวิตามินไรโบฟลาวินทำให้มีผลกระทบต่อการมองเห็นของปลาทดลอง ซึ่งส่งผลให้เกิดการหนีแสง (photophobia) (Halver, 1989)

เกี่ยวกับบทบาทของวิตามินไรโบฟลาวินต่อการเพาะเลี้ยงปลาได้มีการศึกษามาเป็นเวลานานแล้วเช่น McLaren, *et al.* (1947) รายงานว่าปลาเรนโบว์เทราท์วัยอ่อน (ขนาด 2 ถึง 12 กรัม) ต้องการไรโบฟลาวิน 5 ถึง 15 มก./กก. จากการศึกษาของ Hughes (1981) ทดลองกับปลาเรนโบว์เทราท์ โดยให้อาหารผสมไรโบฟลาวิน 9 ระดับ คือ 3, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 100 และ 600 มก./กก.ปรากฏว่าการเจริญเติบโต และอัตราการรอด-

ตายไม่แตกต่างกันในระยะแรก 16 สัปดาห์ การที่เป็นเช่นนี้ อาจเป็นผลจากความต้องการวิตามินของปลาแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน จากผลการทดลองให้ไรโบฟลาวิน ที่ระดับ 0, 5, 10, 20 มก./กก. ในปลาดุกอุยของประเสริฐ สีตะสิทธิ์ และคณะ (2527) พบว่าในปลาดุกอุย การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน สำหรับ Buthep, *et al.* (1985) ได้ทดลองโดยใช้อาหารบริสุทธิ์ (purified diet) ทดสอบผลการขาดไรโบฟลาวินในปลาดุก ปรากฏว่าในสัปดาห์ที่ 6 เริ่มมีลักษณะภายนอกผิดปกติ ได้แก่ ครีบฉีกขาด ลำตัวสีจางกว่าปกติ มีพฤติกรรมเซื่องซึม และเบื่ออาหาร ในสัปดาห์ที่ 18 พบปลาบางตัวมีการตกเลือดที่ขอบลูกตา และนัยน์ตาขาวขุ่น ท้องบวมน้ำ แต่ไม่รุนแรง ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าระดับของไรโบฟลาวิน เพียง 3 มก./กก. ก็เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาดุก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Murai and Andrews (1978) การทดลองศึกษาระดับของไรโบฟลาวิน ของ Woodward (1982) โดยให้ ไรโบฟลาวิน 6 ระดับ คือ 0, 4, 10, 25, 50 และ 100 มก./กก. ในอาหารเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่าที่ระดับ 4 มก./กก.จะให้การเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วน Aoe, *et al.*(1969) ได้ทดลองให้ไรโบฟลาวินที่ระดับ 1, 2, 4, 8 และ 20 มก./กก. ในปลาไน พบว่าระดับไรโบฟลาวิน ที่ 4 มก./กก. จะให้การเจริญเติบโตดีที่สุด Ogino (1967) พบว่าปลาไน มีความต้องการไรโบฟลาวินที่ระดับ 7-10 มก./กก. หรือมากกว่านี้เล็กน้อย สอดคล้องกับการทดลองของ Takeuchi, *et al.* (1980) ซึ่งพบว่าปลาไนต้องการไรโบฟลาวินที่ระดับ 7 มก./กก. และผลการทดลองความต้องการไรโบฟลาวินของปลาเรนโบว์เทราท์ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับปลาไน (3-6 มก./กก.)

ลักษณะอาการของปลาเทราท์และแซลมอนที่ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน จะกินอาหารลดลง การเจริญเติบโตช้า ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่ดี ตัวมีสีดำคล้ำ มีความผิดปกติของตา (เลนส์ตาขุ่นมัว ตาบอด) (Hughes, *et al.*, 1981) ส่วนปลากดอเมริกัน จะกินอาหารลดลง เจริญเติบโตช้า ลำตัวสั้นป้อม (Murai and Andrews, 1978) และเลนส์ตาขุ่นมัว (Dupree, 1966) ปลาไนจะกินอาหารลดลงทำให้ซูบผอม อัตราการตายสูง ตกเลือดที่กล้ามเนื้อหัวใจ ไตผิดปกติ ในปลาไหลญี่ปุ่นแสดงการขาดโดยผิวหนังถลอก ตกเลือดที่ครีบและท้อง (Arai, *et al.*, 1972)

Amezaga and Knox (1990) ศึกษาความต้องการวิตามินไรโบฟลาวินต่อการเจริญเติบโตของปลาเรนโบว์เทราท์ โดยใช้ปลาที่มีขนาดน้ำหนัก 60 กรัม เป็นเวลา 18

สัปดาห์ ที่ระดับความเข้มข้นของไรโบฟลาวิน 0.6, 1.6, 2.7, 5.6 และ 12.9 มก./กก. พบว่าที่ปริมาณ 2.7 มก./กก. เป็นระดับที่ปลาเรนโบว์เทราท์ต้องการเพื่อที่จะป้องกันอาการขาดวิตามินไรโบฟลาวินได้ และเป็นปริมาณที่ทำให้ระดับของไรโบฟลาวินในตับ และ ในหัวใจสะสมไว้ได้สูงสุด

Soliman and Wilson (1992) ศึกษาถึงความต้องการวิตามินละลายน้ำไรโบฟลาวิน ของปลานิล *(Oreochromis aureus)* โดยใช้ปลาขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 0.71 กรัม ให้อาหารที่เสริมไรโบฟลาวิน 6 ระดับความเข้มข้นคือ 0, 3, 6, 12, 24 และ 48 มก./กก. เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ในระบบน้ำไหลอุณหภูมิ 27.0 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ปลาที่ขาดไรโบฟลาวินมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ และแสดงอาการขาดวิตามินดังนี้ คือ มีพฤติกรรมเฉื่อยชา (lethargy) ครีบกร่อน เบื่ออาหาร สีลำตัวผิดปกติ ลำตัวสั้น และเป็นโรคตา และปลาที่ขาดวิตามิน ตรวจพบว่ามีเลือดจางด้วย ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินไรโบฟลาวิน ไม่พบอาการขาดวิตามิน และไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจากการทดลอง Soliman and Wilson (1992) ได้แนะนำให้ใช้วิตามินไรโบฟลาวินเสริมในอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลที่ปริมาณ 6 มก./กก.

Lim, *et al.* (1993) ศึกษาความต้องการวิตามินไรโบฟลาวิน ในปลานิลลูกผสมขนาดปลานิ้ว (fingerling) ที่ระดับความเข้นข้น 0, 2.5, 5, 10, 20 และ 40 มก./กก. โดยแยกทดลองเป็นระยะเวลา 8 และ 12 สัปดาห์ ตามลำดับ พบว่าความเข้มข้นที่สามารถป้องกันอาการขาดวิตามินและช่วยให้การเจริญเติบโตเป็นไปตามปกติได้คือ ที่ระดับ 5 มก./กก. ปลาที่รับอาหารที่ไม่มีวิตามินไรโบฟลาวินจะมีอาการเบื่ออาหาร การเจริญเติบโตต่ำและมีอาการทางประสาทหลังจากสัปดาห์ที่ 4-6 และปลาเริ่มตายหลังจาก 6 สัปดาห์ ในการทดลองทั้งสองชุดปรากฏลักษณะลำตัวสั้น (short body dwarfism) ระหว่างสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง ปลาที่ขาดวิตามินไรโบฟลาวินเริ่มมีอาการเป็นต้อกระจก (lens cataract) แต่ไม่ปรากฏอาการในปลาจากชุดทดลองที่ 2 การศึกษาผลทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่า ตับ ไต ม้าม กล้ามเนื้อข้างลำตัว เหงือก และลำไส้ไม่พบลักษณะทางพยาธิวิทยา

Phromkunthong, *et al.* (1993b) พบว่า ผลของวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือ ไทอะมีน, ไพริดอกซีน, แพนโตเทนิก และไรโบฟลาวิน ในปลากะพงขาวโดยให้เนื้อปลาสดบดเป็นอาหารทดสอบวิตามิน นั้นจะให้การเจริญเติบโตไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหาร

ผสมวิตามินครบถ้วน แต่จะต่างกับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้รับการผสมวิตามินเลย แสดงให้เห็นว่าในเนื้อปลาสด อาจมีวิตามินชนิดนั้นอยู่ และปลาสามารถดึงมาใช้ได้ หรืออาจใช้วิตามินตัวอื่นทดแทนได้ ในระยะเวลาสั้น ๆ แต่ถ้าขาดเป็นเวลานาน อาจจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาได้

Serrini, *et al.* (1996) ศึกษาความต้องการวิตามินไรโบฟลาวินในปลากดอเมริกันขนาดปลานิ้ว (fingerling) ที่เลี้ยงด้วยอาหารบริสุทธิ์ผสมวิตามินไรโบฟลาวิน 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในระบบน้ำไหลผ่านที่อุณหภูมิ 29 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ปลาซึ่งขาดวิตามินไรโบฟลาวินแสดงลักษณะและอาการที่ผิดปกติออกมาดังนี้คือ ลำตัวสั้น การเจริญเติบโตลดลง เบื่ออาหาร และระดับของ D-amino acid oxidase activity (D-AAO) ในตับลดลง และพบว่าที่ระดับ 4 มก./กก. สามารถป้องกันไม่ให้เกิดอาการขาดวิตามินได้ แต่ที่ระดับสูงกว่านี้ช่วยให้การเจริญเติบโตและ D-AAO activity สูงสุด ปริมาณที่แนะนำในการผสมอาหารเพื่อเลี้ยงปลากดอเมริกันขนาดปลานิ้วคือ 6 มก./กก.

1.2.4.3 วิตามินแพนโตเทนิก

แพนโตเทนิกมีรูปที่แอกทีฟคือฟอสโฟแพนเททีน (4′-phosphopantetheine) เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของโคเอนไซม์เอ (coenzyme A; CoA) ซึ่งได้แก่ อะซีติลโคเอ (acetyl CoA) และ เอซิลโคเอ (acyl CoA) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์และสลายกรดไขมันเพื่อให้ได้พลังงาน ซึ่งCoA-SH มีหมู่ -SH (thiol group) ทำหน้าที่เป็นพาหะของหมู่อะซีติลหรือเอซิล ในปฏิกิริยาอะซีติเลชัน และออกซิเดทีฟดีคาร์บอกซิเลชัน ที่มีไทอะมีนไพโรฟอสเฟตเข้าไปเกี่ยวข้อง หมู่เหล่านี้จะรวมกับCoA-SH ที่ตำแหน่งหมู่-SH ด้วยพันธะไธโอเอสเทอร์ (thioester) เกิดเป็นสารประกอบแอกตีฟ ที่เรียกว่าเอซิลโคเอ ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์อะซิเตท (acetate) กรดไขมัน (fatty acid) และซิเตรท (citrate) วิตามินแพนโตเทนิกยังเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันของไพรูเวท (pyruvate) และอะซิทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) นอกจากนี้ยังมีหน้าที่สำคัญในการพัฒนาของระบบประสาท (nervous system) เนื่องจากโคเอนไซม์เอ มีความเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาที่สำคัญ ๆ ในกระบวนการเมแทโบลิซึมต่าง ๆ ของไขมัน คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ดังนั้นถือได้ว่า วิตามินแพนโตเทนิกมีหน้าที่และความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและการเจริญเติบโตของปลาเช่นเดียวกัน

ในการเพาะเลี้ยงปลา วิตามินแพนโตเทนิกมีบทบาทสำคัญมากเช่น ปลาที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก ทำให้การกินอาหารลดลง (anorexia) ส่งผลให้การเจริญเติบโตของปลาลดลงด้วย (เริ่มแสดงจากสัปดาห์ที่ 3 หลังขาดวิตามิน) (Halver, 1989) เหงือกปลาจะมีลักษณะผิดปกติคือมีลักษณะคล้ายกระบอง (clubbed shape) มีการขับสารที่เกิดจากการอักเสบออกมามากมาย ซี่เหงือก (gill lamellae) เชื่อมรวมกัน และเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นผิดปกติ (hyperplasia) กระดูกปิดเหงือกบวม แสดงอาการว่ายน้ำผิดปกติ โดยพยายามโผล่หัวมาฮุบอากาศ เนื่องจากระบบหายใจขัดข้อง อัตราการตายสูง จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาแสดงให้เห็นถึงการฉีกขาด (lesions) ของไตและตับอ่อน เนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อลีบฝ่อและตาย (Halver, 1989) Kitamura, *et al.* (1967a) รายงานถึงอาการที่พบคล้ายๆ กันนี้ในปลาเทราท์ และพบว่ามีความผิดปกติทางผิวหนังด้วยในปลาชนิดนี้ สำหรับในปลากดอเมริกันขนาดปลานิ้ว เมื่อขาดวิตามินแพนโตเทนิก ทำให้การกินอาหารลดลง เซลล์บริเวณปลายซี่เหงือกขยายออก เลือดจาง น้ำหนักลด อัตราการตายสูง ผิวหนังกร่อนและลอก และหากเป็นปลาไหลญี่ปุ่น จะแสดงความผิดปกติที่ผิวหนัง (dermatitis) ตกเลือดและว่ายน้ำผิดปกติ (McLaren, *et al.*, 1947; Coates and Halver, 1985; Ogino, 1967; Murai and Andrews, 1979) ในปลาไนพบว่าความรุนแรงในการขาดน้อยกว่า คือเจริญเติบโตช้า ไม่อยากกินอาหาร เฉื่อยชาและเลือดจาง (Ogino, 1967) และ Wilson, *et al.*(1983) รายงานว่าในปลากดอเมริกันที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก จะมีความไวต่อการรับเชื้อ (susceptibility) มากขึ้น

จากการทดลองของRoem, *et al.* (1991) ศึกษาถึงความต้องการวิตามินแพนโตเทนิกในปลานิล โดยทำการทดลอง แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลองโดยใช้อาหารกึ่งบริสุทธิ์ (semi - purified diet) ซึ่งใช้แคลเซียมแพนโตเทเนต (calcium pantothenate) 0, 5, 10, 20 และ 40 มก./กก. ผลการทดลองพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก มีน้ำหนักลดลง อัตราการแลกเนื้อสูงและอัตราการรอดตายต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินชนิดนี้ นอกจากนี้ยังตรวจพบลักษณะที่ผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามินแพนโตเทนิก กล่าวคือ มีการรวมกันของซี่เหงือก และครีบกร่อน ลักษณะดังกล่าวจะดีขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก 40 มก./กก. และระดับที่เหมาะสมต่ออัตราการรอดคือที่ 10 มก./กก.

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

Soliman and Wilson (1992) ทดสอบหาปริมาณที่เหมาะสมของวิตามินแพนโตเทนิกต่อการเจริญเติบโตของปลานิล ปรากฏว่าที่ระดับ 5 มก./กก.ทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตได้ แต่น้อยกว่าที่ระดับ 10, 20, และ 40 มก./กก. ดังนั้นเขาจึงแนะนำว่าให้ใช้วิตามินแพนโตเทนิกเสริมในอาหารปลานิลที่ระดับ 10 มก./กก. ซึ่งเป็นปริมาณเดียวกับที่ Roem, *et al.* (1991) แนะนำให้ใช้

Masumoto, *et al.* (1993) ศึกษาเมแทโบลิซึมของไขมันในเหงือกปลาเรนโบว์เทราท์โดยใช้ปลาขนาดเลยวัยรุ่น (post juvenile) ทดลองให้อาหารที่ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิกเป็นเวลา 28 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลาลดลง ปลาเบื่ออาหาร และพบว่าเซลล์ซี่เหงือกมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติ แต่พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันในเหงือก ระดับฮีมาโตคริต และระดับพลาสมาโซเดียมในเลือดของปลา ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ซึ่งรับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกครบถ้วน

Boonyaratpalin, *et al.* (1993) พบว่าในปลากะพงขาววัยรุ่น ซึ่งรับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก มีลักษณะอาการที่ผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามินอย่างชัดเจน โดยลำตัวมีสีดำคล้ำ เบื่ออาหาร (anorexia) มีอาการตกเลือดที่บริเวณโคนครีบก้น ครีบขาดและกร่อน เหงือกเชื่อมกันเป็นรูปกระบอง หนีแสง และปลาช็อคได้ง่าย ผลการทดลองยืนยันได้ว่า วิตามินแพนโตเทนิกมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต ของลูกปลากะพงขาววัยรุ่น

Singh (1994) พบว่าปลาดุกด้าน มีความต้องการวิตามินแพนโตเทนิกเสริมในอาหาร เพื่อให้การเจริญเติบโตเป็นไปตามปกติเช่นเดียวกับรายงานของ Roem, *et al.* (1990) ซึ่งยืนยันว่าปลานิล (*T. aurea*) มีความต้องการวิตามินชนิดนี้ในการเจริญเติบโต

1.2.4.4 วิตามินซี

การขาดวิตามินชนิดนี้ในคนทำให้เกิดโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยคอลลาเจน (collagen fibril) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) สำหรับในปลาพบว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เหงือกและอวัยวะอื่นๆ (Halver, 1989) ในการสร้างคอลลาเจนต้องการวิตามินซี ซึ่งจะเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกรดอะมิโนโปรลีน (proline) ไปเป็นไฮดรอกซีโปรลีน (hydroxyproline) ซึ่งเป็นกรดอะมิโน ที่พบมากในคอลลาเจน ปฏิกิริยานี้มีเอนไซม์โปรลีนไฮดรอกซีเลส (proline hydoxylase) เป็นตัวเร่ง วิตามินซีทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ ซึ่งจะรักษาเหล็กให้อยู่ในสถานะ Fe^{2+}

ทำให้เอนไซม์อยู่ในรูปที่แอกตีฟ (Halver, 1989) เมื่อขาดวิตามินซีคอลลาเจนที่ถูกสร้างขึ้นจะมีอุณหภูมิหลอมตัว (melting temperature) ประมาณ 24 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิปกติที่ 36 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังเข้าไปเกี่ยวข้องในปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชันของสารอื่น เช่นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic) และกรดไขมัน รวมทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันที่เกี่ยวข้องกับกลูตาไธโอน (glutathione) ไซโตโครมซี (cytochrome-c) ไพริดีนนิวคลีโอไทด์ (pyridine nucleotide) และฟลาวินนิวคลีโอไทด์ (flavin nucleotide) (Garrett and Grisham, 1995)

จากการศึกษาพบว่าปลาที่ขาดวิตามินซีจะแสดงลักษณะอาการผิดปกติออกมาให้เห็นเช่น ปลาเทราท์จะมีลักษณะกระดูกผิดปกติ (skeletal deformation) กระดูกคดงอ (lordosis และ scoliosis) กระดูกอ่อนรอบตา ที่ยึดเหงือก และกระดูกปิดเหงือกผิดปกติ มีการตกเลือดที่ครีบและอวัยวะภายใน มีการสะสมของเหลวในช่องท้องมากผิดปกติ (ascites) และตกเลือดที่ตา (Poston, 1967) Arai, *et al.* (1972) รายงานว่าปลาที่ขาดวิตามินซีเจริญเติบโตช้า ตกเลือดที่บริเวณหัว ผิวหนังและครีบ ปลาที่ขาดวิตามินซีจะแสดงอาการต่าง ๆ กันได้แก่อาการเซื่องซึม เฉื่อยชา (lethargy) และเจริญเติบโตช้า ได้แก่ที่พบในปลาแซลมอน (Hilton, *et al.*, 1977) ก่อนจะแสดงอาการดังกล่าวปลาที่ขาดวิตามินซีโดยทั่วไปจะแสดงอาการคล้ายกันคือกินอาหารลดลง เฉื่อยชา (Hilton, *et al.*,1977) ปลากดอเมริกันที่เลี้ยงในตู้เลี้ยง หรือบ่อที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูงมีอาหารธรรมชาติจำกัด จะแสดงอาการขาดคล้ายกับปลาในกลุ่มแซลมอน (Lovell, 1973; Wilson and Poe, 1973; Andrews and Murai, 1975; Lovell and Lim, 1978) ปลาช่อน (*Channa punctatus)* ที่ขาดวิตามินซีเป็นเวลานานจะทำให้มีการสะสมของโคเลสเตอรอล (cholesterol) ในตับสูง (Mahajan and Agrawal, 1979) ปลากะพงขาว (มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ 2531) ปลากะรัง *(Epinephelus malabaricus)* (มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ 2536) และปลาหมอเทศ (Chavez De Martinez, 1990) ทำให้กระพุ้งแก้มกร่อนและสั้น เกล็ดหลุด ตาโปน ท้องบวม และลักษณะของกระโหลกผิดปกติ มีรายงานว่าสังเกตพบกระดูกสันหลังคดงอในปลาแซลมอน (Lall, *et al.*, 1989) และปลาเรนโบว์เทราท์ (Cho and Cowey, 1993)

สำหรับปริมาณความต้องการวิตามินซีของปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป โดยขึ้นกับขนาดของปลา อัตราการเจริญเติบโต องค์ประกอบของอาหาร ความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่จำกัด หรือในน้ำที่มีสารพิษได้แก่ ท็อกซาฟีน (toxaphene)

และอัลดริน (aldrin) ทำให้ปลาต้องการวิตามินซีเพิ่มขึ้น (Mayer, *et al.*,1978) หากวิตามินซีในอาหารถูกทำลายไปโดยกระบวนการผลิตหรือเก็บรักษา จะทำให้ต้องเติมวิตามินซีเพิ่มลงในอาหารด้วย (Hilton, *et al.*,1977) และถ้าเสริมวิตามินซีในระดับ 2,000 มก./กก. ขึ้นไปจะทำให้ปลาเรนโบว์เทราท์เพิ่มความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio anguillarum* ได้ดียิ่งขึ้น (Navarre and Halver, 1989)

มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ (2533) ทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวโดยเสริมวิตามินซีลงในอาหารที่ระดับต่างๆ คือ 500, 1,000, 1,500, 2,000 และ 2,500 มก./กก. เปรียบเทียบกับปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมวิตามินซี ผลปรากฏว่าปลาในชุดการทดลองที่ไม่ได้เสริมวิตามินซีหยุดการเจริญเติบโตหลังจาก 4 สัปดาห์ และหลังจาก 6 สัปดาห์สังเกตเห็นความผิดปกติได้แก่ ลำตัวมีสีคล้ำ สูญเสียการทรงตัว รูปที่ร่างผิดปกติและมีอัตราการตายสูง

มะลิ บุณยรัตผลิน และคณะ (2536) พบว่าปลากะรัง ที่ขาดวิตามินซีจะหลบหนีแสงอยู่ที่ก้นภาชนะที่เลี้ยง การว่ายน้ำผิดปกติและตายในที่สุด จากการทดลองพบว่าวิตามินซีในรูปแบบเกลือแมกนีเซียม (L-ascorbyl-2-monophosphate Mg) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของวิตามินซี สามารถใช้แทน แอล-แอสคอร์บิก ได้เป็นอย่างดี และปริมาณเพียง 30 มก./กก. เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของปลากะรังวัยรุ่น

Andrews and Murai (1975) ศึกษาความต้องการปริมาณวิตามินซีในปลากดอเมริกันที่มีน้ำหนัก 2 และ 15 กรัม พบว่าปลาชนิดนี้ต้องการวิตามินซี 50 และ 25 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lovell and Lim (1978) ซึ่งพบว่าปลากดอเมริกันที่เลี้ยงในบ่อดินจากขนาด 3 นิ้วถึงขนาดตลาด ต้องการวิตามินซี 60 มก./กก.

การศึกษาระดับความต้องการวิตามินซีในปลานิล *(O. niloticus)* โดย Soliman, *et al.* (1986a) โดยทดลองเลี้ยงปลาในระบบน้ำอุ่น พบว่าวิตามินซีที่เหมาะสมต่อปลานิลขนาด 1.16 - 1.19 กรัม คือ 1,250 มก./กก. ขณะที่การทดลองของ Al-Amoudi, *et al.* (1992) พบว่าวิตามินซีที่เหมาะสมต่อปลานิล *(O. spilurus)* ขนาดเดียวกัน อยู่ระหว่าง 100 - 200 มก./กก. และอาการที่บ่งว่าปลาขาดวิตามินซีจะเกิดเมื่ออาหารทดสอบมีวิตามินซีต่ำกว่า 75 มก./กก. การศึกษาระดับวิตามินซีที่เหมาะสมในปลาชนิดอื่น ๆ เช่น Chavez De Martinez (1990) ทำการศึกษาในปลาแมกซิกันซิคไลด์ (maxican cichlide ; *Cichlasoma urophthalmus*)

พบว่าปลาชนิดนี้ต้องการวิตามินสำหรับการเจริญเติบโตปกติคือ 40 มก./กก. และระดับวิตามินที่เหมาะสมในปลาลิ้นหมา (plaice) *(Pleuroncetes platessa* L.*)* วัยอ่อน ขนาด 2.9 กรัม คือ 200 มก./กก. (Rosenlund, *et al.*, 1990) Dabrowski, *et al.* (1990) พบว่า ระดับต่ำสุดของวิตามินซีที่ปลาเรนโบว์เทราท์ต้องการคือ 20.4 มก./กก.

การศึกษาในระดับเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินซี มีปริมาณไกลโคเจนในตับลดลง ลักษณะโครงสร้างของตับผิดปกติ แกนเหงือกบิดเบี้ยว เสียรูป (Phromkunthong, *et al.*, 1987)

Eskelinen (1989) พบว่าแม่พันธุ์ปลาแอตแลนติกแซลมอน ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินซีแตกต่างกันหลายระดับนั้น พบว่าวิตามินซีที่ระดับสูงๆ มีผลให้อัตราการฟักเป็นตัวของไข่และอัตราการรอดตายของลูกปลาแอตแลนติกแซลมอน ดีขึ้นอย่างชัดเจน Waagboe, *et al.* (1989) ศึกษาถึงบทบาทของวิตามินซี ที่มีต่อระบบและอวัยวะสืบพันธุ์ของปลาเรนโบว์เทราท์ในวัยเจริญพันธุ์ พบว่าปลาที่ขาดวิตามินซีส่งผลให้ปริมาณไขมันในตับเพิ่มขึ้น แต่ในรังไข่กลับลดลง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 21 สัปดาห์ ปรากฏว่าปลาเริ่มแสดงอาการของโรคเลือดจาง โดยที่ปริมาณฮีโมโกลบินและเปอร์เซนต์ของค่าฮีมาโตคริตลดต่ำลง

Navarre and Halver (1989) ได้ทำการทดลองความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียและการสร้างภูมิต้านทาน ในปลาเรนโบว์เทราท์ที่รับอาหารเสริมวิตามินซี พบว่าหลังจากที่ปลารับวิตามินซีแล้วจะส่งผลให้ปลาสามารถต่อต้านการติดเชื้อแบคทีเรียและมีผลต่อการสร้างแอนติบอดีในตัวปลาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับปลาที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินซีในอาหาร

Vel, *et al.* (1990) ศึกษาพบว่า ปลาไน มีความต้องการวิตามินซีสำหรับการเจริญเติบโตที่ระดับ 500 มก./กก. และปลาไนที่ขาดวิตามินซีจะสามารถฟื้นตัวได้หลังจากที่ให้อาหารเสริมวิตามินซี โดยใช้เวลาประมาณ 30 วัน อาการขาดวิตามินซีจะค่อยๆ หายกลับเป็นปกติ

Erdal, *et al.* (1991) พบว่า วิตามินซีที่ความเข้มข้นสูงสามารถช่วยให้ปลาแอตแลนติกแซลมอน มีภูมิต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio salmonicida* ดีขึ้น Masumoto, *et al.* (1991) พบว่าวิตามินซีมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต ลดอาการเครียด และเพิ่มความต้านทานโรคให้สูงขึ้นด้วย โดยอยู่ในช่วง 50-100 มก./กก. Hardie, *et al.*(1991) ได้ทำการศึกษาถึง

ผลของการใช้วิตามินซีเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคในปลาแอตแลนติกแซลมอน พบว่าที่ระดับของวิตามินซีสูงๆ มีผลในการเพิ่มความสามารถในการป้องกันเชื้อ *Aeromonas salmonicida* ได้ในขณะที่ปลาซึ่งไม่ได้รับวิตามินซีเสริมในอาหารมีอัตราการตายสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Bai and Gatlin (1992) ศึกษาพบว่าหลังจากที่ปลากดอเมริกัน ได้รับอาหารที่ปราศจากวิตามินซีผสมเป็นเวลา 10-12 สัปดาห์ติดต่อกัน ส่งผลให้ปลาแสดงความผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามินซีอย่างชัดเจนด้วยการพบว่ากระดูกลำตัวคดงอ ตกเลือดบริเวณผิวหนัง และครีบกร่อน การเจริญเติบโตลดลง ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง ค่าฮีมาโตคริต และน้ำหนักของตับลดลงตามปริมาณความเข้มข้นของวิตามินซีที่ผสมในอาหารปลา

Sandnes, *et al.* (1992) ศึกษาปริมาณความต้องการวิตามินซีในรูปแบบของเกลือแคลเซียม (Ca ascorbate-2-momophosphate) ในลูกปลาแอตแลนติกแซลมอนวัยอ่อน ติดต่อกันเป็นเวลา 23 สัปดาห์ ด้วยอาหารเลี้ยง (practical diet) ซึ่งมีส่วนผสมของวิตามินซีที่ระดับ 0, 10, 20, 40, 80 และ 160 มก./กก. แล้วเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตราการตาย ปริมาณการสะสมของไฮดรอกซีโปรลีนในผิวหนัง กระดูกและตับ ผลการทดลองปรากฏว่า ปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการที่ปกติของลูกปลาแอตแลนติกแซลมอน คือ 10-20 มก./กก.

Shiau and Jan (1992) ศึกษาปริมาณความต้องการวิตามินซี (L-ascorbic acid) ของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) ขนาด 1.12 กรัม ด้วยอาหารบริสุทธิ์ที่ผสมวิตามินซี 0, 40, 60, 80, 100, 125, 150 และ 200 มก./กก. ผลการทดลองปรากฏว่าที่ระดับของวิตามินซีต่ำ (40 มก./กก.) อัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนไม่ดี การสะสมวิตามินซีในตับ และในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายต่ำ สำหรับปลาซึ่งขาดวิตามินซี (0 มก./กก.) มีผลอัตราการตายสูงถึง 37.7 เปอร์เซนต์ และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ทำให้ทราบว่าปริมาณวิตามินซีที่มีผลทำให้การเจริญเติบโตสูงสุดคือ 79 มก./กก.

Mustin and Lovell (1992) ได้ทดลองเลี้ยงปลากดอเมริกัน ขนาดปลานิ้ว (1.5 กรัม) ด้วยอาหารที่มีวิตามินซีสองรูปแบบ คือ วิตามินซีในรูปแบบของเกลือโซเดียม (Na-L-ascorbyl-2-monophosphate) และวิตามินซีในรูปแบบของเกลือแมกนีเซียม (Mg-L-

ascorbyl-2-monophosphate) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 60, 120 มก./กก. หลังจากเลี้ยงไป 12 สัปดาห์ พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินซีทั้งสองรูปแบบไม่มีความแตกต่างด้านการเจริญเติบโต แต่ในขณะเดียวกันปลาที่ขาดวิตามินซีแสดงลักษณะผิดปกติที่กระดูกสันหลังซึ่งพบประมาณ 26 เปอร์เซนต์ของปลาที่ขาดวิตามิน และพบว่าการฟื้นตัวของปลาที่ขาดวิตามินซีหลังจากที่ได้ให้วิตามินซีทั้ง 2 แบบ เป็น 99 และ 98 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

Collins, *et al.* (1993) ศึกษาผลของวิตามินซีต่อดวงตาของปลาเรดดรัม (red drum) *(Sciaenops ocellatus)* ขนาดวัยรุ่น พบว่าปลาเรดดรัมที่ขาดวิตามินซีมีลักษณะผิดปกติของดวงตากล่าวคือ ขนาดตาเล็กลง มีเลือดคั่ง และตกเลือดบริเวณตา มีความผิดปกติบริเวณคอร์เท็ก(cortex) และส่วนหลังของผิวด้านนอกของเลนส์ตา และส่วนของเรตินา (retina) ผิดปกติ

Li, *et al.* (1993) ทำการศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของวิตามินซีในอาหารเลี้ยง สำหรับเลี้ยงปลากดอเมริกัน โดยการทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ใช้ความเข้มข้นของวิตามินซี 82 - 2,071 มก./กก. การทดลองที่ 2 ใช้ความเข้มข้นของวิตามินซี 0 - 2,056 มก./กก. ระยะเวลาทดลอง 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ 1 ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหารในแต่ละระดับของความเข้มข้น สำหรับการทดลองที่ 2 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินซี มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารแตกต่างจากชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหลังจากฉีดเชื้อ *Edwardsiella ictaluri* ให้กับปลาในชุดที่ขาดวิตามินซีปรากฏว่าอัตราการตายสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ แต่อาหารที่ผสมวิตามินซีแต่ละระดับนั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจน ทำให้สรุปได้ว่า การเพิ่มความเข้มข้นของวิตามินซีให้สูงมาก ๆ ไม่มีผลต่อการเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อ *E. ictaluri* ในปลากดอเมริกันแต่อย่างใด

Phromkunthong, *et al.* (1993a) ศึกษาพบว่าปลากะรัง ซึ่งขาดวิตามินซีติดต่อกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงลักษณะผิดปกติภายนอกให้เห็นอย่างชัดเจน คือ ตกเลือดบริเวณครีบ ฝาปิดเหงือกผิดรูป ครีบหางกร่อน จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าปลากะรังที่ขาดวิตามินซีจะมีความผิดปกติที่เหงือกบริเวณ primary และ secondary lamellae โดยที่เซลล์บุผิวเหงือก (epithelial cells) เกิดการขยายตัวผิดปกติ ทำให้ซี่เหงือกในส่วนของ

secondary lamellae เชื่อมติดกัน และส่วนของกระดูกเหงือก (gill cartilage) มีลักษณะผิดรูป ซี่เหงือกบิดงอ และมีการแยกตัวของเซลล์บุผิวเหงือก

Thompson, *et al.* (1993) ศึกษาผลของความเครียดต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในปลาแอตแลนติกแซลมอน ที่ได้รับวิตามินซีแต่ละระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.082, 0.44 และ 3.17 ก./กก. เป็นเวลา 23 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำปลาทุกชุดการทดลองมาทำให้เกิดความเครียดก่อนการเก็บตัวอย่าง พลาสมา (plasma) และ เม็ดเลือดขาว (leucocytes) ด้วยการกักขังเป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าเม็ดเลือดขาวที่ทำลายแบคทีเรียชนิด *A. salmonicida* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในปลาที่มีวิตามินซีต่ำสุดเมื่อเทียบกับระดับของวิตามินซีที่สูงกว่า ซึ่งสรุปว่า ความเครียดทำให้ภูมิคุ้มกันลดลง และวิตามินซีสามารถช่วยลดความเครียดได้

Waagboe, *et al.* (1993) ศึกษาถึงวิตามินซีที่มีผลต่อภูมิคุ้มกันและความสามารถในการต้านทานโรค ในปลาแอตแลนติกแซลมอน โดยใช้วิตามินซีที่ระดับ 40, 400, 2,000 และ 4,000 มก./กก. เป็นเวลา 6 เดือน ปรากฏว่าปลาที่รับอาหารที่มีวิตามินซีที่ระดับสูงสุดมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระดับความเข้มข้น การศึกษาการสร้างแอนติบอดีพบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (4,000 มก./กก.) มีผลให้การสร้างแอนติบอดีของปลาในชุดการทดลองนี้มีระดับสูงกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญซึ่งยืนยันด้วยการฉีดเชื้อ *A. salmonicida*

MacConnell and Barrows (1993) ศึกษาผลของวิตามินซีในปลาวอลอาย (wall eyes; *Stizostedion vitreum)* ที่ระดับความเข้มข้น 0, 90 และ 96 มก./กก. เป็นเวลา 20 สัปดาห์ ปรากฏว่า ปลาที่ขาดวิตามินซีมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ อัตราการตายสูง นอกจากนี้ ยังพบการคดงอที่กระดูกสันหลังและกระดูกสันหลังเคลื่อนจากที่เดิม พร้อมกับมีการตกเลือดที่บริเวณกระดูกสันหลัง ส่วนของไขสันหลังบิดเบี้ยว การวางตำแหน่งไตผิดตำแหน่ง เกิดการแตกหักของกระดูกบริเวณใต้คาง (isthmus) และมีอัตราการตายสูงถึง 27 เปอร์เซนต์ของปลาที่ขาดวิตามินซี นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติที่มักปรากฏเป็นครั้งคราวในปลาที่ขาดวิตามินซี คือ ตกเลือดบริเวณครีบ ผิวหนัง และตา สำหรับปริมาณของวิตามินซีที่เพียงพอสำหรับปลาวอลอาย คือ 96 มก./กก. ของอาหาร

Duncan and Lovell (1994) พบว่าการใช้วิตามินซีร่วมกับวิตามินโฟลิกที่ระดับของวิตามินซี 200 มก./กก. ร่วมกับวิตามินโฟลิก 0.4 มก./กก. ช่วยให้ปลากดอเมริกัน

มีการสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว สามารถลดอัตราการตายของปลาได้ ในขณะที่หากใช้วิตามินโฟลิกที่ระดับ 0.4 มก./กก. เพียงอย่างเดียวจะไม่มีผลต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นและปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลาแต่อย่างใด

Verlhac and Gabaudan (1994) ศึกษาถึงอิทธิพลของวิตามินซีต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาเรนโบว์เทราท์ และในปลาแอตแลนติกแซลมอน โดย 3 การทดลองแรกใช้ปลาเรนโบว์เทราท์ ขนาดตัวใหญ่ (300 กรัม) และขนาดเล็ก (9-10 กรัม) ให้อาหารที่มีวิตามินซีผสมอยู่ 1,000 มก./กก. ติดต่อกันเป็นเวลา 2-6 เดือน เปรียบเทียบกับอาหารผสมที่มีวิตามินซีอยู่ 60 มก./กก. และอีกการทดลองเป็นการทดลองโดยใช้ปลาแอตแลนติกแซล-มอนซึ่งได้รับอาหารที่มีวิตามินซีอยู่ 60 มก./กก. เป็นเวลา 6 เดือน และ 1,000 มก./กก. เป็นเวลา 2 เดือน ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าหากใช้วิตามินซีในปริมาณที่มากกว่าระดับต่ำสุดของความต้องการวิตามินแล้ว จะช่วยให้เพิ่มภูมิคุ้มกันโรคและป้องกันอาการขาดวิตามิน และยังช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้นอีกด้วย

Murata, *et al.* (1994) ได้ทำการศึกษาถึงความสามารถในการเป็นสารกันหืนของวิตามินอี และวิตามินซี โดยได้ศึกษาในปลาเยลโลเทล (yellow tail; *Seriola quinqueradiata Z.)* พบว่าการเสริมวิตามินอีและวิตามินซีลงในอาหาร สามารถช่วยป้องกันการเกิด lipid peroxidation และ ป้องกันการเกิดโรคดีซ่าน (jaundice)

Ciereszko and Dabrowski (1995) ได้ศึกษาคุณภาพของน้ำเชื้อ (sperm) และความเข้มข้นของวิตามินซีในน้ำเชื้อปลาเรนโบว์เทราท์เพศผู้ ในช่วงฤดูวางไข่ผสมพันธุ์ ปรากฏว่าปลาเรนโบว์เทราท์เพศผู้ที่ไม่ได้รับวิตามินซีผสมในอาหาร มีผลต่อความเข้มข้นของน้ำเชื้อ อัตราการตาย และ ความสามารถในการปฏิสนธิ เขาจึงสรุปว่าวิตามินซีมีความจำเป็นต่อระบบการสืบพันธุ์ของปลาเรนโบว์เทราท์เพศผู้

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาผลของวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือไทอะมีน ไรโบฟลาวิน แพนโตเทนิก และวิตามินซี ที่มีต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดของปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินละลายน้ำเฉพาะชนิดนั้น ๆ

2. เพื่อศึกษาระดับของวิตามินละลายน้ำชนิดแพนโตเทนิก ต่อปลากดเหลือง เพื่อหาระดับที่เหมาะสมสำหรับเสริมในอาหารเลี้ยงปลาชนิดนี้

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

ตัวอย่างปลาทดลอง

ใช้ลูกปลากดเหลืองขนาดความยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวประมาณ 1.0-1.5 กรัม จำนวน 540ตัว สำหรับการทดลองที่ 1 และจำนวน 540 ตัว สำหรับการทดลองที่ 2 พันธุ์ปลาทดลองได้มาจาก สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดสงขลา และฟาร์มเอกชน (ท่าชะมวงพันธุ์ปลา อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา)

สารเคมี

สารเคมีจำพวกวัสดุอาหาร ที่ใช้เตรียมอาหารทดสอบ ประกอบด้วยวัตถุดิบอาหารกึ่งบริสุทธิ์ ได้แก่ เคซีน (casein) (ใช้เป็นแหล่งของโปรตีน) เด็กตริน (dextrin) (ใช้เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต) น้ำมันพืชและน้ำมันปลา (ใช้เป็นแหล่งของไขมัน) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 วิตามินและแร่ธาตุ ดังแสดงในตารางที่ 2.2 และ 2.3 ตามลำดับ

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลากดเหลืองและวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดสอบ (ดังแสดงไว้ในภาคผนวก ข)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด (ดังแสดงไว้ในภาคผนวก ค)

สารเคมีที่ใช้ในการเก็บและเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาผลทางเนื้อเยื่อของปลากดเหลือง (ดังแสดงไว้ในภาคผนวก ง)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ(ดังแสดงไว้ในภาคผนวก จ)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการเลี้ยงปลาทดลอง

ใช้ตู้กระจก ขนาด 47 × 47 × 91 เซนติเมตร ความจุน้ำ 0.2 ลบ.ม. จำนวน 18 ตู้ พร้อมเครื่องพ่นอากาศ ท่อให้อากาศ หัวทราย สายยาง ดูดตะกอน เครื่องสูบน้ำแบบจุ่ม

บ่อพักน้ำ ถังไฟเบอร์ขนาด 1 ลบ.ม. และ สวิงตักปลา

อุปกรณ์ที่ใช้ในการชั่งน้ำหนักปลา

เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius รุ่น B 3100 S ถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร บีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร และ สวิงตักปลา

อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารทดสอบ

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius รุ่น R 200 D และเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Satorius รุ่น B 3100 S เครื่องผสมและอัดเม็ดอาหาร ยี่ห้อ KENWOOD รุ่น KM 201 โกร่งบดแร่ธาตุอาหาร ขนาดความจุ 80 มิลลิลิตร และตู้เย็นสำหรับเก็บอาหารปลา

อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างและตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อ

ประกอบด้วยชุดอุปกรณ์ผ่าตัดได้แก่ กรรไกร และมีดผ่าตัด ขวดเก็บตัวอย่าง ขนาดความจุ 15 มิลลิลิตร และหลอดฉีดยาขนาด 25 มิลลิลิตร เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ยี่ห้อ TECHNICON CORPORATION รุ่น MOD.2A AUTOTECHNICON MONO เครื่องตัดชิ้นเนื้อเยื่อ ยี่ห้อ JUNG AG HEIDELBERG ตู้อบ อ่างน้ำอุ่น (warm bath) เตาร้อน (hot plate) สไลด์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ชุดย้อมสีเนื้อเยื่อ กล้องถ่ายภาพยี่ห้อOLYMPUS รุ่น BX 50 และ กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อOLYMPUS รุ่น C - 35 AD

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

หลอดฉีดยา ขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 25 ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 5, 20, 50 และ 100 ไมโครลิตร หลอดแก้วสำหรับหาค่าฮีมาโตคริต (micro-haematocrit capillary tube) เครื่องปั่นหาค่าฮีมาโตคริตยี่ห้อ ALC (รุ่น haematocrit CENTRIFUGETTE 4203) RBC diluting pipette, Haemacytometer และอุปกรณ์อื่น ๆ สำหรับหาค่าซีรัมโปรตีนและฮีโมโกลบิน ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ได้แก่ชุดเก็บตัวอย่างน้ำ ซึ่งประกอบด้วยขวดเก็บตัวอย่างน้ำ และชุดอุปกรณ์สำหรับติเตรท อันประกอบด้วย ขวดรูปชมพู่ บิวเร็ต (buret) พร้อมขาตั้ง และ pH-meter แบบหัวจุ่ม (electrode) ยี่ห้อ METTLER DALTA รุ่น 340

วิธีการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 เป็นการทดลองผลของวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือ วิตามินไทอะมีน วิตามินไรโบฟลาวิน วิตามินแพนโตเทนิก และวิตามินซี เพื่อศึกษาถึงผลของวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิดในแง่การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือด และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลากดเหลือง สำหรับการทดลองที่ 2 เป็นการทดสอบความเข้มข้นของวิตามินแพนโตเทนิก ซึ่งเป็นวิตามินที่ให้ผลต่อปลากดเหลืองชัดเจนที่สุด เพื่อสนับสนุนผลจากการทดลองที่ 1 และเพื่อหาระดับตามความเข้มข้นของวิตามินชนิดนี้ที่มีผลทำให้การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตายของปลาดีที่สุด และมีผลทำให้เนื้อเยื่อปลาเป็นปกติ การทดลองทั้ง 2 การทดลองใช้วัสดุ และอุปกรณ์การทดลองเหมือนกัน จะต่างกันเฉพาะการวางแผนการทดลอง ดังมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 การทดลองที่ 1 : ผลของวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิดต่อปลากดเหลือง

2.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลากดเหลืองขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร จำนวนประมาณ 1,000 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลมขนาดความจุน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร โดยใส่น้ำให้ได้ระดับความสูง 30 เซนติเมตร ในขั้นเตรียมปลาสำหรับทดลองนี้ใช้ยาเหลือง (acriflavin) 3 ถึง 5 ส่วนต่อน้ำล้านส่วน แช่ปลาไว้ตลอดเวลา เพื่อป้องกันการติดเชื้อและรักษาอาการบอบช้ำจากการลำเลียงขนย้าย เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันแล้วใส่ยาใหม่และงดให้อาหาร เมื่อครบ 3 วัน จึงเปลี่ยนถ่ายน้ำ แล้วนำลูกปลามาตรวจโรค ปรากฏว่าไม่พบเชื้อ จึงอนุบาลต่อไป โดยใช้

อาหารอัดเม็ดสำเร็จรูปสำหรับลูกปลาดุก ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน 32 เปอร์เซนต์ ไขมัน 4 เปอร์เซนต์ เถ้า 8 เปอร์เซนต์ และความชื้น 13 เปอร์เซนต์ (โดยวิธีที่ประยุกต์มาจาก Takeuchi, 1988 และ Padmore, 1990) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อสังเกตเห็นว่าปลาแข็งแรงดี จึงเริ่มฝึกให้อาหารทดสอบ สูตรวิตามินครบถ้วน เพื่อสร้างความคุ้นเคยต่อรสชาดอาหาร และฝึกให้ปลายอมรับอาหาร จนลูกปลาทุกตัวยอมรับอาหารทดสอบเป็นอย่างดี ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3 วัน

2.1.2 การเตรียมวิตามินและแร่ธาตุ

การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือ วิตามินไทอะมีน วิตามินไรโบฟลาวิน วิตามินแพนโตเทนิก และวิตามินซี โดยจะใช้กลุ่มควบคุม 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่มีวิตามินผสมอยู่เลย กับกลุ่มที่ได้รับวิตามินครบถ้วน สำหรับกลุ่มที่ต้องการทดสอบการขาดวิตามินละลายน้ำตัวใดตัวหนึ่ง ก็จะผสมวิตามินอื่น ๆ ครบถ้วน จะยกเว้นไม่ผสมก็เฉพาะวิตามินละลายน้ำที่ต้องการทดสอบเท่านั้น การผสมวิตามินและแร่ธาตุลงในอาหาร จะต้องชั่งวัตถุดิบอย่างละเอียด แล้วจึงนำมาผสมกันต่างหาก ก่อนที่จะนำไปผสมกับวัตถุดิบอย่างอื่นต่อไป ดังขั้นตอนต่อไปนี้

2.1.2.1 ขั้นตอนการเตรียมวิตามิน

ก. เริ่มจากการชั่งวิตามินแต่ละชนิด (ดังตารางที่ 2.2) ด้วยเครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 5 ตำแหน่ง แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกแยกกันแต่ละชนิด โดยวิตามินที่ละลายในไขมันชั่งเตรียมแยกไว้ต่างหาก เพื่อที่จะนำไปใช้ผสมพร้อมกับแร่ธาตุ ส่วนวิตามินละลายน้ำจะนำมาละลายน้ำก่อน แล้วค่อยผสมกับวัสดุอาหารชนิดอื่น ๆ ในขั้นตอนการผสมอาหาร

ข. วิตามินที่ต้องการทดสอบ จะทดแทนน้ำหนักด้วยผงเซลลูโลส เพื่อให้ได้สัดส่วนที่เท่ากันของวิตามินผสมแต่ละสูตร

2.1.2.2 ขั้นตอนการเตรียมแร่ธาตุ

ก. เริ่มจากการชั่งแร่ธาตุแต่ละชนิด (ดังตารางที่ 2.3) ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง และทศนิยม 5 ตำแหน่ง และเก็บไว้ในถุงพลาสติก แยกจากกันแต่ละชนิด

ข. นำแร่ธาตุมาบดให้ละเอียด ผสมแร่ธาตุให้ทุกส่วนเข้ากันดี พร้อมกับวิตามินที่ละลายในไขมัน

ตารางที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบและปริมาณของวัสดุอาหารที่ใช้

วัสดุอาหาร	ปริมาณในอาหาร(%)
เคซีน (casein free vitamin)	29
เด็กตริน (dextrin)	30
เซลลูโลส (cellulose)	18.5
ซี.เอ็ม.ซี. (carboxy methyl cellulose)	3
เจลลาติน (gelatin)	6
แร่ธาตุรวม	5.5
น้ำมันปลา	3
น้ำมันพืช	3
วิตามินรวม	2
รวม	100

หมายเหตุ : ระดับปริมาณของวัสดุอาหารแต่ละชนิดที่กำหนดใช้ มีปริมาณที่สูงกว่าระดับความต้องการของสัตว์น้ำโดยทั่วไป ทั้งนี้เพื่อป้องกันอาการขาดสารอาหารแต่ละชนิดในสูตรอาหารที่มีวิตามินครบถ้วน

ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดและปริมาณวิตามิน ในอาหารทดสอบสำหรับชุดควบคุม สูตรวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2)

ชนิดของวิตามิน	ปริมาณในอาหาร 1 กก.
วิตามิน เอ (A - palmitate*	5,000 ไอ.ยู.
วิตามิน ดี (D_3; Cholecalciferol*	1,000 ไอ.ยู.
วิตามิน อี (Vitamin E; DL-∝-tocopherol*	50 ไอ.ยู.
วิตามิน เค (Vitamin K_1; Phylloquinone)	10 มิลลิกรัม
โคลีน (Acetylcholine chloride)	550 มิลลิกรัม
ไนอะซิน (Nicotinic acid)	100 มิลลิกรัม
วิตามิน บี$_1$ (Vitamin B_1 - hydrochloride; Thiamine)	20 มิลลิกรัม
วิตามิน บี$_2$ (Riboflavin)	20 มิลลิกรัม
วิตามิน บี$_6$ (Pyridoxine hydrochloride)	20 มิลลิกรัม
วิตามินแพนโตเทนิก (D-Pantothenic acid calcium salt)	50 มิลลิกรัม
ไบโอติน (Biotin)	5 มิลลิกรัม
กรดโฟลิค (Folic acid; Pteroyl - L -glutamic acid)	5 มิลลิกรัม
วิตามิน บี$_{12}$ (Cyanocobalamin)	20 ไมโครกรัม
วิตามินซี (Vitamin C; L - Ascorbic acid)	100 มิลลิกรัม
อินโนซิทอล (Myo - inositol)	100 มิลลิกรัม

*หมายเหตุ

วิตามิน เอ (A - palmitate)	1,750 ไอ.ยู. ต่อมิลลิกรัม
วิตามิน ดี (D_3; Cholecalciferol)	40,000 ไอ.ยู. ต่อมิลลิกรัม
วิตามิน อี (Vitamin E; DL-∝-tocopherol)	1.1 ไอ.ยู. ต่อมิลลิกรัม

ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดและปริมาณของแร่ธาตุ

ชนิดของแร่ธาตุ	กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม
$CaHPO_4.2H_2O$	20.7
$CaCO_3$	14.8
KH_2PO_4	10
KCl	0.1
NaCl	6
$MnSO_4.H_2O$	0.35
$FeSO_4.7H_2O$	0.5
$MgSO_4$	3
KIO_3	0.1
$CuSO_4.5H_2O$	0.03
$ZnCO_3$	0.15
$CoCl_2$.$6H_2O$	0.0017
$NaMoO_4.2H_2O$	0.0083
$Na_2SeO_3.5H_2O$	0.0002
รวม	55.7417

2.1.3 การเตรียมอาหารทดสอบ

อาหารทดสอบสำหรับการทดลองที่ 1 มีทั้งหมด 6 สูตร คือ

สูตรที่1 (T_1) ขาดวิตามินทุกชนิด (ชุดควบคุมที่ 1)

สูตรที่2 (T_2) วิตามินครบถ้วน (ชุดควบคุมที่ 2)

สูตรที่3 (T_3) ขาดวิตามินไทอะมีน

สูตรที่4 (T_4) ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน

สูตรที่5 (T_5) ขาดวิตามินแพนโตเทนิก

สูตรที่6 (T_6) ขาดวิตามินซี

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดสอบมีดังต่อไปนี้

2.1.3.1 ชั่งวัสดุอาหาร ที่ใช้สำหรับเตรียมอาหารทดสอบ ได้แก่ วัตถุดิบอาหารกึ่งบริสุทธิ์ วิตามินและแร่ธาตุ (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.1, 2.2 และ 2.3) แยกไว้ โดยไม่รวมกัน จนกว่าจะชั่งสารแต่ละตัวได้ครบตามต้องการ

2.1.3.2 นำส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้นสารจำพวกน้ำมัน มารวมกันและคลุกเคล้ากันให้ดี ด้วยเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด (ยี่ห้อ KENWOOD รุ่น KM 201) นานประมาณ 6 ถึง 7 นาที โดยใช้วัสดุที่มีปริมาณมากที่สุดรองก้นภาชนะ แล้วใช้วัสดุที่มีปริมาณน้อยไว้ตรงกลาง จากนั้นใช้วัสดุ ที่มีปริมาณมากเป็นอันดับสองปิดทับไว้ข้างบน

2.1.3.3 เมื่อส่วนผสมคลุกเคล้ากันดีแล้ว จึงนำส่วนผสมที่เป็นน้ำมัน ใส่ตามลงไปทีหลัง จนเป็นเนื้อเดียวกัน

2.1.3.4 เติมน้ำต้มสุกที่ทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว ประมาณ 35 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก (รวมทั้งน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายวิตามินละลายน้ำ) ในขณะที่เครื่องผสมยังทำงานต่อตามปกติ ส่วนผสมทุกอย่างรวมตัวเข้ากันดีจึงหยุด

2.1.3.5 นำส่วนผสมที่ได้นี้ เข้าเครื่องบดอัดออกเป็นเส้น หน้าแว่นที่ใช้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเม็ดอาหาร 2 มิลลิเมตร

2.1.3.6 อาหารทดสอบที่ได้ออกมามีลักษณะเป็นเส้นเล็ก ๆ นำมาทำให้แห้งโดยเป่าพัดลมทิ้งไว้พอหมาด ๆ เพื่อสะดวกในการตัดเป็นท่อนสั้น ๆ แล้วบรรจุในถุงพลาสติกนำไปแช่แข็ง ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

นำอาหารทดสอบ ไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ โดยวิธีที่ประยุกต์มาจาก Takeuchi (1988) และ Padmore (1990) ในการทดลองที่ 1 นี้ อาหารทดสอบประกอบด้วย โปรตีน 33.41 เปอร์เซนต์ ความชื้น 2.98 เปอร์เซนต์ ไขมัน 4.36 เปอร์เซนต์ และเถ้า 6.14 เปอร์เซนต์

2.1.4 แผนการทดลอง

2.1.4.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Duncan, 1955) ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง 10 สัปดาห์ การทดลองที่ 1 นี้ เป็นการทดสอบวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือ วิตามินไทอะมีน ไรโบฟลาวิน แพนโตเทนิก และ วิตามินซี โดยใช้กลุ่มควบคุมสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับอาหารทดสอบกึ่งบริสุทธิ์ ที่มี

วิตามินครบถ้วนทุกชนิด กับกลุ่มที่ได้รับอาหารทดสอบที่ไม่มีวิตามินผสมอยู่เลย แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลอง (treatments) แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 3 ซ้ำ (replications) โดยใช้ปลาทดลอง 30 ตัวต่อซ้ำ เลี้ยงในตู้กระจก ที่เตรียมไว้ โดยครั้งแรกใส่น้ำประมาณ 120 ลิตร ทุกตู้เท่ากันหมด เมื่อเลี้ยงปลาไปประมาณ 6 - 10 สัปดาห์ จะเพิ่มปริมาตรน้ำขึ้นเรื่อย ๆ จนได้ปริมาตร 160 ลิตร โดยมีเครื่องพ่นอากาศทำงานตลอดเวลาในตู้ ทำการชั่งน้ำหนักปลา โดยวิธีการแทนที่น้ำก่อนปล่อยลงตู้ทุก ๆ ซ้ำ ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลาเช้าประมาณ 9.00 น. และเวลาเย็นประมาณ 16.00 น. เริ่มให้อาหารครั้งแรกประมาณ 10 เปอร์เซนต์ ของน้ำหนักตัวปลาต่อวัน และจะปรับปริมาณอาหารที่ให้จนกระทั่งปลากินจนอิ่มในมื้อต่อ ๆ มา หลังจากให้อาหารในตอนเย็นของทุก ๆ วันจะเก็บอาหารที่เหลือมาชั่งน้ำหนัก เพื่อหาปริมาณอาหารที่ปลากินต่อวัน และจะปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก ๆ สัปดาห์ ทุกวันจะเปลี่ยนถ่ายน้ำ 70 - 100 เปอร์เซนต์ และดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ปลาแล้วเติมน้ำใหม่ให้เท่าเดิมทุกครั้ง น้ำที่ใช้เป็นน้ำประปาที่นำมาพักไว้ในบ่อพักน้ำ และ ถังไฟเบอร์ พร้อมกับเติมอากาศ โดยเครื่องพ่นอากาศตลอดเวลา อย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลองได้ตรวจสอบคุณภาพน้ำพบว่ามีค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) อยู่ในช่วง 8.50 - 8.60 มก./ล. ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ในช่วง 6.90 - 7.0 ค่าความกระด้าง (hardness) อยู่ในช่วง 26 - 28 มก./ล. ของ $CaCO_3$ ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 17 - 19 มก./ล. ของ $CaCO_3$

2.1.4.2 การรวมรวบข้อมูลการทดลอง

ก่อนและหลังให้อาหารทดสอบทุกครั้งสังเกตพฤติกรรมของปลาในแต่ละตู้ทดลอง ได้แก่ การว่ายน้ำ การยอมรับอาหาร การตอบสนองต่อแสง และสังเกตลักษณะภายนอก ได้แก่ สีของผิวหนัง การตกเลือด และการเกิดแผลที่ผิวหนัง ครีบ อวัยวะภายนอกอื่น ๆ รวมทั้งการคดงอของลำตัว การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาทดลองโดยการชั่งน้ำหนักปลาทุก ๆ 2 สัปดาห์ เพื่อตรวจสอบน้ำหนักปลาที่เปลี่ยนแปลง และคำนวณอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อปลา ขณะเดียวกันก็สำรวจอัตราการรอดตายของปลาในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการถ่ายรูปเปรียบเทียบปลาในแต่ละชุดการทดลองกับชุดควบคุม

การคำนวณหาน้ำหนักปลาที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (weight gain) โดยใช้สูตร

$$\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มเฉลี่ย} = \frac{(\text{น้ำหนักปลาครั้งสุดท้ายเฉลี่ย(กรัม)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม)}) \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม)}}$$

การคำนวณอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารแห้งที่ปลากินเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กรัม)}}$$

การคำนวณอัตราการรอดตายโดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือรอด (ตัว)} \times 100}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มต้นทั้งหมด (ตัว)}}$$

2.1.4.3 การเก็บตัวอย่างปลาเพื่อศึกษาเนื้อเยื่อ

ในระหว่างการทดลอง เมื่อตรวจพบว่าปลาในชุดการทดลองใดที่แสดงอาการผิดปกติอย่างรุนแรง จะทำการเก็บตัวอย่างทันที โดยผ่าตัดเอาส่วนของตับ ไต และเหงือกปลา มาดองไว้ในน้ำยาบูแอง (Bouin's Solution) เมื่อครบ 1 สัปดาห์ เปลี่ยนไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซนต์ ซึ่งสามารถเก็บรักษาสภาพของเนื้อเยื่อไว้ได้เป็นเวลานานก่อนจะนำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ โดยวิธีการของ Bancroft (1967) จากนั้นนำไปศึกษาทางเนื้อเยื่อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น C - 35AD

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในสัปดาห์ที่ 10 สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลอง จำนวนชุดการทดลองละ 10 ตัว เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาทั้งตัว (whole body compositions) โดยวิธีที่ประยุกต์มาจาก Takeuchi (1988) และ Padmore (1990) ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น เพื่อทราบผลของวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิด ที่มีต่อคุณภาพของเนื้อปลาโดยตรง พร้อมกับเก็บตัวอย่างสำหรับใช้ในการศึกษาทางเนื้อเยื่อไปพร้อม ๆ กัน

2.1.4.4 การศึกษาผลทางโลหิตวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการสุ่มปลาทุกชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 5 ตัว มาทำการเจาะเลือด เพื่อตรวจหาปริมาณฮีมาโตคริต (hematocrit) และฮีโมโกลบิน (hemoglobin) โดยวิธี Blaxhall and Daisley (1973) หาค่าเปอร์เซนต์ซีรัมโปรตีน (serum protein) โดยวิธีของ Lowry, *et al.* (1951) (ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค)

2.2. การทดลองที่ 2: ผลของวิตามินแพนโตเทนิกระดับต่างๆ ต่อปลากดเหลือง

2.2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลากดเหลือง ที่มีขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 1.63 - 1.67 กรัม จำนวนประมาณ 1,000 ตัว มาอนุบาลและเตรียมการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2.2 การเตรียมวิตามินและแร่ธาตุ

การเตรียมวิตามินและแร่ธาตุ ใช้วิธีการเตรียม เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 จะแตกต่างกันที่การทดลองนี้จะใช้วิตามินแพนโตเทนิกเพียงชนิดเดียว ระดับของวิตามินแพนโตเทนิกที่ทำการทดลองแบ่งเป็น 6 ระดับ คือ 0, 30, 50, 100, 150 และ 200 มก./ กก. ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

สูตรที่ 1 (T_1)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	0	มก./ กก.
สูตรที่ 2 (T_2)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	30	มก./ กก.
สูตรที่ 3 (T_3)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	50	มก./ กก.
สูตรที่ 4 (T_4)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	100	มก./ กก.
สูตรที่ 5 (T_5)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	150	มก./ กก.
สูตรที่ 6 (T_6)	ระดับปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก	200	มก./ กก.

ในการทดลองที่ 2 ได้กำหนดให้อาหารทดสอบสูตรที่ 1 เป็นชุดควบคุม

2.2.3 แผนการทดลอง

2.2.3.1 วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยใช้เวลาทดลอง 8 สัปดาห์ โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 6 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองแบ่งเป็น 3 ซ้ำ ใช้ปลาซ้ำละ 30 ตัว ให้อาหารวันละ 2 มื้อ เวลาเช้าประมาณ 9.00 น. และเวลาเย็นประมาณ

16.00 น. รายละเอียดอื่น ๆ ที่เกี่ยวกับการวางแผนการทดลองดำเนินการเช่นเดียวกับในข้อ 2.1.4

2.2.3.2 การรวบรวมข้อมูลการทดลอง กระทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (ข้อ 2.1.4.2)

2.2.3.3 การเก็บตัวอย่างปลาเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา กระทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (ข้อ 2.1.4.3)

3. ผลการทดลอง

3.1 การทดลองตอนที่ 1: ผลของวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิดต่อปลากดเหลือง

3.1.1 ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลากดเหลือง

ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลากดเหลือง ที่ขาดวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิด ได้สรุปและแสดงไว้ในตารางที่ 3.1 สำหรับรายละเอียดที่เกี่ยวข้องกับวิตามินแต่ละชนิดมีดังนี้

3.1.1.1 ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ไม่เสริมวิตามินทุกชนิด)

หลังจากเลี้ยงปลากดเหลือง ด้วยอาหารที่ไม่เสริมวิตามินใดๆ (อาหารสูตรที่ 1) เป็นเวลา 9 วัน เริ่มสังเกตเห็นความผิดปกติภายนอกที่เกิดขึ้นกับตัวปลาหลายอย่างได้แก่ สีลำตัวของปลาเริ่มมีสีคล้ำขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (อาหารสูตรที่ 2) ปลาส่วนใหญ่ในชุดการทดลองนี้มีอาการเฉื่อยลงโดยมักหลบตัวบริเวณก้นภาชนะที่เลี้ยง และไม่ยอมรับอาหารที่ให้ เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น ความผิดปกติทางพฤติกรรมก็มากขึ้น โดยมีปลาหลายตัว (ตู้ละประมาณ 2-3 ตัว) ลอยตัวขึ้นมาอยู่บริเวณผิวน้ำ ปลาหลายตัวเริ่มตายในวันที่ 11 ของการทดลอง ในช่วงเวลาดังกล่าวปลาแสดงอาการไวต่อการตอบสนองต่อแสง โดยสังเกตเห็นปลาตื่นตกใจง่าย โดยเฉพาะในช่วงเวลากลางคืนเมื่อเปิดไฟให้แสงสว่าง ในสัปดาห์ที่ 3 ของการทดลองปลาบางตัวเริ่มเสียสมดุลการทรงตัว โดยสังเกตเห็นอาการว่ายน้ำผิดปกติ ว่ายตะแคงข้าง หลังจากสัปดาห์ที่ 3 ของการทดลอง ส่วนของระยางค์ต่าง ๆ ได้แก่ หนวดและครีบ เริ่มสึกกร่อนและฉีกขาด แผ่นปิดเหงือกเปิดอ้าเล็กน้อย เมื่อเปิดออกดูจะพบว่าเหงือกมีสีดำ ซี่เหงือกฉีกขาด (รูปที่ 2) ปลามีรูปร่างผอมบาง (รูปที่ 4) และช็อคง่ายขณะเปลี่ยนถ่ายน้ำ

หลังจากสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง ระยางค์ต่าง ๆ ของปลาสึกกร่อนและฉีกขาดมากขึ้น ปลาเกือบทุกตัวแสดงความผิดปกติภายนอกและพฤติกรรมต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้วรุนแรงขึ้น และยังพบการตกเลือดบริเวณโคนครีบทุกครีบ การกินอาหารลดลงอย่างมาก และปลาเริ่มตายมากขึ้น

หลังสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลองพบว่า ปลาหลายตัวในชุดการทดลองนี้มีตาโปนและเลนส์ตาขาวขุ่น สีลำตัวไม่สม่ำเสมอและมีสีดำเป็นจ้ำ ๆ ปลาบางตัวเห็นได้ชัดเจนว่าสีลำตัวบริเวณส่วนหัวกับท่อนหางเป็นคนละสีกัน

หลังสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองพบว่า การยอมรับอาหารของปลาในชุดการทดลองนี้ลดลงมาก สีลำตัวของปลาเริ่มเปลี่ยนเป็นสีจางลงมากขึ้น และสังเกตเห็นเป็นจ้ำ ๆ จนสีขาวซีดตลอดลำตัว ปลาส่วนใหญ่หลบตัวอยู่บริเวณก้นภาชนะที่เลี้ยง และบางครั้งก็ลอยตัวขึ้นมาที่ผิวน้ำและตายในที่สุด

3.1.1.2 ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (เสริมวิตามินและแร่ธาตุครบถ้วน)

ปลากดเหลืองที่ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารเสริมวิตามินและแร่ธาตุครบถ้วน (อาหารสูตรที่ 2) มีพฤติกรรมปกติ ไม่แสดงความผิดปกติภายนอก สีลำตัวเป็นปกติ ระยางค์ทุกระยางค์ครบสมบูรณ์ เมื่อเปิดฝาปิดเหงือกดูจะเห็นเหงือกมีสีแดงสด (รูปที่ 1) และไม่มีการตกเลือดแต่อย่างใด การยอมรับอาหารดีมาก พฤติกรรมที่สังเกตเห็นได้ คือ ปลาจะว่ายน้ำแบบรวมกลุ่ม เมื่อถึงเวลาให้อาหารจะให้สัญญาณด้วยการเคาะเบา ๆ ที่ขอบภาชนะที่เลี้ยง ปลาก็จะรวมกลุ่มกันมารับอาหารอย่างรวดเร็ว ปลาในชุดการทดลองนี้ไม่แสดงอาการตื่นตกใจง่าย ไม่ช็อคง่ายขณะเปลี่ยนถ่ายน้ำหรือชั่งน้ำหนัก

3.1.1.3 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน)

ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมวิตามินไทอะมีนหรือวิตามิน B_1 (อาหารสูตรที่ 3) เริ่มแสดงความผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามิน ภายหลังจากได้รับอาหารทดสอบติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยเริ่มมีลักษณะสีลำตัวคล้ำขึ้น รูปร่างผิดสัดส่วน กล่าวคือ ลำตัวมีลักษณะสั้นป้อม ปลาบางตัวมีการยอมรับอาหารลดลง พฤติกรรมโดยรวมของปลาในชุดการทดลองนี้ไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วนมากนัก ปลาไม่แสดงอาการทางประสาท และตลอดการทดลองไม่พบอาการรุนแรงแต่อย่างใด (รูปที่ 5)

3.1.1.4 ปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน)

ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหาร ที่ไม่ได้เสริมวิตามินไรโบฟลาวิน (อาหารสูตรที่ 4) ติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เริ่มแสดงความผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามิน คือ สีลำตัวคล้ำขึ้น การยอมรับอาหารลดลง ปลาส่วนใหญ่ที่ได้รับอาหารสูตรนี้ มักจับกลุ่มกัน

อยู่บริเวณด้านข้างและตรงมุมมืดของภาชนะที่เลี้ยง ไม่ชอบแสงสว่าง ปลาแสดงอาการขาดวิตามินไรโบฟลาวินรุนแรงขึ้น หลังจากที่เลี้ยงไป 5 สัปดาห์ สังเกตเห็นครีบหลังกร่อนจากนั้นเริ่มขาดและแตก ลำตัวมีสีดำเข้มมากขึ้น การว่ายน้ำเชื่องช้าลง ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลองครีบหางสึกกร่อนมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบการสึกกร่อนของครีบอื่น ๆ ด้วย และพบการสึกกร่อนของหนวด แต่ไม่พบการตกเลือดแต่อย่างใด ปลาแสดงอาการรุนแรงขึ้น ตามระยะเวลาที่เลี้ยง และหลังจากสัปดาห์ที่ 7 ปลาเริ่มตาย (รูปที่ 6)

3.1.1.5 ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก)

ปลาที่ได้รับอาหาร ที่ไม่ได้เสริมวิตามินแพนโตเทนิก (อาหารสูตรที่ 5) เริ่มสังเกตเห็นลักษณะผิดปกติในวันที่ 9 ของการทดลอง (ช่วงเวลาเดียวกับที่สังเกตเห็นความผิดปกติในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1) โดยปลาเริ่มมีสีลำตัวคล้ำขึ้น การกินอาหารเริ่มลดลง เมื่อเวลาเลี้ยงผ่านไป 12 วัน การกินอาหารลดลงมาก ตัวเล็กและผอม (รูปที่ 7) และปลาเริ่มตายในระยะนี้ อาการของปลาก่อนตายจะลอยหัวบริเวณผิวน้ำเพื่อขึ้นมาฮุบอากาศสำหรับหายใจ และหลังระยะนี้ไปแล้วปลาจะเริ่มตายไปเรื่อย ๆ (รูปที่ 10) เมื่อเวลาเลี้ยงผ่านไป 3 สัปดาห์ พบว่าส่วนของแผ่นปิดเหงือกในปลาหลายตัว ที่ได้รับอาหารสูตรนี้เริ่มเปิดอ้าซี่เหงือกมีสีดำ (รูปที่ 3) ครีบหลังและครีบหางกร่อนมาก ปลาเริ่มสูญเสียการทรงตัวในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง สังเกตได้จากอาการว่ายน้ำผิดปกติ ในสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลองพบว่า ปลาบางตัวที่ได้รับอาหารสูตรนี้มีตาโปน หนวดกุด ครีบสึกกร่อน เป็นแผลบริเวณโคนหาง ตกเลือดบริเวณท้องและโคนครีบก้น ปลาที่แสดงอาการขาดวิตามินแพนโต-เทนิกอย่างรุนแรงจะตายในที่สุด

3.1.1.6 ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี)

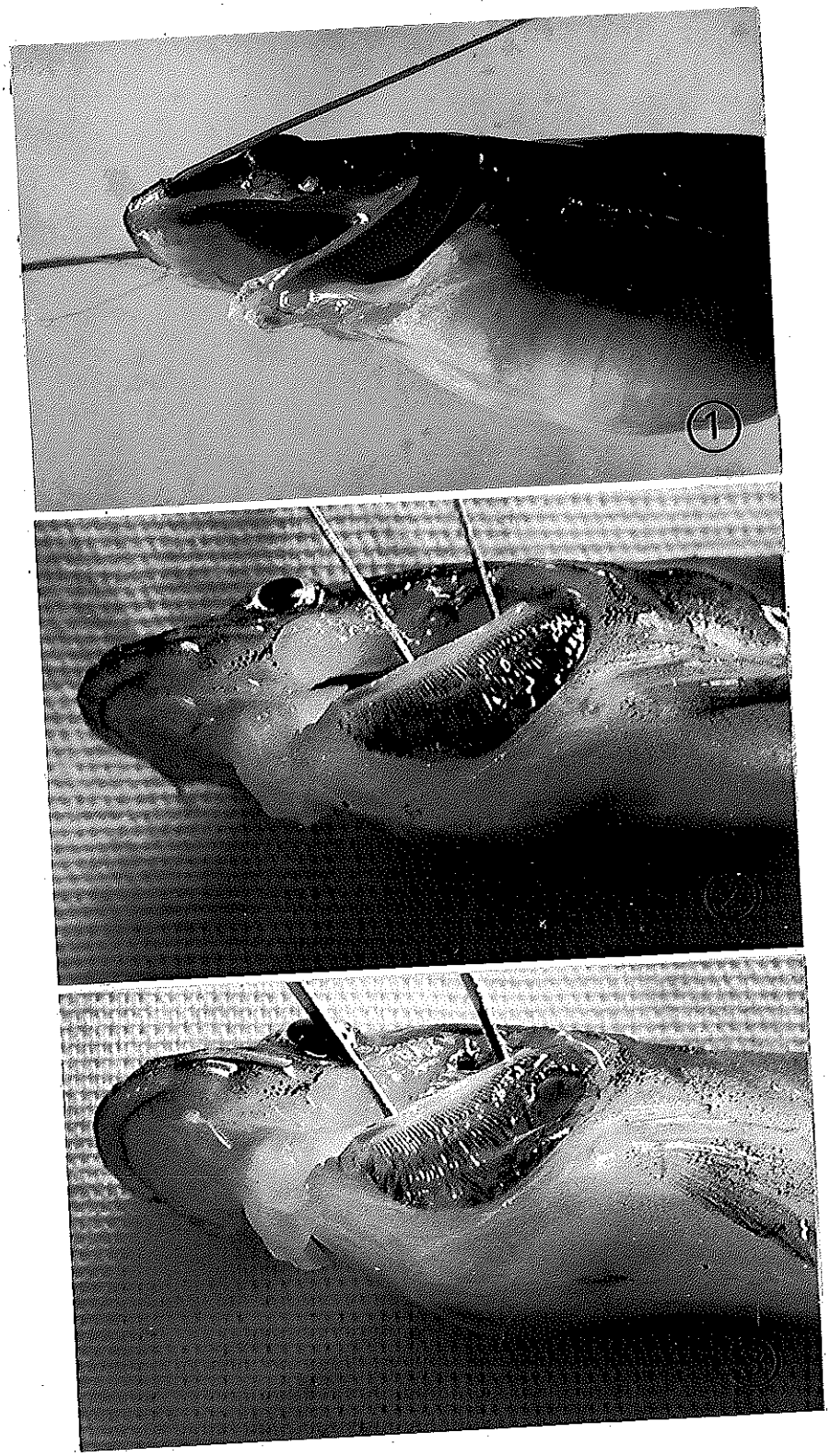
ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินซี เริ่มแสดงอาการขาดวิตามินซีภายหลังจากได้รับอาหารทดสอบติดต่อกันเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยครีบหลังสึกกร่อน และส่วนของครีบหางแตกเป็นริ้ว สีลำตัวของปลาคล้ำขึ้นอย่างชัดเจน ลำตัวป้อมสั้น ในระยะนี้การกินอาหารยังปกติ หลังจากเลี้ยงปลาไปแล้ว 7 สัปดาห์ อาการขาดวิตามินจะเพิ่มความรุนแรงขึ้น พบว่าปลาทุกตัวผิวหนังมีสีคล้ำขึ้น ตัวที่แสดงอาการรุนแรงเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 8 เป็นต้นไป เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 9 พบว่า หนวดกร่อน บางตัวตาโปน จำนวนปลาประมาณครึ่งหนึ่งของปลาที่ได้รับอาหารสูตรนี้ มีการสึกกร่อนของครีบหลัง ปลามีพฤติกรรมก้าวร้าว และ

กัดกันเองมากขึ้น ว่ายน้ำเสียการทรงตัว ปลายสัปดาห์ที่ 9 พบว่า ปลาหลายตัวในชุดการทดลองนี้มีสีของลำตัวเริ่มไม่สม่ำเสมอ กล่าวคือ มีลักษณะเป็นจุดดำ ๆ ด่าง ๆ ตลอดลำตัว ปลาส่วนใหญ่จะหลบซ่อนตัวที่มุมและที่ก้นของภาชนะที่เลี้ยง ลักษณะรูปร่างของปลาส่วนใหญ่ในชุดการทดลองนี้ จะผิดสัดส่วนกล่าวคือ ตัวอ้วนป้อมและสั้น (รูปที่ 8) การกินอาหารของปลาหลังจากสัปดาห์ที่ 8 จะลดลง

ภายหลังจากเลี้ยงครบ 10 สัปดาห์ ตรวจพบอาการตกเลือดบริเวณโคนครีบทุกครีบ หนวดกร่อน และหนวดหักงอ แต่ไม่พบลักษณะลำตัวคดงอแต่อย่างใด

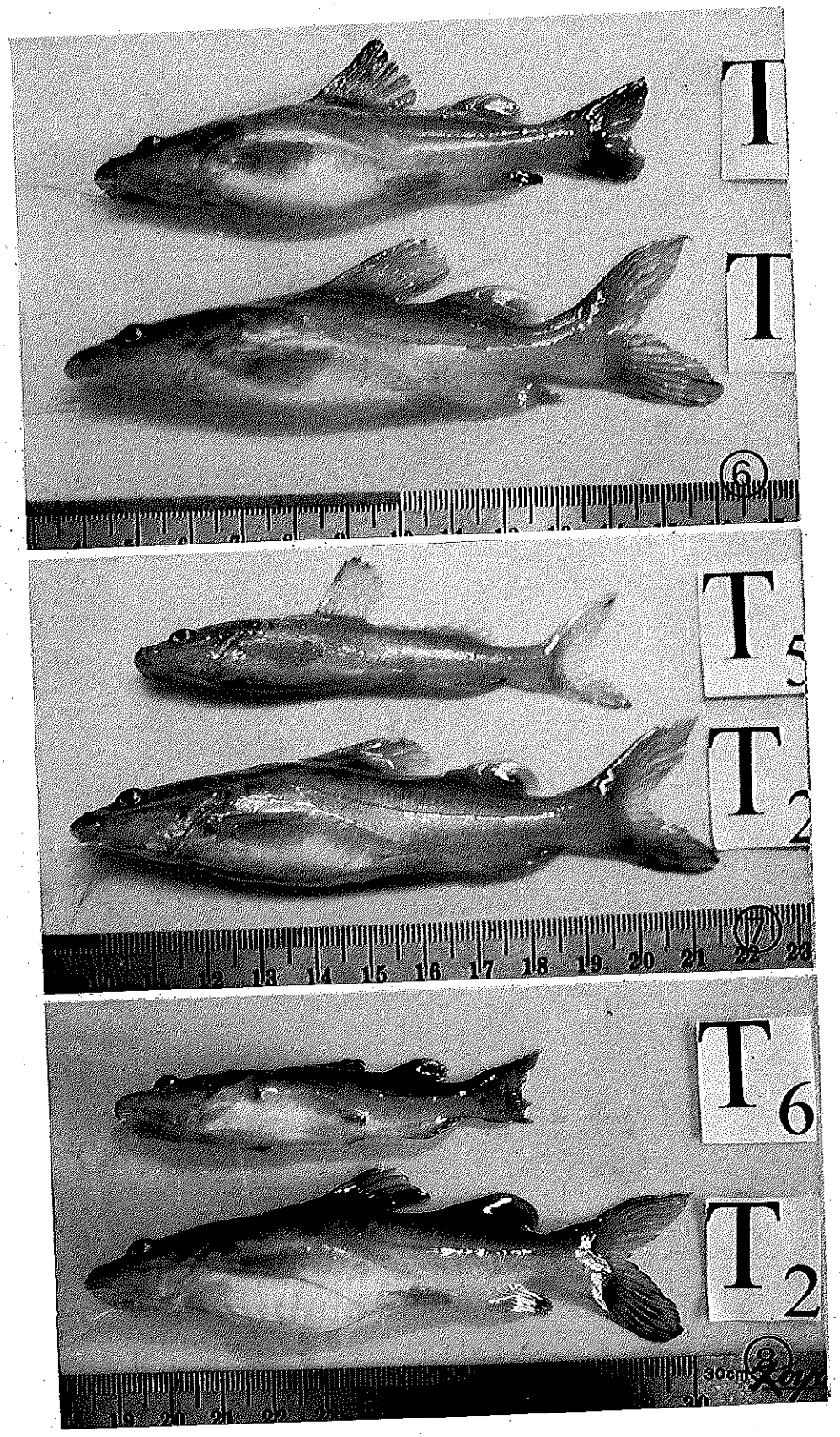
ตารางที่ 3.1 สรุปลักษณะอาการของปลากดเหลือง เมื่อขาดวิตามินละลายน้ำแต่ละชนิด และระยะเวลาที่เริ่มแสดงอาการขาด

ชนิดของวิตามินที่ขาด	ลักษณะอาการขาดวิตามิน	ระยะเวลาที่เริ่มแสดงอาการ
ขาดวิตามินทุกชนิด	สีลำตัวคล้ำ หนีแสง เฉื่อยชา ตื่นตกใจง่าย เสียสมดุล (ว่ายน้ำเสียการทรงตัว) ช็อคง่าย ระยางค์ต่าง ๆ สึกกร่อน เหงือกมีสีคล้ำ ซี่เหงือกฉีกขาด ตกเลือดบริเวณโคนครีบ ตาโปนและขาวขุ่น ลำตัวผอมบาง ลอยตัวที่ผิวน้ำกินอาหารน้อยลง และตายในที่สุด	9 วัน
วิตามินไทอะมีน ($วิตามินบี_1$)	สีลำตัวคล้ำขึ้น ลำตัวสั้นป้อม และกินอาหารน้อยลง	42 วัน
วิตามินไรโบฟลาวิน ($วิตามินบี_2$)	สีลำตัวคล้ำขึ้น กินอาหารน้อยลง หนีแสง ครีบกร่อน หนวดกร่อน	28 วัน
วิตามินแพนโตเทนิก ($วิตามินบี_5$)	สีลำตัวคล้ำขึ้น ลอยหัวฮุบอากาศบริเวณผิวน้ำ แผ่นปิดเหงือกเปิดอ้า เหงือกมีสีดำ เหงือกกร่อน ครีบกร่อน หนวดกร่อน เสียการทรงตัว ตาโปน ตกเลือดบริเวณท้อง และครีบก้น เป็นแผลบริเวณโคนหางง่าย กินอาหารน้อยลง และตายในที่สุด	9 วัน
วิตามินซี	ครีบหลังสึกกร่อน ครีบหางแตกเป็นริ้ว สีของลำตัวเข้มขึ้น ลำตัวสั้นป้อม การกินอาหารลดลง ตกเลือดบริเวณโคนครีบทุกครีบ หนวดกร่อน และหนวดหักงอ	35 วัน


1
2
3

T1
T2

T3
T2


T
T
T5
T2
T6
T2

3.1.2 การเจริญเติบโต

ภายหลังการทดลองเลี้ยงปลากดเหลืองครบ 10 สัปดาห์ ด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ 6 สูตร ปรากฏผลการทดลองดังนี้

3.1.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทุกสองสัปดาห์

ข้อมูลการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง ที่ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ 6 สูตรในทุกสองสัปดาห์แสดงไว้ในรูปที่ 9 และตารางผนวกที่ ก-4 เมื่อเริ่มการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลากดเหลืองในแต่ละชุดการทดลองใกล้เคียงกันคือ ประมาณ 1.02 กรัม เมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น น้ำหนักปลาในทุกชุดการทดลองก็เพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 1.60-1.86 กรัม เมื่อนำผลไปวิเคราะห์ทางสถิติ ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($P>0.05$) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 2.06-3.09 กรัม และเริ่มมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 2 (มีวิตามินครบถ้วน) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าปลาในชุดการทดลองอื่น ๆ แต่ไม่ต่างกับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) และสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) สำหรับปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) ปรากฏว่าน้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในกลุ่มเดียวกับปลาที่รับอาหารที่ขาดวิตามินละลายน้ำเฉพาะตัว คือสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) และสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินซี) (ตารางผนวกที่ ก-4)

เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่รับอาหารสูตรที่ 2 (มีวิตามินครบถ้วน) สูงกว่าในชุดการทดลองอื่น ๆ ทุกชุดการทดลอง และพบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของปลาตามน้ำหนักเฉลี่ยของปลาได้เป็นสามกลุ่มคือ กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวน้อย โดยอยู่ในช่วง 2.72-2.78 กรัม คือ ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) และปลาที่รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) กลุ่มที่สองคือกลุ่มที่น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวปานกลาง โดยอยู่ในช่วง 4.85-5.08 กรัม คือปลาที่รับอาหารสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) และปลาที่รับอาหารสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) และกลุ่มที่สามเป็นกลุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงสุดเป็นปลาที่รับอาหารสูตรที่ 2 (มีวิตามินครบถ้วน) น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 5.93 กรัมมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($P<0.05$) (ตารางผนวกที่ ก-4) หลังจากสัปดาห์ที่ 8

ของการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้น และสามารถแบ่งกลุ่มตามน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นได้สามกลุ่มเช่นเดียวกับสัปดาห์ที่ 6 นั่นคือ น้ำหนักเฉลี่ยของปลาในกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวน้อย (ชุดการทดลองที่ 1 และ 5) อยู่ในช่วง 3.57-4.02 กรัมต่อตัว ปลาในกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวปานกลาง (ชุดการทดลองที่ 3, 4 และ 6) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 7.17-8.15 กรัม สำหรับปลาในชุดการทดลองที่ 2 ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดนั้นมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเท่ากับ 9.95 กรัม โดยน้ำหนักเฉลี่ยของปลามีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างชุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ก-4)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 ปรากฏว่าสามารถแบ่งกลุ่มปลาตามน้ำหนักเฉลี่ยได้เป็นห้ากลุ่ม คือ กลุ่มที่หนึ่งเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวน้อยที่สุด คือ 3.56 กรัม ได้แก่ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) กลุ่มที่สองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่ากลุ่มแรกเล็กน้อย คือ 5.46 กรัม ได้แก่ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโต-เทนิก) กลุ่มที่สามมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวระดับปานกลาง คือ 8.68 กรัม ได้แก่ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) กลุ่มที่สี่เป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูง คือ อยู่ในช่วง 10.87 - 12.46 กรัม ได้แก่ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) และปลาที่รับอาหารสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงสุด คือ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (มีวิตามินครบถ้วน) มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 13.99 กรัม น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทั้ง 6 ชุดการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางผนวกที่ ก-4)

3.1.2.2 น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับอาหารทดสอบสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร พบว่าสามารถจัดกลุ่มน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น ได้เช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลากดเหลืองในสัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง โดยน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 250.24-1,275.87 เปอร์เซนต์ และมีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P<0.05$) (ตารางที่ 3.2)

3.1.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio; FCR)

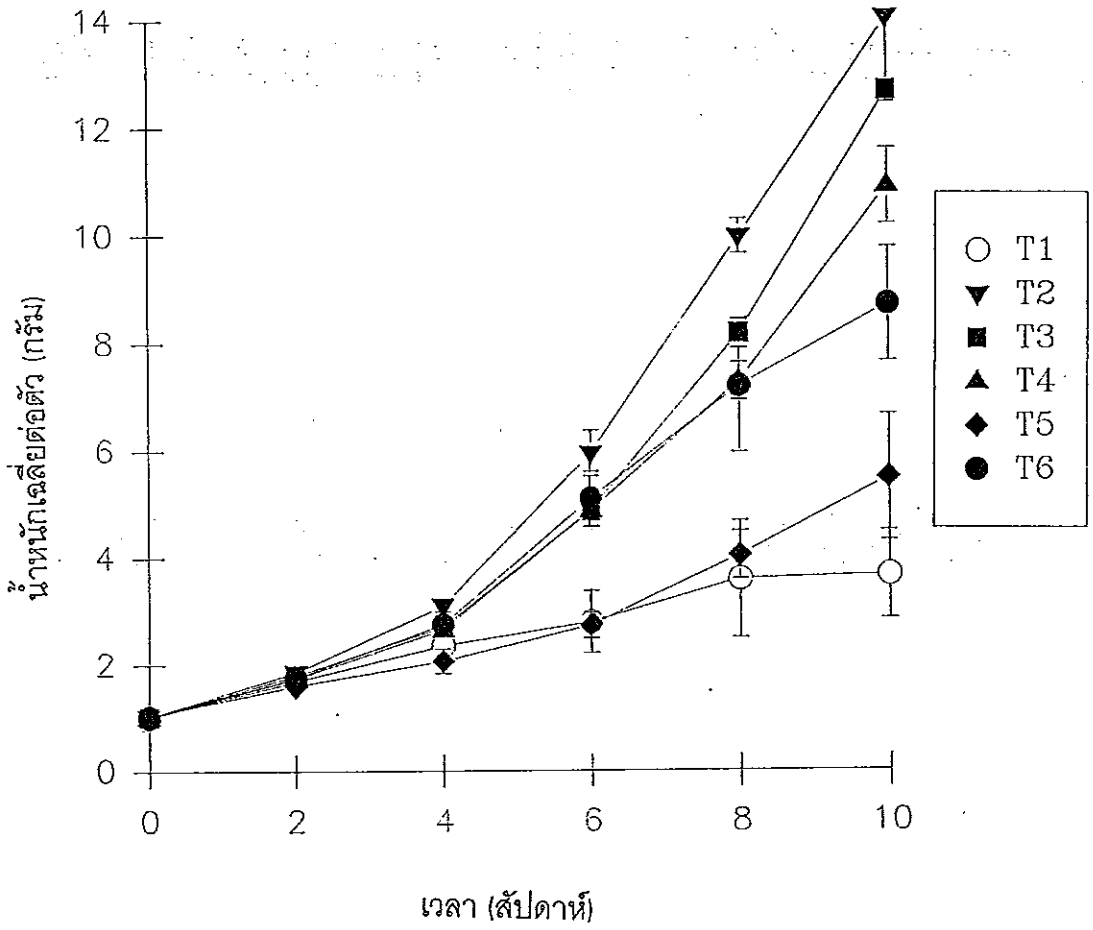
เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 จึงนำน้ำหนักอาหารทั้งหมดที่ปลากินกับน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นไปคำนวณหาอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.2 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (วิตามินครบถ้วน) สูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) และสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) มีค่า FCR ใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 1.47-1.49 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) มีค่า FCR สูงสุดคือ 3.95 และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าแตกต่างจาก FCR ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ ทุกสูตร สำหรับปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) และอาหารสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) มีค่า FCR ใกล้เคียงกันคือมีค่า 2.65 และ 2.35 ตามลำดับ ค่า FCR ของปลาทั้งสองชุดการทดลองนี้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

3.1.4 อัตราการรอดตาย

ข้อมูลแสดงอัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรต่างๆ ทุก 2 สัปดาห์ แสดงรูปที่ 10 และภาคผนวกที่ ก-5 จากผลการทดลองพบว่า สามารถแบ่งกลุ่มปลาโดยอาศัยอัตราการรอดตายได้ 2 กลุ่ม คือ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (มีวิตามินครบถ้วน)สูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) สูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) และสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) มีอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 94.44-98.89 เปอร์เซนต์ สำหรับปลาในกลุ่มที่สอง ซึ่งมีอัตราการรอดตายต่ำ ได้แก่ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) ในกลุ่มที่สองนี้พบว่า ปลาเริ่มตายในสัปดาห์ที่2 และตายมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองมีผลทำให้อัตราการรอดตายลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 10) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 7.78-11.11 เปอร์เซนต์ (ตารางผนวกที่ ก-5)

3.1.5 การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือด

หลังจากเลี้ยงปลากดเหลืองด้วยอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ 6 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จึงเจาะเลือดปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ไปวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด แต่เนื่องจากปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) มีขนาดเล็กมากจึงไม่สามารถเจาะเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์ได้ สำหรับค่าองค์ประกอบเลือดที่ทำการวิเคราะห์คือ ฮีมาโตคริต (%) ฮีโมโกลบิน (%) และซีรัมโปรตีน (g%) ปรากฏว่าปลากดเหลืองที่ได้รับอาหาร



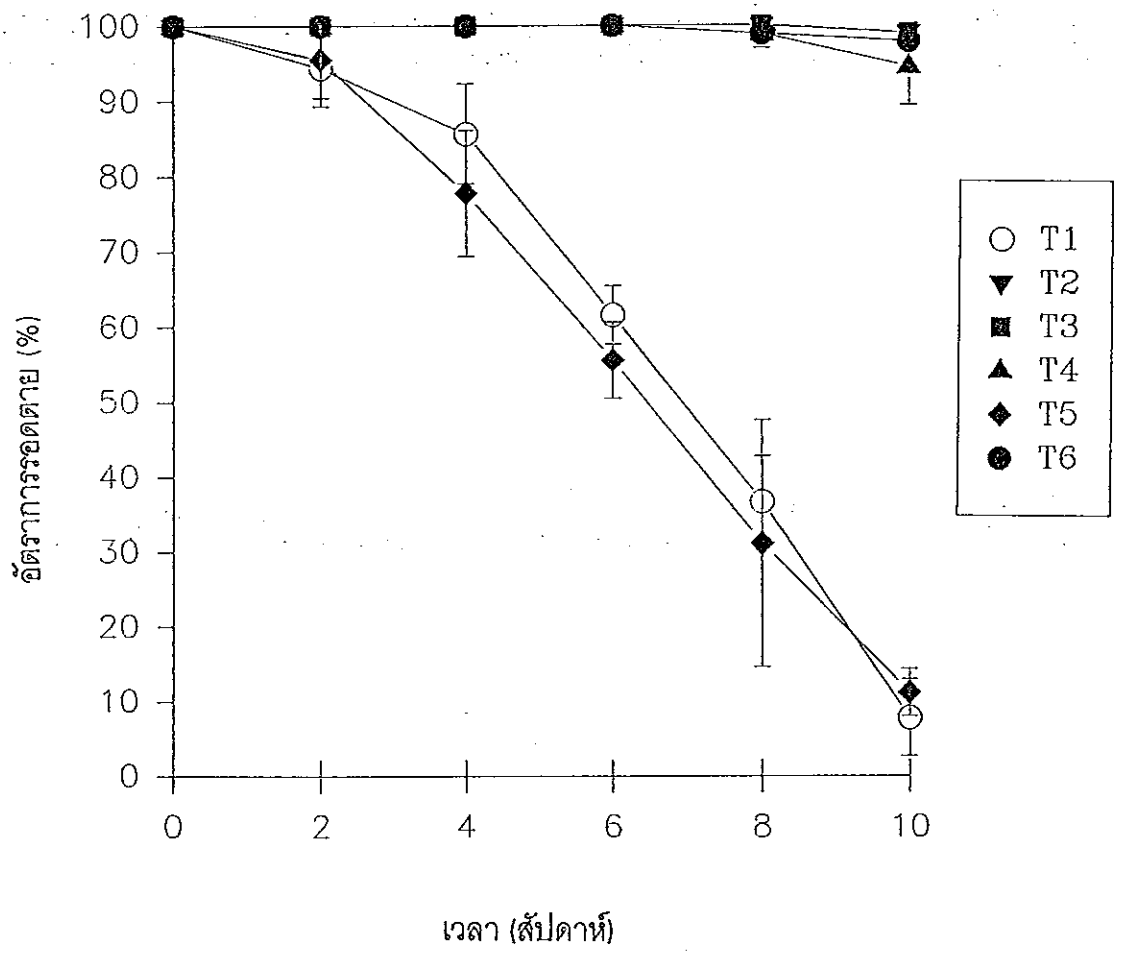
รูปที่ 9 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่1)

ตารางที่ 3.2 แสดงน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดตายของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหาร 6 สูตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

สูตรอาหารที่	วิตามินที่ขาด	น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)		น้ำหนักปลาที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (%) (weight gain)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)	อัตราการรอดตาย (%)
		เริ่มต้น	สุดท้าย			
1 (T_1)	วิตามินทุกชนิด	1.01 ± 0.02^{a}	3.56 ± 0.85^{a}	250.24 ± 79.94^{a}	3.95 ± 0.35^{c}	7.78 ± 5.09^{a}
2 (T_2)	วิตามินครบถ้วน	1.02 ± 0.01^{a}	13.99 ± 1.56^{e}	1275.87 ± 145.49^{e}	1.49 ± 0.16^{a}	98.89 ± 1.92^{b}
3 (T_3)	วิตามินไทอะมีน	1.02 ± 0.01^{a}	12.46 ± 0.17^{de}	1143.58 ± 12.40^{de}	1.48 ± 0.05^{a}	98.89 ± 1.92^{b}
4 (T_4)	วิตามินไรโบฟลาวิน	1.01 ± 0.00^{a}	10.87 ± 0.70^{d}	976.24 ± 69.07^{d}	1.47 ± 0.10^{a}	94.44 ± 5.09^{b}
5 (T_5)	วิตามินแพนโตเทนิก	1.03 ± 0.01^{a}	5.46 ± 1.188^{b}	432.15 ± 117.41^{b}	2.65 ± 1.18^{b}	11.11 ± 3.85^{a}
6 (T_6)	วิตามินซี	1.02 ± 0.01^{a}	8.68 ± 1.06^{c}	753.07 ± 99.84^{c}	2.35 ± 0.20^{ab}	97.78 ± 3.85^{b}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)



รูปที่ 10 กราฟแสดงอัตราการรอดตายของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่1)

ตารางที่ 3.3 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของปลากดเหลือง ภายหลังจากให้อาหารทดสอบแตกต่างกัน 6 สูตร ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

องค์ประกอบเลือด	ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่					
	1*	2	3	4	5	6
ฮีมาโตคริต (%)	-	36.40±5.22[a]	30.00±2.45[a]	32.80±3.35[a]	33.33±3.06[a]	33.00±3.00[a]
ฮีโมโกลบิน (g%)	-	4.8±0.86[a]	3.41±0.44[a]	3.77±1.06[a]	4.11±0.89[a]	3.96±1.15[a]
ซีรัมโปรตีน (g%)	-	5.62±0.54[a]	5.42±0.61[a]	5.26±0.86[a]	4.03±0.32[a]	5.06±0.80[a]

*ตัวอย่างมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถทำการเจาะเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์ได้

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3.4 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารทดสอบแตกต่างกัน 6 สูตร ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

สูตรอาหารที่	วิตามินที่ขาด	องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลือง (%)			
		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
1 (T_1)	ขาดวิตามินทุกชนิด	2.94	61.28	10.94	20.83
2 (T_2)	วิตามินครบถ้วน	3.84	57.66	20.83	14.36
3 (T_3)	วิตามินไทอะมีน	6.05	59.00	19.43	13.93
4 (T_4)	วิตามินไรโบฟลาวิน	2.50	58.72	20.71	14.60
5 (T_5)	วิตามินแพนโตเทนิก	2.75	61.47	15.69	17.76
6 (T_6)	วิตามินซี	2.21	59.63	19.19	15.47

3.1.7 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

3.1.7.1 เหงือก

โครงสร้างเหงือกของปลากดเหลืองก็เหมือนกับในปลาอื่น ๆ ที่ได้ศึกษามา กล่าวคือ ส่วนของซี่เหงือก (gill filament) ประกอบด้วยแกนซี่เหงือก (primary lamellae) เป็นแกนและมีกิ่งแตกแขนงออกไป 2 ข้างเป็นแขนงซี่เหงือก (secondary lamellae) (รูปที่ 11) ซึ่งบริเวณผิวของแขนงซี่เหงือกจะปกคลุมด้วยเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cells) มีลักษณะเป็นเซลล์รูปสี่เหลี่ยม (squamous epithelium cell) ภายในแขนงซี่เหงือกมีแอ่งซึ่งเป็นที่อยู่ของเม็ดเลือดแดง (blood lacuna) และเซลล์ที่ทำให้โครงสร้างของแขนงซี่เหงือกคงรูปอยู่ได้เรียกว่า พิลลาเซลล์ (pillar cell) มีลักษณะเด่นคือ มีนิวเคลียสใหญ่และเห็นได้ชัดเจน (รูปที่ 12)

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อพบว่า ปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) ลักษณะของเหงือกผิดรูปและเสื่อมสภาพอย่างรุนแรง โดยโครงสร้างของซี่เหงือกบิดงอ เซลล์เยื่อบุผิวของซี่เหงือกมีการแบ่งตัวที่มากผิดปกติเรียกว่า เกิดไฮเปอร์พลาเซีย (hyperplasia) และเกิดช่องว่าง (vacuole) ขึ้นภายในเซลล์เยื่อบุผิวซี่เหงือก (รูปที่ 13) การเกิดไฮเปอร์พลาเซีย มีผลทำให้แขนงซี่เหงือกเบียดชิดติดกันทำให้มองเห็นซี่เหงือกเป็นแท่งคล้ายรูปกระบอง ดังรูปที่ 14

ปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) ปรากฏผลเช่นเดียวกับปลาในชุดควบคุมที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) โดยเกิดไฮเปอร์พลาเซียของแขนงซี่เหงือก และเชื่อมติดกันเป็นแท่งคล้ายรูประบอง ดังรูปที่ 15 และรูปที่ 16

สำหรับปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) ปรากฏว่าเหงือกปลาในส่วนของแขนงซี่เหงือก มีการแยกตัวของเซลล์เยื่อบุผิวซี่เหงือก ทำให้มีลักษณะเหมือนการบวมน้ำ (oedema) มีผลทำให้รูปร่างของแขนงซี่เหงือกผิดปกติไป ดังรูปที่ 17

ส่วนปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 2 (วิตามินครบถ้วน) ปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) และปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) ลักษณะโดยทั่วไปของเหงือกปกติ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพให้เห็นแต่อย่างใด (รูปที่ 11, 12)

3.1.7.2 ตับ

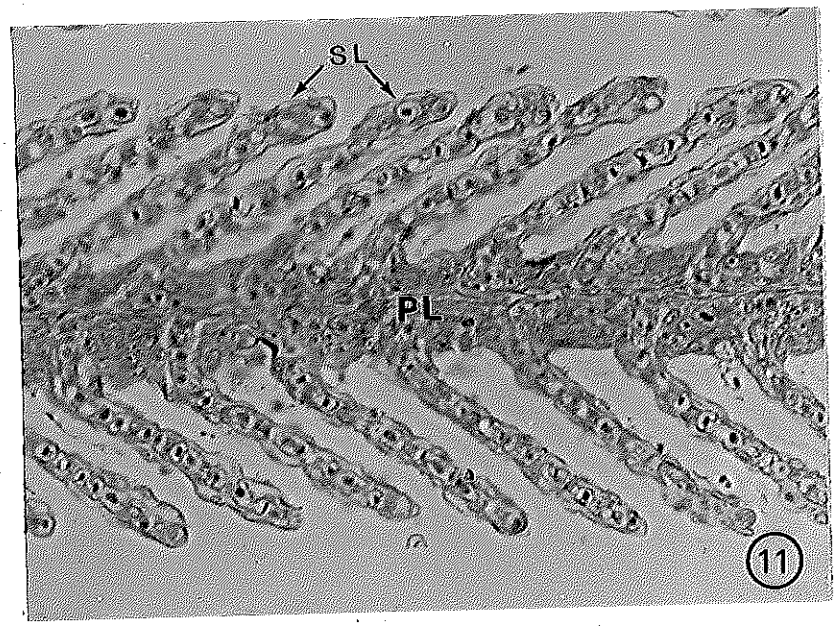
ลักษณะโครงสร้างของตับปกติจะประกอบด้วยเซลล์หลัก 2 ชนิดคือ เซลล์ตับ (hepatic cells) และเซลล์บุผนังไซนูซอยด์ (sinusoid) เซลล์ตับจัดเรียงตัวเป็นแถวเรียงเดี่ยวทำให้เกิดเป็นช่องว่างที่เรียกว่า ไซนูซอยด์ มีลักษณะคล้ายการจัดตัวของฟองน้ำ โดยรูของฟองน้ำคือ ไซนูซอยด์ และตัวฟองน้ำคือ เซลล์ตับ หน่วยย่อยของเซลล์ตับเรียกว่า เฮปาติกโลบูล (hepatic lobule) มีลักษณะเป็นรูป 6 เหลี่ยม มีเส้นเลือดเซนทรัลเวน (central vein) อยู่ตรงกลาง

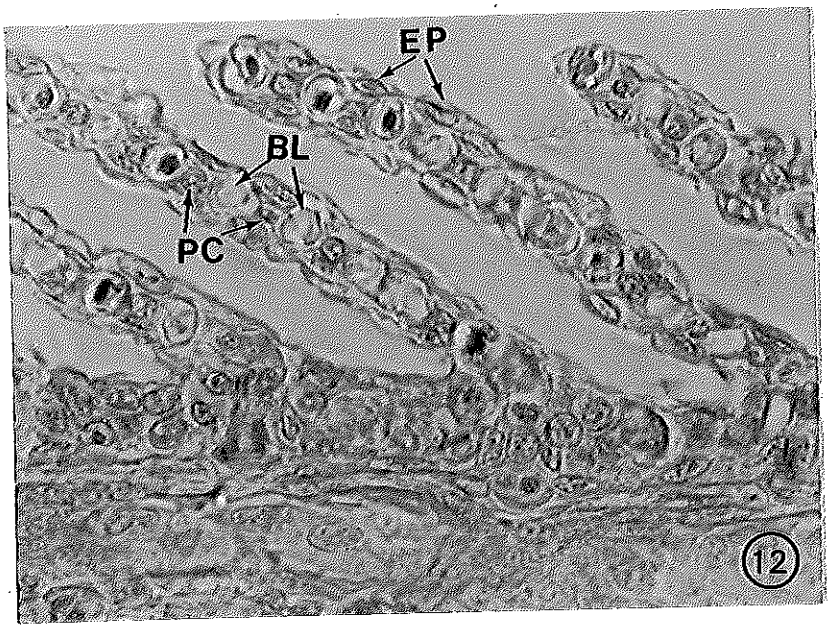
ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของตับปรากฏผลดังนี้ ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) ลักษณะของเซลล์โดยทั่วไปส่วนของขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน (รูปที่19) และพบว่ามีช่องว่างภายในเซลล์จำนวนมากทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ (รูปที่ 20) ซึ่งลักษณะดังกล่าวพบได้ในปลาที่รับอาหารสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) แต่ไม่พบช่องว่างภายในเซลล์ (ดังแสดงในรูปที่ 22) ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) พบว่ามีช่องว่างภายในเซลล์จำนวนมาก ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน (ดังแสดงในรูปที่ 21) แต่ความรุนแรงน้อยกว่าปลาที่รับอาหารสูตรที่ 5 สำหรับปลาที่รับอาหารสูตรที่ 2 (เสริมวิตามินครบถ้วน) ชุดการทดลองที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) และชุดการทดลองที่ 6 (ขาดวิตามินซี) ลักษณะของเนื้อเยื่อตับยังคงปกติ (ดังแสดงในรูปที่ 18)

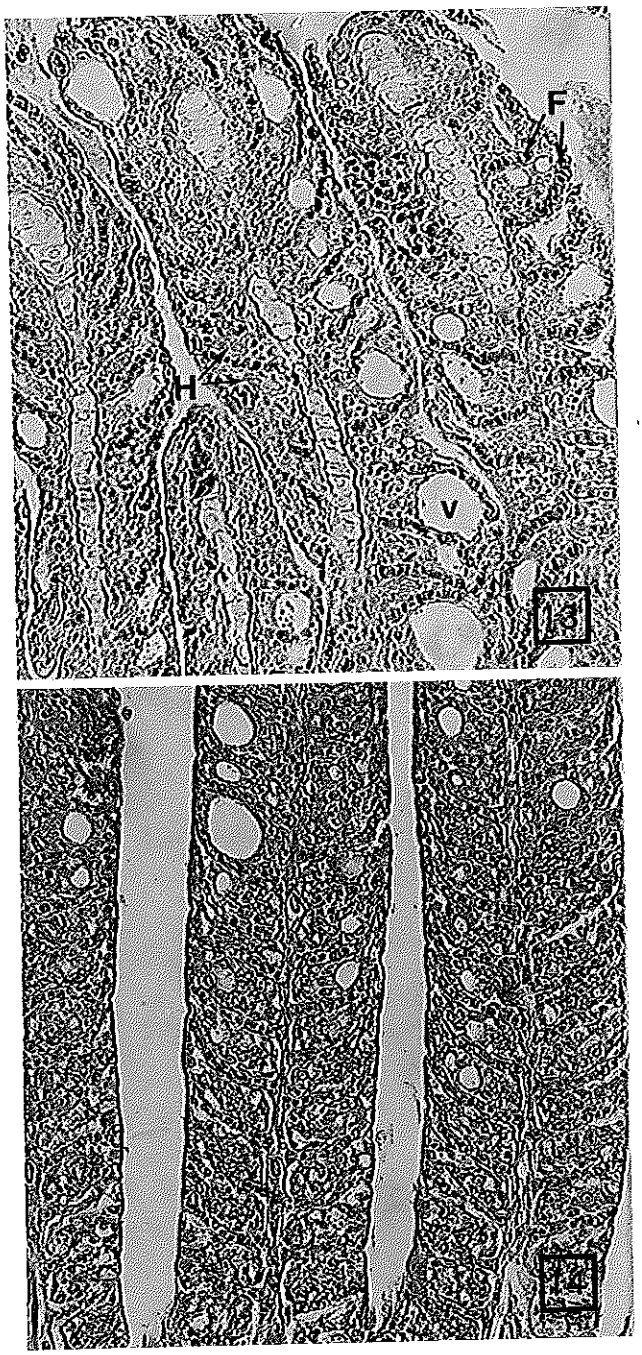
3.1.7.3 ไต

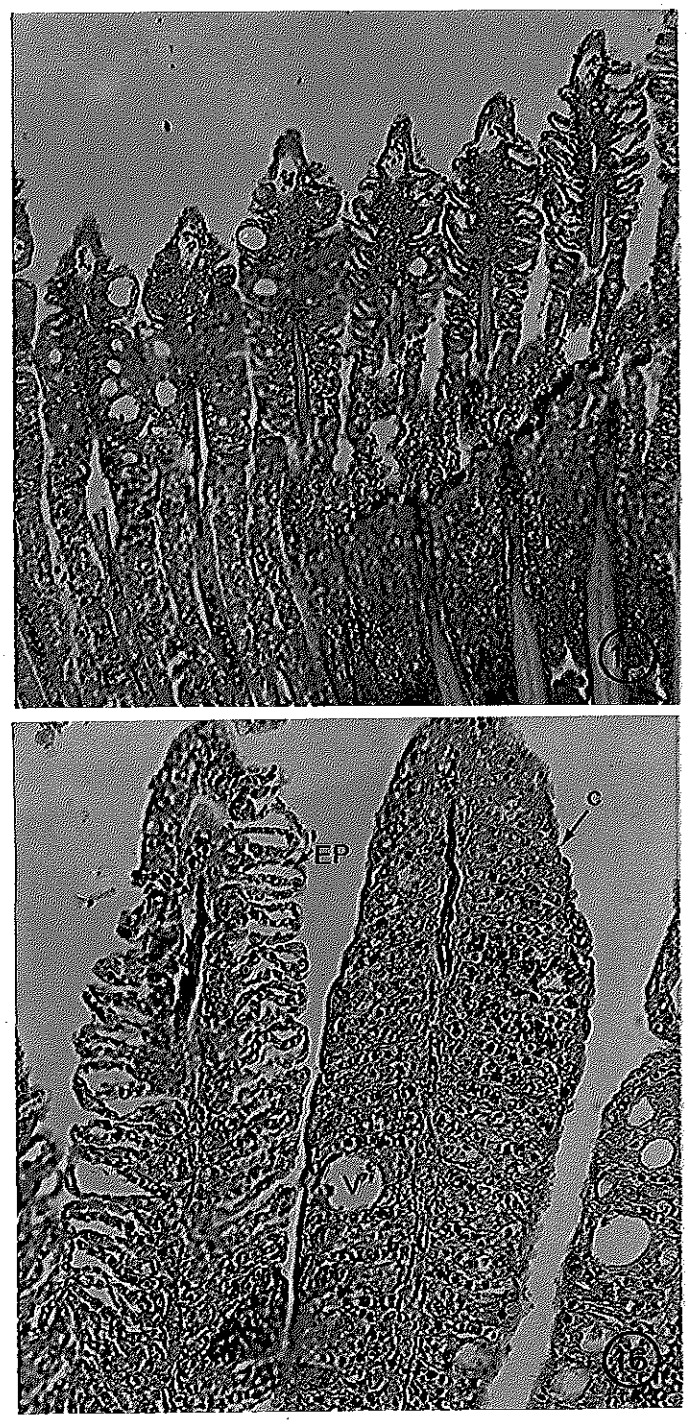
ไตเป็นอวัยวะที่ประกอบด้วยท่อจำนวนมากที่ห่อหุ้มเป็นแคปซูลเนื้อไตประกอบด้วยหน่วยไต (nephrons) จำนวนมากมายและท่อน้ำเหลือง (interstitial lymphoid tissue) ในหน่วยไตจะแบ่งเป็นส่วน ๆ ในปลากดเหลืองพบว่า ส่วนของหน่วยไต ประกอบด้วย ส่วนรีนอลคอร์ปัสเซิล (renal corpuscle) และรีนอลทิวบูล (renal tuble) ซึ่งทั้งสองส่วนนี้จะประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่แตกต่างกันออกไปนั่นคือ รีนอลคอร์ปัสเซิล เป็นส่วนของกลุ่มเซลล์หรือกระจุกของโกลเมอร์รูลัส (glomerulus) ซึ่งเป็นเส้นเลือดฝอยที่ห่อหุ้มด้วยบาวแมนแคปซูล (Bowman's capsule) มีลักษณะคล้ายถ้วยที่มีผนัง 2 ชั้น มีช่องที่อยู่ระหว่าง 2 ชั้นนี้เป็นหลอดไตที่ต่อออกมาจากบาวแมนแคปซูลและจะมีหลอดเลือดเข้าและออกจากโกลเมอรูลัส ในส่วนของรีนอลทิวบูลเป็นส่วนของไตที่ประกอบด้วยท่อไตฝอยต่าง ๆ ที่เป็นท่อตรงและมองเห็นนิวเคลียสค่อนข้างใหญ่และกลม อยู่บริเวณฐานของเซลล์

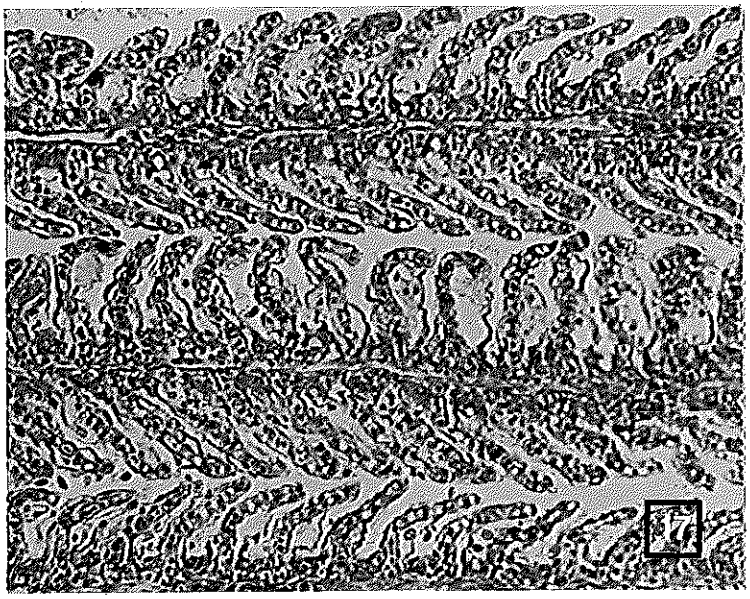
ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตปรากฏว่าปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 2 (วิตามินครบถ้วน) สูตรที่ 3 (ขาดวิตามินไทอะมีน) สูตรที่ 4 (ขาดวิตามินไรโบฟลาวิน) และสูตรที่ 6 (ขาดวิตามินซี) ไม่พบลักษณะทางพยาธิสภาพแต่อย่างใด (รูปที่ 23) สำหรับปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ขาดวิตามินทุกชนิด) และสูตรที่ 5 (ขาดวิตามินแพนโตเทนิก) ได้แสดงลักษณะทางพยาธิสภาพอย่างชัดเจน (รูปที่ 24) โดยพบว่าส่วนของเซลล์เยื่อบุผิวของท่อไตเสื่อมสภาพโดยเยื่อบุผิวฉีกขาด ทำให้เกิดเป็นช่องว่างขึ้น ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน ลักษณะพยาธิสภาพดังกล่าวพบในไตของปลากดเหลืองที่รับอาหารขาดวิตามินทุกชนิด (สูตรที่ 1) และในปลากดเหลืองที่รับอาหารขาดวิตามินแพนโตเทนิก (สูตรที่ 5) เหมือนกัน แต่ไม่พบในปลาจากชุดการทดลองอื่น

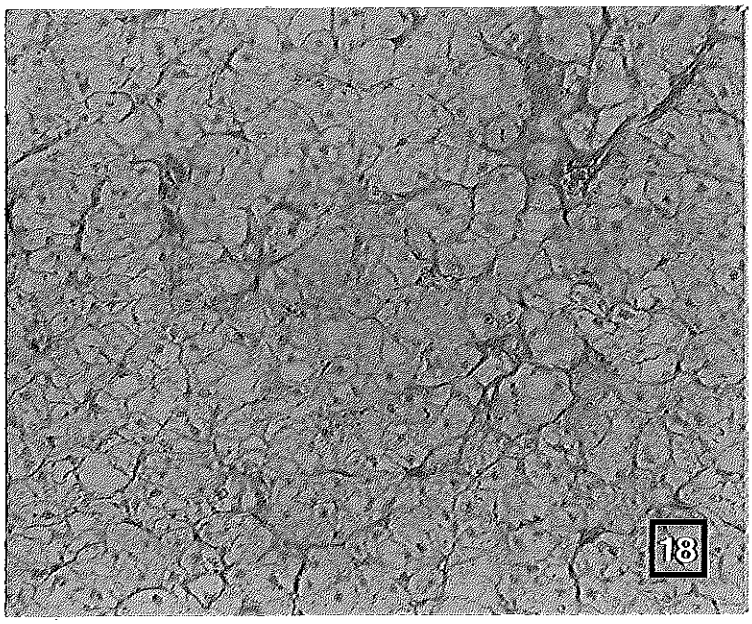

SL
PL
11

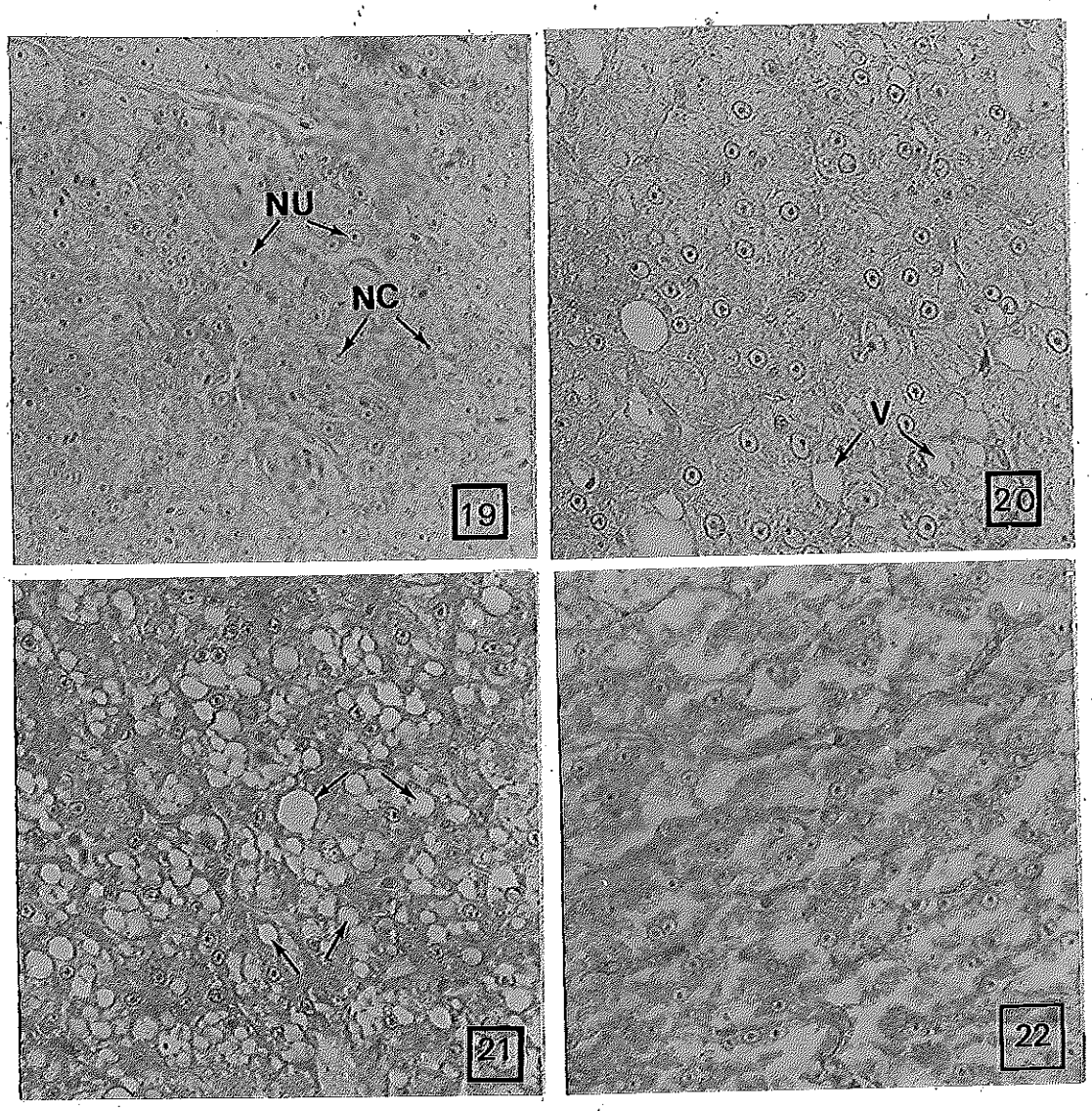

EP
BL
PC
12


F
H
V
13
14


EP
C
V
15

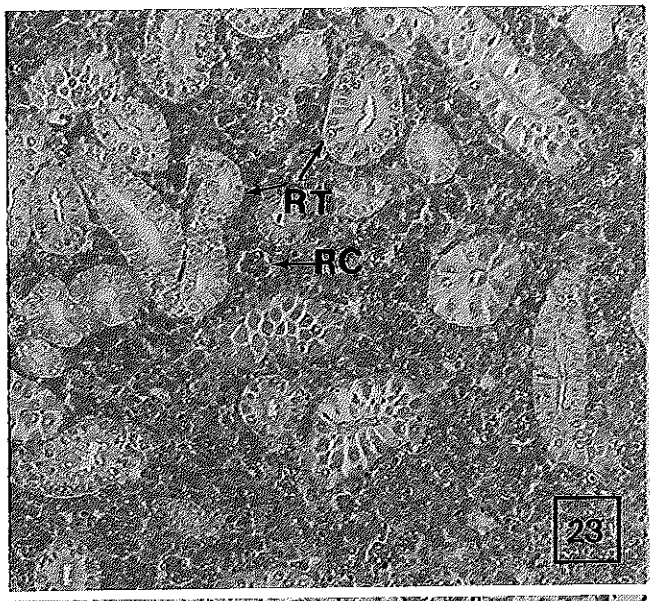

17

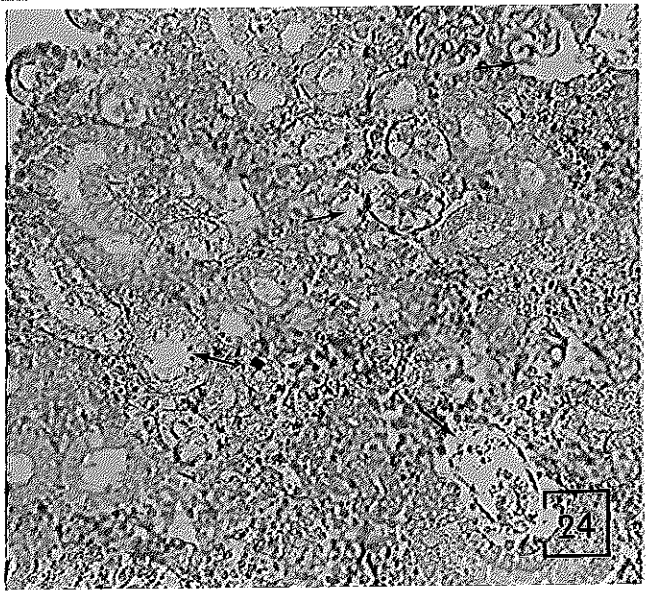

18


NU
NC
19
V
20
21
22

รูปที่ 23 ภาพแสดงลักษณะปกติของเซลล์ท่อไตปลากดเหลือง ที่รับอาหารทดสอบเสริมวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 2 การทดลองที่ 1) ซึ่งประกอบด้วย renal corpuscle (RC) และ renal tubule (RT) (H & E ×400)

รูปที่ 24 ภาพแสดงลักษณะเซลล์ท่อไตปลากดเหลือง ที่รับอาหารทดสอบขาดวิตามินแพนโตเทนิค (สูตรที่ 5 การทดลองที่ 1) แสดงให้เห็นสภาพของเซลล์ท่อไตที่เสียสภาพอย่างรุนแรง และขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน (ศรชี้) (H & E ×400)


RT
RC
23


24

3.2 ผลการทดลองตอนที่ 2 : ผลของวิตามินแพนโตเทนิกระดับต่าง ๆ ต่อปลากดเหลือง

ภายหลังการทดลองเลี้ยงปลากดเหลือง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ด้วยอาหารที่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก 6 ระดับ คือ 0, 30, 50, 100, 150 และ 200 มก./อาหาร 1 กก. ปรากฏผลการทดลองดังนี้

3.2.1 ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลากดเหลือง

หลังจากเริ่มเลี้ยงปลากดเหลืองด้วยอาหารทดสอบทั้ง 6 สูตร ปรากฏว่าปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 1 (ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก) เริ่มแสดงอาการผิดปกติในวันที่ 11 ของการทดลอง โดยมีลักษณะอาการเหมือนกับปลาที่ได้รับอาหารทดสอบไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิกในการทดลองตอนที่ 1 ทุกประการได้แก่ ปลาเริ่มมีสีลำตัวคล้ำ การกินอาหารลดลง เมื่อเวลาเลี้ยงผ่านไป 23 วัน การกินอาหารของปลาลดลงมาก และปลาเริ่มตาย โดยอาการก่อนตายปลาจะลอยหัวบริเวณผิวน้ำและตายหลังจากระยะนี้ไปเรื่อย ๆ (รูปที่ 26) ในสัปดาห์ที่ 3 ของการทดลอง พบว่าปลาหลายตัวที่รับอาหารสูตรที่ 1 จะมีอาการเหงือกบวม และแผ่นปิดเหงือกเปิดอ้า ซี่เหงือกมีสีดำ ครีบหลังและครีบหางกร่อนมาก และปลาเริ่มสูญเสียการทรงตัวในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง ในสัปดาห์ที่ 5 พบว่าบริเวณท้องและโคนครีบก้นมีตกเลือด หนวดและครีบทุกครีบกร่อน ปลาผอมมาก และพบว่าปลาบางตัวมีนัยตาโปน

สำหรับปลากดเหลืองในชุดการทดลองที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ซึ่งรับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกที่ระดับ 30, 50, 100, 150 และ 200 มก./กก. ตามลำดับ ปรากฏว่าลักษณะอาการและพฤติกรรมโดยทั่วไปเป็นปกติเช่นเดียวกับผลการทดลองในปลากดเหลืองที่รับอาหารเสริมวิตามิน (อาหารสูตรที่ 2 ของการทดลองตอนที่ 1)

3.2.2 การเจริญเติบโตของปลากดเหลือง

ภายหลังการทดลองเลี้ยงปลากดเหลือง 8 สัปดาห์ด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ 6 สูตร ปรากฏผลการทดลองดังนี้

3.2.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาทุกสองสัปดาห์

การเจริญเติบโตของปลากดเหลืองที่ทดลองเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ 6 สูตรในทุก ๆ สองสัปดาห์แสดงไว้ในรูปที่ 25 เมื่อเริ่มการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลา

กดเหลืองแต่ละชุดของการทดลอง 1.65 กรัม น้ำหนักของปลาเริ่มมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองโดยพบว่า สามารถแบ่งกลุ่มน้ำหนักเฉลี่ยของปลาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งไม่ได้เสริมวิตามินแพนโตเทนิก โดยน้ำหนักเฉลี่ยของปลากลุ่มนี้ เท่ากับ 3.07 กรัมต่อตัว และกลุ่มที่สองคือปลาที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกสูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 6 ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 3.92-4.48 กรัมต่อตัว ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และน้ำหนักเฉลี่ยของปลาทั้งสองกลุ่มนี้ยังคงแตกต่างกันไปจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 โดยพบว่า ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 3.27 กรัม ปลาในกลุ่มที่สองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 9.51-10.51 กรัม (รูปที่ 25 และตารางที่ 3.5)

3.2.2.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก) มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวต่ำที่สุด คือ 98.02 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกทั้ง 5 ระดับ (สูตรที่ 2, 3, 4, 5 และ 6) มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 475.63 - 514.10 เปอร์เซนต์ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 3.5)

3.2.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อปลา

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกทั้ง 5 ระดับมีค่าใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 1.25 - 1.34 (ตารางที่ 3.5) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 (ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก) มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงสุดคือ 2.84 และพบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกสูตรอื่นๆ ทุกสูตร ($P<0.05$) (ตารางที่ 3.5)

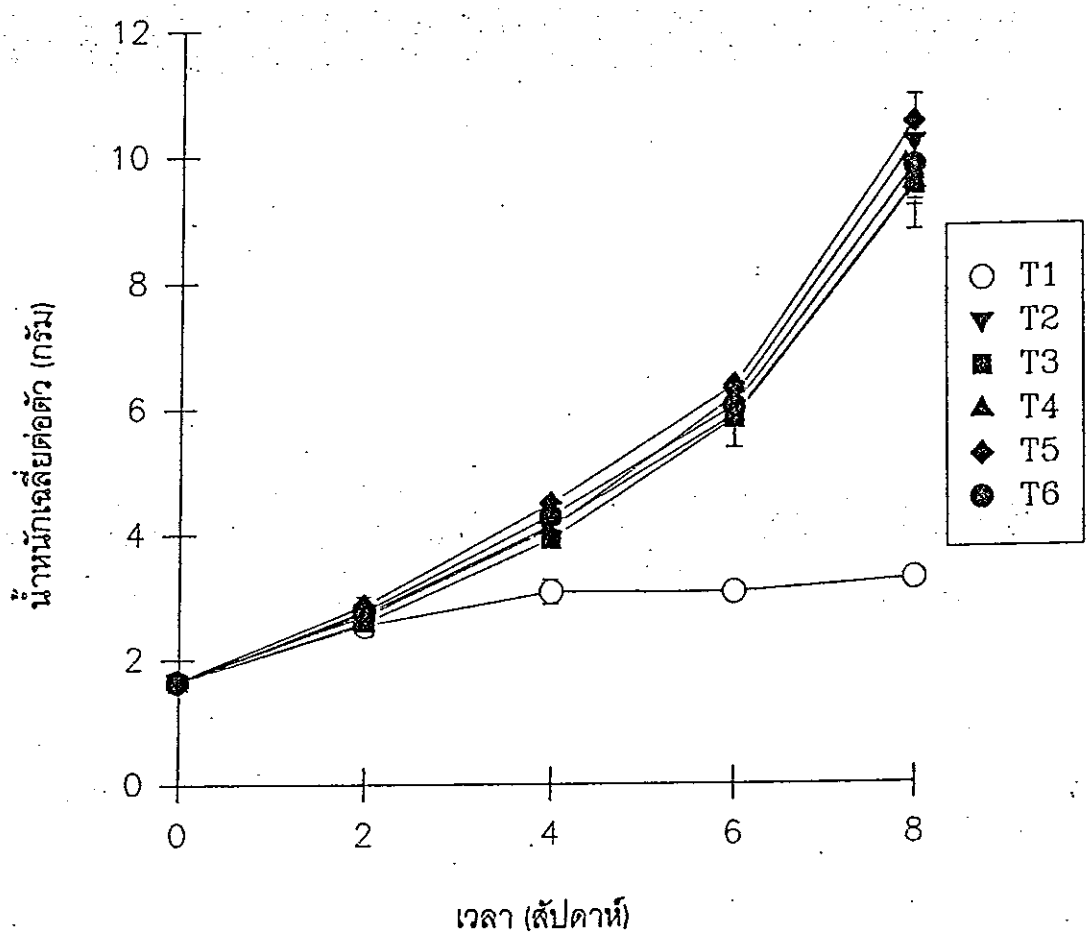
3.2.4 อัตราการรอดตาย

อัตราการรอดตายของปลา ในกลุ่มที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิก ตั้งแต่ระดับ 30 มก./กก. อัตราการรอดตายของปลาทุก 2 สัปดาห์ แสดงไว้ในรูปที่ 26 และตารางที่ 3.5 โดยพบว่าอัตราการรอดตายเริ่มลดต่ำลง หลังจากสัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ปรากฏว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิกมี

อัตราการรอดตายเท่ากับ 46.47 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ปลาที่ไม่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโต-เทนิกสูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 6 มีอัตราการรอดตายอยู่ในช่วง 96.66 - 100 เปอร์เซนต์ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปลาทั้ง 2 กลุ่มนี้ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3.5)

3.2.5 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของปลา

ข้อมูลการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 3.6 ปรากฏว่า ปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก มีปริมาณไขมันในเนื้อปลาต่ำที่สุด (17.72 เปอร์เซนต์) เมื่อเทียบกับปลาที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกทั้ง 5 สูตร ขณะที่ปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 23.05 -24.68 เปอร์เซนต์ ในปริมาณเถ้าของปลาที่รับอาหารสูตรที่ 1 จะสูงกว่าปลาที่รับอาหารสูตรอื่น ๆ กล่าวคือ มีเถ้า 17.05 เปอร์เซนต์ ในขณะที่สูตรอื่น ๆ มีเถ้าอยู่ในช่วง 10.03 - 11.77 เปอร์เซนต์ สำหรับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีน และความชื้น ปรากฏว่ามีแนวโน้มใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง (ดังตารางที่ 3.6)



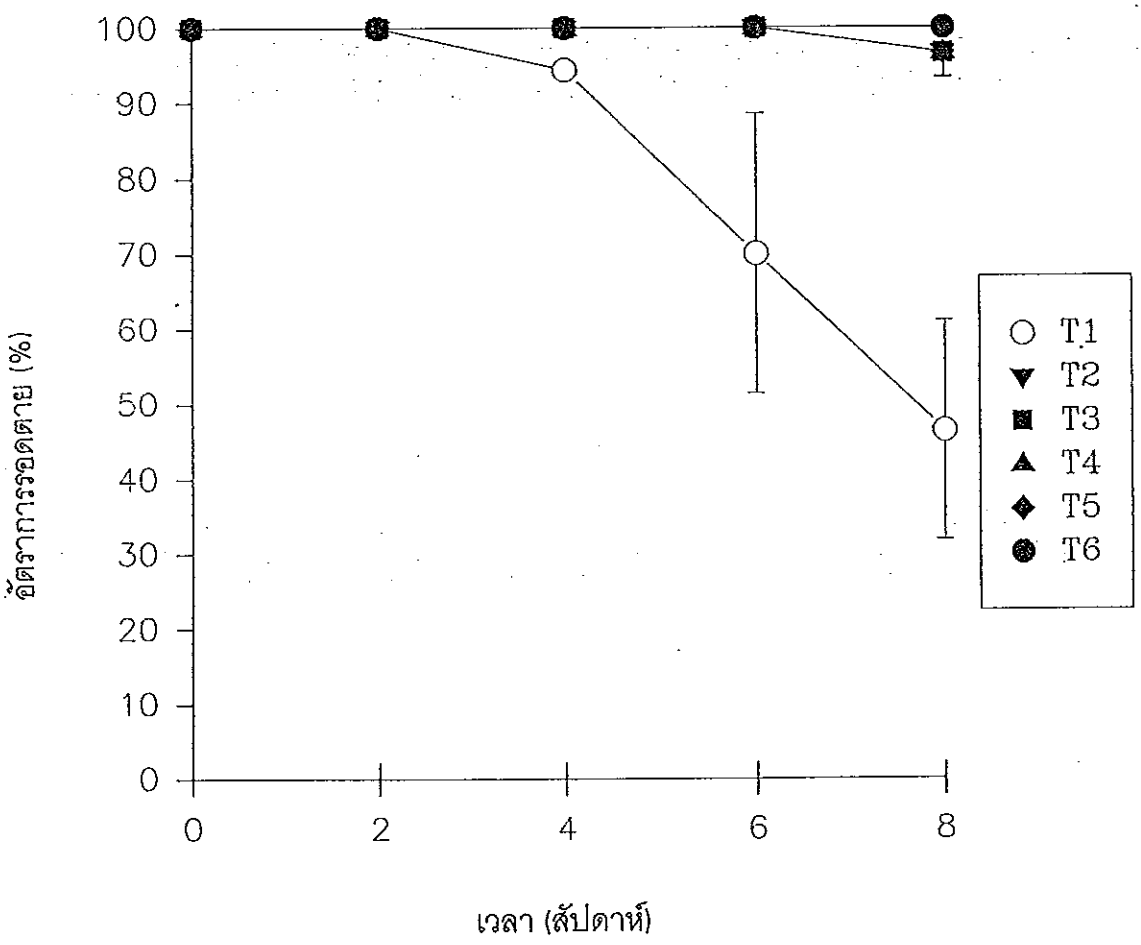
รูปที่ 25 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินแพนโตเทนิกแตกต่างกัน 6 ระดับ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

ตารางที่ 3.5 แสดงน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดตายของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก แตกต่างกัน 6 ระดับ ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

สูตรอาหารที่	ปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก (มก./กก.)	น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)		น้ำหนักปลาที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (%) (weight gain)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)	อัตราการรอดตาย (%)
		เริ่มต้น	สุดท้าย			
1 (T_1)	0.00	1.65 ± 0.01^{a}	3.27 ± 0.11^{a}	98.02 ± 7.88^{a}	2.84 ± 0.54^{a}	46.47 ± 14.58^{a}
2 (T_2)	30.00	1.66 ± 0.01^{a}	10.19 ± 0.75^{b}	514.10 ± 46.21^{b}	1.30 ± 0.08^{b}	96.66 ± 3.34^{b}
3 (T_3)	50.00	1.64 ± 0.01^{a}	9.51 ± 0.33^{b}	478.95 ± 21.52^{b}	1.34 ± 0.06^{b}	96.66 ± 3.34^{b}
4 (T_4)	100.00	1.66 ± 0.01^{a}	9.55 ± 0.75^{b}	475.63 ± 47.33^{b}	1.33 ± 0.12^{b}	96.66 ± 3.34^{b}
5 (T_5)	150.00	1.66 ± 0.01^{a}	10.51 ± 0.15^{b}	534.60 ± 7.22^{b}	1.25 ± 0.01^{b}	96.66 ± 3.34^{b}
6 (T_6)	200.00	1.64 ± 0.01^{a}	9.82 ± 0.55^{b}	497.34 ± 32.45^{b}	1.27 ± 0.08^{b}	100.00 ± 0.00^{b}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)



รูปที่ 26 กราฟแสดงอัตราการรอดตายของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก แตกต่างกัน 6 ระดับ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

ตารางที่ 3.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของปลากดเหลืองทั้งตัว ที่ได้รับอาหารทดสอบเสริมวิตามินแพนโตเทนิก ต่างกัน 6 ระดับ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

สูตรอาหารที่	ปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก (มก./กก.)	องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลือง (%)			
		ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
1 (T_1)	0.00	2.20	59.22	17.72	17.05
2 (T_2)	30.00	3.12	60.13	23.27	11.77
3 (T_3)	50.00	2.13	56.60	23.99	10.98
4 (T_4)	100.00	1.46	60.53	23.12	11.64
5 (T_5)	150.00	1.60	64.94	24.68	10.03
6 (T_6)	200.00	1.71	58.82	23.05	11.75

3.2.6 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

3.2.6.1 เหงือก

ปลากดเหลืองที่รับอาหารไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก (สูตรที่ 1) พบว่า ลักษณะของเหงือกผิดรูปและเสียสภาพอย่างรุนแรง มีลักษณะรูปกระบอง อันเป็นผลจากการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์เหงือก (รูปที่ 28)

ปลากดเหลืองที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกที่ระดับ 30 มก./กก. พบว่าส่วนของแขนงซี่เหงือก มีการยกตัวของเซลล์บุผิวออกจากกัน (รูปที่ 29)

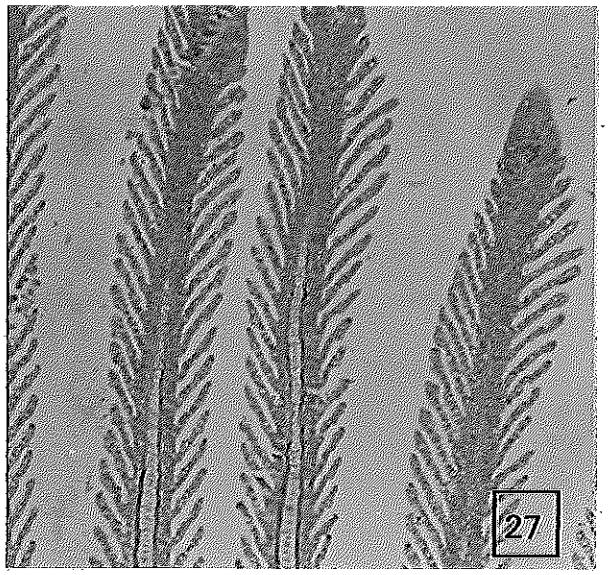
สำหรับปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 3 ถึงสูตรที่ 6 ซึ่งเสริมวิตามินแพนโตเทนิกที่ระดับ 50 ถึง 200 มก./กก. ตามลำดับนั้น พบว่า เนื้อเยื่อของเหงือกปลายังคงปกติ (รูปที่ 27)

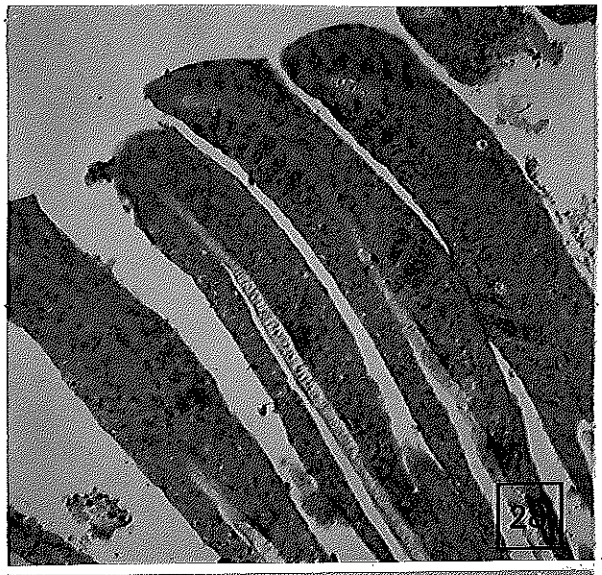
3.2.6.2 ตับ

ปลากดเหลืองที่รับอาหารซึ่งไม่ได้เสริมวิตามินแพนโตเทนิก ตรวจพบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ ดังนี้ มองเห็นขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน เกิดช่องว่างภายในเซลล์ขนาดใหญ่และเล็กจำนวนมาก (รูปที่ 30) สำหรับปลากดเหลืองที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิกที่ระดับ 30 มก./กก. (สูตรที่ 2) ก็พบช่องว่างภายในตับจำนวนมาก (รูปที่ 31) ส่วนปลากดเหลืองที่รับอาหารสูตรที่ 3 ถึงสูตรที่ 6 ซึ่งเสริมวิตามินแพนโตเทนิกที่ระดับ 50 ถึง 200 มก./กก พบว่าเนื้อเยื่อของตับยังคงปกติ

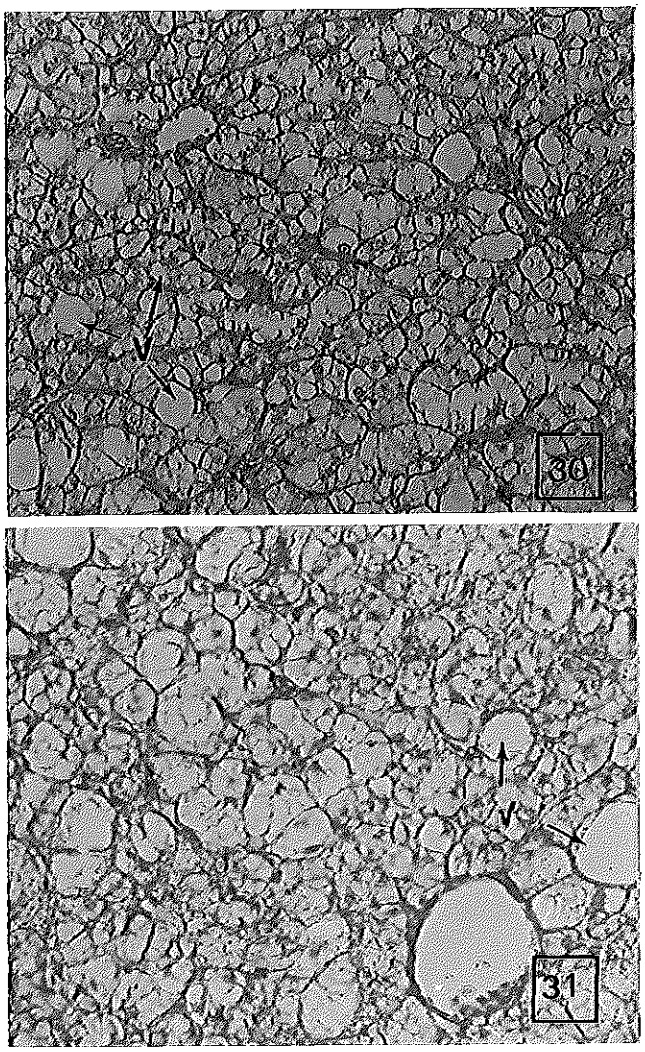
3.2.6.3 ไต

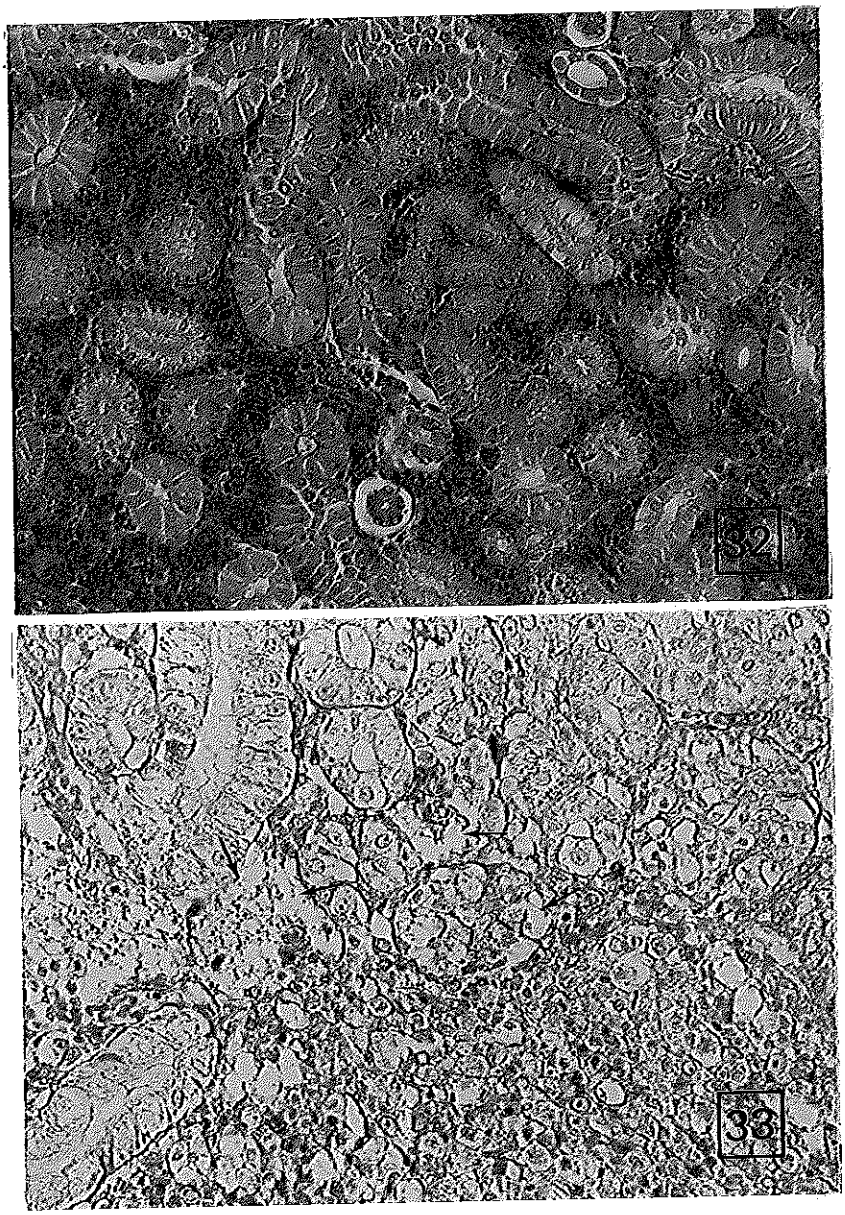
ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตปลากดเหลือง ที่รับอาหารแต่ละสูตร ปรากฏว่า ปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบ สูตรที่ 2 ถึงสูตรที่ 6 (เสริมวิตามินแพนโตเทนิก 30 ถึง 200 มก./กก.) ไม่พบลักษณะทางพยาธิสภาพแต่อย่างใด (รูปที่ 32) ในขณะที่ปลากดเหลืองที่รับอาหารทดสอบสูตรที่ 1 (ไม่ได้เสริมวิตามินแพนโตเทนิก) แสดงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตอย่างชัดเจน โดยพบว่าเซลล์เยื่อบุผิวของท่อไตเสื่อมสภาพ โดยเยื่อบุผิวฉีกขาดทำให้เกิดเป็นช่องว่างขึ้น และมองเห็นขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน (รูปที่ 33)


27


28

29


30
31


S2
33

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 วิจารณ์ผลการทดลอง ตอนที่ 1

จากการศึกษาในปลาหลายชนิดยืนยันว่า วิตามินมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ อัตราการรอดตาย ความแข็งแรงและความต้านทานโรค ตลอดจนมีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีภายในร่างกายของปลา (Halver,1989; Lovell,1989; Lim, *et al.*, 1993; Fisher, *et al.*,1994) ในปลาที่ได้รับอาหารไม่ผสมวิตามินหรือได้รับวิตามินไม่เพียงพอ ปลาจะแสดงอาการขาดวิตามินออกมาให้เห็น ซึ่งสังเกตเห็นได้จากความผิดปกติของลักษณะภายนอกได้แก่ การตกเลือดบริเวณโคนครีบ หรือระยางค์ต่าง ๆ สีกกร่อน สีผิวลำตัวคล้ำขึ้น (Boonyaratpalin and Wanakowat, 1993) ลำตัวคดงอ แผ่นปิดเหงือกผิดรูป (Phromkunthong, *et al.*, 1993b) ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ โลหิตวิทยา และองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา (Phromkunthong, *et al.*, 1987, 1993a; Supamattaya and Phromkunthong, 1988) การศึกษาผลของวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลืองในครั้งนี้เป็นการยืนยันว่า วิตามินมีความสำคัญและจำเป็นสำหรับปลาชนิดนี้ ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Kosutarak (1983a, 1983b) และ Phromkunthong (1994) ซึ่งทดลองในปลากะพงขาว และ Suhenda and Djajadiredja (1985) ทดลองในปลาไน โดยปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินทุกชนิดส่งผลให้การเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ อัตราการรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาผิดปกติ อธิบายได้ว่าวิตามินหลายชนิดทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับเมแทโบลิซึมของเอนไซม์ และทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในกระบวนการดังกล่าว การที่ปลากดเหลืองขาดวิตามินชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดพร้อม ๆ กันจึงส่งผลต่อความผิดปกติของกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย โดยสอดคล้องกับการทดลองของ Poston and Page (1982), Phromkunthong, *et al.* (1987) กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ (2530) นอกจากนี้วิตามินยังมีส่วนสำคัญในการรักษาสภาพของเนื้อเยื่อของปลาให้เป็นปกติ สอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong (1995)

จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าวิตามินละลายน้ำที่ส่งผลอย่างชัดเจนต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบอื่นๆ ของปลาเช่นเดียวกับการขาดวิตามินทุกชนิดคือวิตามินแพนโตเทนิก โดยจะแสดงผลออกมาอย่างรวดเร็วมากกว่าปลาที่ขาดวิตามินละลายน้ำชนิด

อื่น ซึ่งผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับการทดลองในปลากะพงขาวของ Boonyaratpalin and Wanakowat (1993) อันเนื่องมาจากวิตามินแพนโตเทนิก เป็นองค์ประกอบสำคัญของโคเอนไซม์เอ ที่มีส่วนสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมี ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานจากคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน (Stryer, 1989) เมื่อขาดวิตามินแพนโตเทนิก ทำให้กระบวนการดังกล่าวต้องชะงักลง ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาลดลงอย่างรวดเร็ว (Halver, 1989; Soliman and Wilson, 1992) และยังส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาด้วย (Tacon, 1991) ความผิดปกติที่เด่นชัดที่ปรากฏผลทางเนื้อเยื่อคือ การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือก ปรากฏการณ์นี้มีรายงานในปลาชนิดอื่นที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก ได้แก่ ในปลาเทราท์ (Karges and Woodward, 1984) ปลาแซลมอน (Halver, 1989) ปลาแมกซิกัน-ซิคไลด์ (Chavez de Martinez, *et al.*, 1990) และในปลาหมอเทศ (Soliman and Wilson, 1992) สาเหตุการตายของปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก อาจเนื่องมาจากปลาไม่กินอาหารหรือกินอาหารน้อยลง ทำให้เมแทโบลิซึมของไขมันและคาร์โบไฮเดรตไม่สามารถเกิดขึ้นได้ และการเบื่ออาหารของปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิกทำให้ปลาขาดสารอาหารชนิดอื่นไปด้วย อีกทั้งความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก ทำให้ปลาไม่สามารถรับออกซิเจนจากน้ำได้เต็มที่ สาเหตุดังกล่าวทำให้ปลาตายในเวลาอันรวดเร็ว ในกรณีเยื่อบุท่อไตของปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก เสื่อมสภาพลงนั้น แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของวิตามินแพนโตเทนิก ในการรักษาและคงสภาพของเซลล์ให้ปกติ ซึ่งพบว่าเคยมีรายงานเช่นเดียวกับในปลากะพงขาวที่ขาดวิตามินซี (Phromkunthong, 1995) สำหรับการที่เซลล์ตับของปลาที่ขาดวิตามินชนิดนี้แสดงความผิดปกตินั้น สอดคล้องกับการทดลองของ Chavez de Martinez, *et al.* (1990) นอกจากนี้ค่าองค์ประกอบเลือดของปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก มีแนวโน้มต่ำกว่าปลาที่รับวิตามิน สอดคล้องกับการทดลองของ Murai and Andrews (1979) และ Soliman and Wilson (1992) การทดลองนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Ikeda, *et al.* (1988) ซึ่งทดลองในปลานกแก้วญี่ปุ่น (*Oplegnathus faciatus*) โดยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ค่าวัตถุแห้ง (dry matter) เถ้า โปรตีน และไขมัน ของปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินแพนโตเทนิก มีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับวิตามินชนิดนี้ แต่ปริมาณเถ้าของปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก มีค่าสูงกว่า อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ทดลองต่างกัน

ในปลาที่ขาดวิตามินซีพบความผิดปกติของการเจริญเติบโตโดยปรากฏชัดเจนในสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง และรุนแรงขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 ซึ่งสอดคล้องกับหลายการทดลองที่ผ่านมา เช่นในปลาแซลมอน (Sandnes, *et al.*,1984; Navarre and Halver, 1989; Darbrowski, *et al.*, 1990; Cho and Coway, 1991) ปลากดอเมริกัน (Lovell and Lim, 1978; Li and Lovell, 1985; Lovell and Naggar,1989a, 1989b; Wilson and Poe, 1973) ในปลานิล (Soliman, *et al.*, 1986a, 1986b) ปลาดุก (Butthep, *et al.*, 1985) ปลาอินเดียเมเจอร์คาร์พ (Agrawal and Mahajan, 1980) และปลาเทอร์บ็อต (Gouillou, *et al.*, 1991) จากหลายการทดลองที่ผ่านมาพบว่า ลักษณะเด่นประการหนึ่งของการขาดวิตามินซีในปลา คือ การคดงอของลำตัว (Halver, 1989; Lovell, 1989) อันเนื่องมาจากเกิดความผิดปกติขึ้นในกระบวนการเปลี่ยนโปรคอลลาเจนให้เป็นโปรตีนคอลลาเจน (Padh, 1990) ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบลักษณะผิดปกติของลำตัวแต่อย่างใด ซึ่งสัณนิษฐานว่าระยะเวลาของการขาดวิตามินซีอาจจะสั้นเกินไป อย่างไรก็ตามพบว่าหนวดของปลากดเหลืองหักงอและกร่อนไปเป็นจำนวนมาก องค์ประกอบเลือดได้แก่ ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบิน ของปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินซีมีแนวโน้มลดต่ำลง เช่นเดียวกับที่มีการศึกษาในปลากะพงขาว โดยกิจการ ศุภมาตย์ และคณะ (2530) ซึ่งพบว่าปลาที่ขาดวิตามินซี มีผลทำให้ค่าองค์ประกอบเลือดต่าง ๆ เช่นค่าฮีมาโต-คริต ฮีโมโกลบิน จำนวนและขนาดของเม็ดเลือดแดงลดต่ำลง Verlhac and Gabaudan (1994) ก็พบว่าปลานิล ที่ขาดวิตามินซีในอาหาร ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินก็ลดลงด้วยเช่นเดียวกัน สำหรับผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อของเหงือกปลากดเหลืองในครั้งนี้พบว่ามีความผิดปกติที่แขนงซี่เหงือก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong (1995) ในปลากะพงขาวที่ขาดวิตามินซี

ในกรณีของวิตามินไรโบฟลาวินนั้น จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าส่งผลต่อการเจริญเติบโตและต่อพฤติกรรมการหนีแสง ซึ่งเป็นลักษณะที่เด่นชัดในปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินชนิดนี้ ซึ่ง Halver (1989) ได้อธิบายถึงสาเหตุของการหนีแสงว่าอาจเป็นผลมาจากเลนส์ตาผิดปกติ อันเนื่องมาจากกระบวนการเมแทโบลิซึมของโปรตีนหรือกรดอะมิโนบางชนิดบกพร่อง (ตัวอย่างเช่น ทริปโตเฟน) ทำให้การมองเห็นของปลาผิดปกติไปด้วย ซึ่งส่งผลถึงการกินอาหารที่ลดลงและตายในที่สุด และจากการศึกษาในครั้งนี้ยังตรวจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับโดยปรากฏเป็นช่องว่างภายในเซลล์ตับจำนวนมาก สำหรับบทบาทของ

วิตามินไรโบฟลาวิน ได้มีผู้ทำการศึกษาไว้ในปลาหลายชนิดด้วยกัน อาทิเช่น ในปลากดอเมริกัน (Dupree, 1966; Murai and Andrews, 1978; Surrini, *et al.*,1996) ปลาไน (Ogino, 1967) ปลาหมอเทศ (Soliman and Wilson, 1972) ปลาเรนโบว์เทราท์ (Amezaga and Knox, 1990) และในปลากะพงขาว (Boonyaratpalin and Wanakowat, 1993) โดยยืนยันได้ว่าวิตามินไรโบฟลาวินมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของปลาเหล่านี้

ในปลาที่ขาดวิตามินไทอะมีน ลักษณะอาการและพฤติกรรมโดยรวมยังคงปกติ ไม่แสดงอาการทางประสาทให้เห็นแต่อย่างใด ในขณะที่ Lovell (1989) รายงานไว้ว่า การขาดไทอะมีนมีผลต่อระบบประสาทของปลา นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยที่ส่งผลให้มีอาการตื่นตกใจง่ายเมื่อถูกรบกวน สูญเสียการทรงตัว ว่ายน้ำควงสว่าน ลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลาที่ขาดไทอะมีน จะปรากฏเมื่อขาดวิตามินไทอะมีนหลาย ๆ สัปดาห์ติดต่อกัน เช่น ในปลากดอเมริกันเริ่มแสดงอาการเมื่อขาดไทอะมีน 6 - 8 สัปดาห์ ปลาไน 8 สัปดาห์ ปลาไหลญี่ปุ่น 10 สัปดาห์ (Halver, 1989) และปลากะพงขาวใช้เวลาประมาณ 8 สัปดาห์ (Boonyaratpalin and Wannakowat (1993) โดยเป็นไปได้ว่าระยะเวลาการทดลองเพียง 10 สัปดาห์ อาจสั้นเกินไปที่จะทำให้ปลากดเหลืองแสดงอาการขาดวิตามินชนิดนี้

4.2 วิจารณ์ผลการทดลอง ตอนที่ 2

ผลการทดลองครั้งนี้ยืนยันผลการทดลองตอนที่ 1 ถึงบทบาทของวิตามินแพนโตเทนิก ที่มีต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย และองค์ประกอบอื่น ๆ ในปลากดเหลือง และการเสริมวิตามินแพนโตเทนิก 50 มก./กก. เพียงพอที่จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีและปลอดจากอาการขาดวิตามินชนิดนี้ ซึ่งเป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่ Halver (1972) แนะนำให้ใช้ในปลาเรนโบว์เทราท์ ซึ่งเป็นปลากินเนื้อเช่นเดียวกับปลากดเหลืองโดยแนะนำให้ใช้ในช่วง 40 - 50 มก./กก. แต่ต่ำกว่าระดับที่ปลาแมกซิกัน-ซิคไลด์ต้องการคือ 80 มก./กก. ตามที่ Chavez de Matinez, *et al.* (1990) แนะนำ ในขณะที่ปลากดอเมริกัน มีความต้องการประมาณ 15 มก./กก. (Wilson, *et al.*, 1983) จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าแม้ว่าการเสริมวิตามินแพนโตเทนิก 30 มก./อาหาร 1 กก. จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดี อัตราการแลกเนื้อและอัตราการรอดตายไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมวิตามินในระดับที่สูงกว่านี้ แต่ก็พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ ทั้งในส่วนของเหงือก และ

ตับ ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่าการเสริมวิตามินแพนโตเทนิก 30 มก./อาหาร 1 กก. ไม่เพียงพอสำหรับปลากดเหลือง ความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกนี้สอดคล้องกับการทดลองตอนที่ 1 และคล้ายกับที่มีรายงานในปลาชนิดอื่น (Poston and Page, 1982; Wilson, *et al.*,1983; Karges and Woodward,1984; Chavez de Martinez, *et al.* 1990) จะมีเพียงการทดลองในปลาทอง (*Carassius auratus* L.) เท่านั้นที่รายงานว่าไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกแต่อย่างใด (Ishii and Yamamoto, 1972)

กรณีที่อัตราการตายของปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิกสูง เป็นผลมาจากปลาได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอเนื่องจากเกิดการแบ่งตัวที่มากผิดปกติของซี่เหงือกและการแยกตัวของเซลล์บุผิวซี่เหงือก ทำให้ความสามารถในการรับออกซิเจนของเหงือกลดลง อีกทั้งปลาไม่กินอาหารทำให้ขาดวิตามินและสารอาหารชนิดอื่น ๆ ไปด้วย ในส่วนของเนื้อเยื่อตับและไต ก็พบว่ามีสภาพความเสียหายอย่างรุนแรงซึ่งสอดคล้องกับที่ Poston and Page (1982) รายงานในปลาเลคเทราท์ (*Salvellinus namaycush*) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าวิตามินแพนโตเทนิกมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค (nucleic acid) และการสร้างพลังงานในกระบวนการเมแทโบลิซึมของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย Murai and Andrews (1979) ได้ชี้ให้เห็นว่าอาการโลหิตจาง ในปลาที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก มีความสัมพันธ์กับอาการเบื่ออาหาร ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ กล่าวคือ ปริมาณอาหารที่ปลากินลดลงอย่างชัดเจนในปลาที่ขาดวิตามิน และยังสอดคล้องกับที่พบในปลานกแก้วญี่ปุ่น (*Oplegnathus faciatus*) ที่ขาดวิตามินแพนโต-เทนิก (Ikeda, *et al.*, 1988) Poston and Page (1982) ได้รายงานไว้ว่าในปลาเรนโบว์เทราท์ที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิก ค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแง่ของวัตถุแห้ง เถ้า โปรตีน และไขมัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน สำหรับการทดลองในปลากดเหลืองครั้งนี้พบว่าค่าดังกล่าวไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจน ยกเว้นปริมาณของเถ้าในตัวปลา มีแนวโน้มสูงกว่าปกติในปลากดเหลืองที่ขาดวิตามินแพนโตเทนิกเท่านั้น แสดงว่าวิตามินชนิดนี้มีความสำคัญในเมแทโบ-ลิซึมของไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (Halver, 1989)

5. สรุปผลการทดลอง

1. มีความจำเป็นที่ต้องเสริมวิตามินผสม (premixes) ลงในอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง

2. วิตามินละลายน้ำจัดเป็นวิตามินที่มีความจำเป็น สำหรับการดำรงชีวิตของปลากดเหลือง โดยพบว่าวิตามินแพนโตเทนิก และวิตามินซีเป็นวิตามินที่จำเป็น (essential vitamin) ที่ต้องเสริมในอาหารของปลากดเหลือง วิตามินไรโบฟลาวินให้ความสำคัญรองลงมา ในขณะที่วิตามินไทอะมีนยังไม่มีความจำเป็นมากนักสำหรับปลากดเหลืองขนาดปลานิ้วภายในระยะเวลาเลี้ยง 2 เดือน

3. พยาธิสภาพของเหงือก ตับ และไต สามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงผลจากการขาดวิตามินของปลาได้เป็นอย่างดี

4. ระดับความต้องการวิตามินแพนโตเทนิก ที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตตามปกติของปลากดเหลืองขนาดปลานิ้ว คือ 50 มก./กก.

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการทดลองความต้องการวิตามิน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง พบว่าวิตามินละลายน้ำที่จำเป็นต่อปลากดเหลือง คือ วิตามินแพนโตเทนิก วิตามินซี และวิตามินไรโบฟลาวิน ในขณะที่วิตามินชนิดอื่น (ไทอะมีน) ถ้าขาดก็เพียงแสดงอาการให้เห็นภายนอกแต่ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลากดเหลืองขนาดปลานิ้วแต่อย่างใด

เนื่องจากการขาดวิตามินแพนโตเทนิก มีผลต่อปลากดเหลืองในแง่การเจริญเติบโต และมีความผิดปกติทางเนื้อเยื่ออย่างรุนแรง จึงได้ทำการศึกษาถึงระดับความต้องการที่เหมาะสม ในงานวิจัยครั้งต่อไปจึงควรที่จะศึกษาถึงระดับความต้องการวิตามินซี และ วิตามินไรโบฟลาวิน ด้วย

2. จากผลการทดลองที่ 2 พบว่าปลาที่รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก 30 มก./กก. ตรวจพบความผิดปกติทางเนื้อเยื่อ ในขณะที่ปลาที่รับอาหารเสริมวิตามินแพนโตเทนิก ที่ระดับ 50 มก./กก. ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อแต่อย่างใดในขั้นนี้ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ที่ระดับที่มากกว่า 30 มก./กก. ปลาอาจจะไม่แสดงความผิดปกติทางเนื้อเยื่อ เพราะฉะนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาต่อไปถึงระดับความต้องการวิตามินแพนโตเทนิก ในช่วง 30-50 มก./กก. ต่อไปเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง และเหมาะแก่การส่งเสริมต่อไปยังเกษตรกร

บรรณานุกรม

กิจการ ศุภมาตย์, วุฒิพร พรหมขุนทอง และวุฒิกรณ์ จิตติวรรณ. 2530. ผลของปริมาณวิตามินละลายน้ำต่อการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อและองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch). วารสารสงขลานครินทร์ วทท., 9(2) : 209-214

ประเสริฐ สีตะสิทธิ์, นันทิยา อุ่นประเสริฐ และวิมล จันทรโรทัย. 2527. ความต้องการวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกปลาดุกอุย. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง. 31 หน้า.

มะลิ บุณยรัตผลิน, นันทิยา อุ่นประเสริฐ, ไพรัตน์ กอสุธารักษ์, วิษณุ โศธนะ และศิริมล ชุ่มสูงเนิน. 2531. ผลของระดับวิตามินซีในอาหารต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพอาหาร และอัตราการรอดตายของปลากะพงขาว. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ, กรมประมง. สงขลา. 21 หน้า

มะลิ บุณยรัตผลิน, นันทิยา อุ่นประเสริฐ และจารุรัตน์ วรรณโกวัฒน์. 2533. ระดับวิตามินซีที่เหมาะสมเพื่อเสริมในอาหารเลี้ยงลูกปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)*. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง สงขลา. 18 หน้า

มะลิ บุณยรัตผลิน, จารุรัตน์ วรรณโกวัฒน์ และชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2536. ผลการขาดวิตามิน B_1 B_2 กรดแพนโตเทนิก และอินโนซิทอล ต่อปลากะพงขาววัยรุ่น. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 14 หน้า

มะลิ บุณยรัตผลิน, จารุรัตน์ วรรณาโกวัฒน์ และชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2536. แหล่งวิตามินซีจาก L-ascorbyl-2-phosphate-magnesium ในอาหารปลากะรัง. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ กรมประมง. 14 หน้า

โยธิน ลีลานนท์ และรังสิต แย้มเอิบสิน. 2524. ชีววิทยาของปลากดเหลืองในอ่างเก็บน้ำเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี. รายงานฉบับที่4. งานชีววิทยาปลา ฝ่ายพัฒนาแหล่งน้ำ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง. 33 หน้า

วิสุทธิ์ พัชรพิสุทธิ์สิน. 2530. ผลของวิตามินละลายน้ำต่ออัตราการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch). ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 59 หน้า

Agrawal, N.K. and Mahajan, C.L. 1980. Nutritional deficiency disease in an Indian major carp, *Cirrhina mrigala* Hamilton, due to avitaminosis C during early growth. *J. Fish. Dis.*, 3 : 231-248.

Al-Amoudi, M.M., El-Nakakadi, A.M.M. and El-Nouman, B.M. 1992. Evaluation of optimum dietary of vitamin C for growth of *Oreochromis spilurus* fingerling in water from the Red Sea. *Aquaculture*, 105 : 165-173.

Amezaga, M.R. and Knox, D. 1990. Riboflavin on growing rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 88 : 87-98.

Andrews, J.W. and Murai, T. 1975. Studies on the vitamin C requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, 105 (5) : 557-567

Aoe, H., Masuda, I., Saito, T. and Kono, A. 1969. Water-soluble vitamin requirements of carp. V.I. requirement for thiamine and effect of antithiamines. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35 (5) : 355-360.

Arai, S., Nose, T. and Hashimoto, Y. 1972. Qualitative requirements of young eels (*Anguilla japonica*) for water-soluble vitamins and their deficiency symptoms. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, 22 : 69-83.

Bai, S.C. and Gatlin, D.M. 1992. Dietary rutin has limited synergistic effects on vitamin C nutrition of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish Physiol. Biochem.* 10 (3) : 183-188.

Bancroft, J.D. 1967 Histochemical Techniques. Butterworths, London. 348 p.

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. Routine hematological for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5 : 771-781.

Boonyaratpalin, M. 1993. Nutritional requirements of grouper. In Proceeding of Grouper Culture National Institute of Coastal Aquaculture, Banglkok, Thailand and Japan International Coopreation Agency, Japan, pp. 50-55.

Boonyaratpalin, M. and Wanakowat, J. 1993. Effect of thiamin, riboflavin, pantothenic acid and inositol on growth, feed efficiency and mortality of juvenile seabass. In "Fish Nutrition in Practice, Biarritz, 24-27 June 1991" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet). Institute National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 819-828

Boyd, CE. and Tucker, C.F. 1992. Water quality and pond soil analysis for Aquaculture Alabama Agriculture Experiment Station. Auburn University, Alabama. 183 p.

Brown, M.R. 1995. Effects of storage and processing on the ascorbic acid content of

concentrates prepared from *Chaetoceros calcitrans*. *J. Apply. Phycol.* 7 (5) : 495-500.

Butthep, C., Sitasit, P. and Boonyaratpalin, M. 1985. Water-soluble vitamins essential for the growth of *Clarias*. In Finfish Nutrition in Asia : Methodological Approaches to Research and Development (ed. by C.Y.Cho, C.B. Cowey and T. Watanabe) International Development Research Centre, Ottawa Canada, pp. 118-129.

Chavez de Martinez, M.C., Escobar, B.L. and Olvera-Novoa M.A. 1990. The requirement of *Cichlasoma urophthalmus* (Gunther) fry for pantothenic acid and the pathological signs of deficiency. *Aqua. Fish. Manage.*, 21 (2) : 145-156.

Cho, C.Y. and Cowey, C.B. 1991. Utilization of different levels of ascorbyl monophosphates by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In "Fish Nutrition in Practice Biarritz, 24-27 June 1991" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet). Institute National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 149-156.

Cho, C.Y. and Cowey, C.B. 1993. Utilization of monophosphate esters of ascorbic acid by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In "Fish Nutrition in Practice" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet) Paris France Institut National de la Recherche Agronomique, 16 : 149-156.

Ciereszko, A. and Dabrowski, K. 1995. Sperm quality and ascorbic acid concentration in raibow trout semen are affected by dietary vitamin C : An across-season study. Biol. Reprod., 52 (5) : 982-988.

Coates, C.A. and Halver, J.E. 1985. Water-saluble vitamin requirement of silver salmon. Bureau of Sport Fish and Wildlife. *Spec. Sci. Rep. Fish*, 214.

Collins, B.K., Collier, L.L. and Collin , J.S. 1993. Retinal and lenticular lesions in vitamin-C - deficient juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus* (l.). *J. Fish Dis.*, 16(3) : 229 - 237.

Combs, G.F. 1992. The vitamins fundamental aspects in nutrition and health. Division of Nutritional Sci. Cornell University, Ithaca New York, 528 p.

Cowey, C.B., Andrew, J.W. and Knox, D. 1975. Study on the nutrition of marine flatfish. The thiamine requirement of turbot, *Scophthalmus maximus. Br. J. Nutr.* 34 : 383-390.

Dabrowski, K., El - Fiky, N., Kock, G., Frigg, M. and Wieser, W. 1990. Requirement and utilization of ascorbic acid and ascorbic sulfate in juvenile rainbow trout . *Aquaculture,* 19: 317-337.

Dabrowski, K. 1990. Absorption of ascorbic acid, ascorbic sulfate and ascorbate metabolism in common carp (*Cyprinus carpio* L.) . *J. Comp. Physiol.* 160 (5) : 549-561

Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics.* 11 : 1 - 42.

Duncan, P.L. and Lovell, R.T. 1994. Influence of vitamin C on the folate requirement of channel caffish, *Ictalurus punctatus*, for growth, hematopoiesis, and resistance to *Edwardsiella ictaluri* infection. *Aquaculture.* 127 (2-3) : 233-244.

Dupree, H.K. 1966. Vitamins essential for growth of channel catfish. The Bureau of sport Fisheries and Wildlife. Technical Paper No. 7, 12 p.

Erdal, J.I., Evensin, Oe., Kaurstad, O.K., Lillehaug, A., Solbakken, R. and Thorud, K. 1991. Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3′ fatty acids. *Aquaculture*, 98(4) : 363-379.

Eskelinen, P. 1989. Effects of different diets on egg production and egg quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* , 79(1-4) : 275-281.

Garrett, R.H. and Grisham, C.M. 1995. Biochemistry, Ft. Worth, Sanders College. 1100 p.

Gouillou, M., Coustans, F. and Guillaume, J. 1993. Effect of a nonspecific stressor on the symptoms of ascorbic acid deficiency in turbot (*Scophthalmus maximus*). In "Fish Nutrition in Practice, Biarritz, 24-27 June 1991" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet), Institute National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 209-214.

Halver, J.E. 1989. Fish Nutrition. Second Edition. Academic Press, Inc., San Diego. 798 p.

Hardie, L.J., Fletcher, T.C. and Secombes, C.J. 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 95 (3-4) : 201-214.

Hilton, J.W., Cho, C.Y. and Slinger, S.J. 1977. Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34 : 683-687.

Hughes, S.G., Nickum, J.G. and Rumsey, G.L. 1981. Biomicroscopic and histologic pathology of the eye in riboflavin deficient rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cornell. Vet.*, 71 (3) : 269-279.

Ikeda, S., Ishibashi, Y., Murata, O., Nasu, T. and Harada, T. 1988. Qualitative requirements of the Japanese parrot fish for water-soluble vitamins. *Nippon Suisan Gakkaishi Bull.* 54(11) : 2029-2035

Ishii, K. and Yamamoto, K. 1972. Electron microscopic studies on the liver cells in pantothenic acid deficient goldfish. *Bull. Fac. Fish.of Hokkaido University*, 23 : 151-157.

Karges, R. G. and Woodward, B. 1984. Development of lamellar epithelial hyperplasia in gills of pantothenic acid-deficient rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 25 (1) : 57-62

Khan, M.S. 1994. Apparent digestibility coefficients for common feed ingredients in formulated diets for tropical catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier Valenciennes). *Aqua. Fish. Manage.*, 25 : 167-174.

Khan, M.S., Ang, K.J., Ambak, M.A. and Saad, C.R. 1993. Optimum dietary protein requirement of a Malaysia fresh-water catfish, *Mystus nemurus. Aquaculture*, 112 : 227-235.

Khan, M.S., Ambak, M.A., Ang, K.J. and Mohsin, A.K.M. 1990. Reproductive biology of a tropical catfish, *Mystus nemurus* Cuvier Valenciennes, in Chenderoh reservoir, Malaysia. *Aqua. Fish. Manage.*, 21 : 173-179.

Kitamura, S., Ohara, S., Suwa, T. and Nakagawa, K., 1965. Studies on vitamin requirement of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. I. On the ascorbic acid. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 31 : 818-826.

Kitamura, S., Suwa, T., Ohara, S. and Nakagawa, A., 1967. Studies on vitamin requirement of rainbow trout. II. The deficiency symptoms of fourteen kinds of vitamin. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 33 : 1120-1125.

Kosutarak, P. 1983a. Effect of supplement of vitamins on feeding fish meat to juvenile seabass (*Lates calcarifer*). National Institute of Coastal Aquaculture, Songkhla, Thailand. 20 p.

Kosutarak, P. 1983b. Study on the effect of adding animal feed supplement when feeding fish meat to juvenile seabass, (*Lates calcarifer*). National Institute of Coastal Aquaculture, Songkhla, Thailand. 25 p.

Lall, S.P. and Olivier, G. 1995. Role of vitamin and beta-glucans on immune response and disease resistance in Atlantic salmon. Proceeding of Aquatech 1995, Vancouver British Columbia, Canada. 95 (2) : 41-44.

Lall, S.P., Oliver, G., Weeraboon, D.E.M. and Hines, J.A. 1989. The effect of vitamin C deficiency and excess on immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) In The Proc. third Int. Symp. on Feeding and Nutr. in Fish, Toba, Japan, 28

Aug.- 1 Sept. 1988 (ed. by M. Takeda and T. Watanabe), Tokeo, Japan, pp. 427-441

Li, M.H., Johnson, M.R. and Robinson, E.H. 1993. Elevated dietary vitamin C concentrations did not improve resistance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, against *Edwardsiella ictaluri* infection. *Aquaculture*, 117(3-4) : 303-312.

Lim, C., Leamaster, B. and Brock, J.A. 1993. Riboflavin requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater. In "Fish Nutrition in Practice, Biarritz, 24-27 June 1991" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet)., Institute National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 743-752.

Lovell, R.T. 1973. Essentiality of vitamin C in feed for intensively fed caged channel catfish. *J. Nutr.*, 103 : 134-138.

Lovell, R.T. 1989. Nutrition and Feeding of fish. Van Nostrand Reinhold, New York, U.S.A. 260 p.

Lovell, R.T. and Naggar, G.O. 1989a. New source of vitamin C for fish feeds. *Highlights-Agric. Res.*, 36(4) : 15.

Lovell, R.T. and Naggar, G.O. 1989b. Vitamin C activity for L-ascorbic acid, L-ascorbyl-2-sulfate and L- ascorbyl-2-phosphate-Mg for channel catfish. In "The Proceeding of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish, Toba, Japan, 28 August-1 September, 1988" (ed. by M. Takeda and T. Watanabe)., Tokyo, Japan, pp. 159-165.

Lovell, R.T. and Lim. C. 1978. Vitamin C in pond diets for channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107(2) : 321-325.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265-275.

Machlin, L.J. 1991. Handbook of Vitamins. Department of Vitamins and Clinical Nutrition, Hoffman-La Roche, Inc. New Jersey. 595 p.

Mahajan, C.L. and Agrawal, N.K. 1979. Vitamin C deficiency in *Channa punctatus* Bloch. *J. Fish Biol.*, 15 : 613-622.

Masumoto, T., Hardy, R.W. and Casillas, E. 1987. Comparison of transketolase activity and thiamin pyrophosphate levels in erythrocytes and liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as indicators of thiamin status. *J. Nutr.* 117 (8) : 1422-1426.

Masumoto, T., Hardy, R.W. and Stickney, R.R. 1993. Gill lipid metabolism in pantothenic acid-deficient rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In "Fish Nutrition in Practice, Biarritz ,24-27 June 1991" (ed. by S.J. Kaushik and P. Luquet), Institute National de la Recherche Agronomique, Paris, pp. 247-256.

Mayer, f.L., Mehrle, P.M. and Crutcher, P.L. 1978. Interactions of toxaphene and vitamin C in channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107 : 326-333.

McConnell, E. and Barrows, F.T. 1993. Pathological changes associated with vitamin C deficiency in wall eyes. *J. Aquatic Animal Health*, 5(4) : 287-293.

McLaren, B.A., Keller, E. , O Donell, D.J. and Elvehhem, C.J. 1947. The nutrition of rainbow trout I. Studies on vitamin requirements. *Arch. Biochem. Biophys.*, 15 : 169-178

Morito, C.L.H., Conrad, D.H. and Hilton, J.W., 1986. The thiamin deficiency signs and requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richadson). *Fish Physiol. Biochem.* 1 : 93-104

Murata, H., Sakai, T. Yamauchi. K., Yoshida, T. and Fukudome, M. 1994. In vivo lipid peroxidation and antioxidant activities in the liver of cultured and wild yellowtail. *Bull. Aqua. Assoc. Canada.* 94 (2) : 57-59.

Murai, T. and Andrews. J.W. 1978. Riboflavin requirement of channel catfish fingerlings. *J. Nutr.*, 108 : 1512-1517.

Muria, T. and Andrews, J.W. 1979. Pantothenic acid requirement of channel catfish fingerlings. *J. Nutr.*, 109 : 1140-1142.

Mustin, W.G. and Lovell, R.T. 1992. Na-L- ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. *Aquaculture*, 105 (1) : 95-100.

Navarre, O. and Halver, J. E. 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture*, 79 : 207-221.

NRC (National Research Council). 1983. Nutrient requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes. (Revised Edition). National Academy Press. Washington, D.C. 102 p.

Ogino, C. 1967. B vitamin requirement of carp-II. Requirement for riboflavin and pantothenic acid. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 31 : 351-354.

Padh, H. 1990. Cellular function of ascorbic acid. *Biochem. Cell. Biol.* 68 : 1166-1173

Padmore, J.M. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. pp. 69-90.

Phromkunthong, W. 1995. Studies on the Importance of Water-Soluble Vitamins in Diets of Three Teleost Fish (*Lates calcarifer, Epinephelus malabaricus, Brachydanio rerio*). Ph.D. Thesis. University of Heidelberg, Heidelberg, Federal Republic of Germany. 235 p.

Phromkunthong, W., Boonyaratpalin, M. and Verakunpiriya, W. 1993a. Histopathology of the gills of ascorbic acid deficient grouper, *Epinephelus malabaricus. Fish Pathology.* 28(4) : 151-159.

Phromkunthong, W., Chittiwan, V. and Supamattaya, K. 1993b. Effects of thiamin, pyridoxine, pantothenic acid and riboflavin on growth performance, feed utilisation and carcass composition of seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 15(1) : 31-38.

Phromkunthong, W., Storch, V. and Braunbeck, T. 1994. Sexual dimorphism in the reaction of zebrafish (*Brachydanio rerio*) to ascorbic acid deficiency : Induction of steatosis in hepatocytes of male fish. *J. App. Icht.* 10 : 146-153.

Phromkunthong, W., Supamattaya, K., Choldumrongkul, S., Suwanjarat, J. and Chittiwan, V. 1987. Effects of water-soluble vitamins on growth, body composition and histological changes of seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 9(4) : 503-513.

Poston, H.A. and Page, J.W. 1982. Gross and histological signs of dietary deficiencies of biotin and pantothenic acid in lake trout, *Salvellinus namaychus. Cornell Vet.,* 72 : 242-261

Roem, A.J., Stickney, R.R. and Kohler, C.C. 1990. Vitamin requirement of blue tilapias in a recirculating water system. *Prog. Fish Cult.,* 52(1) : 15-18.

Roem, A.J., Stickney, R.R. and Kohler, C.C. 1991. Dietary pantothenic acid requirement of the blue tilapia. *Prog. Fish Cult.* 33(4) : 216-219.

Rosenlund, G., Jorgensin, L., Waagboe, R. and Sandnes, K. 1990. Effect of different dietary level of ascorbic acid in plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Comp. Boichem. Physiol.,* 96A (3) : 395-398.

Sandnes, K., Torrissen, O. and Waagboe, R. 1992. The immune dietary requirement of vitamin C in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry using Ca - ascorbate - 2 - monophosphate as dietary source. *Fish Physiol. Biochem.,* 10(4) : 315-319

Sato, M., Hayashi, S. and Kakimoto, D. 1993. Metabolism of thiamin in carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.,* 59 (6) : 1085-1091.

Schaperchlaus, W. 1992. Fish Diseases. Vol. I 5th Edition. A.A. Balkema Rotterdam. 594 p.

Serrini, G., Zhang, Z. and Wilson, R.P. 1996. Dietary riboflavin requirement of fingerling channel catfish *(Ictalurus punctatus)*. *Aquaculture*, 139(3-4) : 285-290.

Shiau, S.Y. and Jan , F.L. 1992. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 58(4) : 671-675.

Singh, B.N. 1994. Nutrition of Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn). *J. Freshwat. Biol.*, 6(3) : 275-283.

Smith, H.M. 1965. The Fresh-water fish of Siam or Thailand. T.F.H. Publication, Inc. New Jersey. 622 p..

Solinger, S.J. , Razzaque, A. and Cho, C.Y. 1979. Effect of feed processing and leaching on the losses of certain vitamins in fish diets, In "Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, II"(ed. by J.E. Halver and K, Tiews). Heeneman, Berlin, Germany, pp. 425-434.

Soliman, A.K. and Wilson, R.P. 1992. Water-soluble vitamin requirements of blue tilapia.I. Pantothenic acid requirement of blue tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 104 : 121-126.

Soliman, A.K., Jauncey, K. and Roberts, R.T. 1986a. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59 : 197-208

Soliman, A.K., Jauncey, K. and Roberts, R.T. 1986b. The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 52 : 1-10.

Stryer, L. 1989. Biochemistry. W.H. Freeman and Company. New York. 1089 p.

Suhenda, N. and Djajadiredja, R. 1985. Determination of the optimum level of vitamin premix for the diet of common carp *(Cyprinus carpio* L.*)* fingerlings. In "Finfish Nutrition in Asia : Methodological Approaches to Research and Development, Singapore, 23 - 26 August, 1983" (ed. by C.Y. Cho, C.B. Cowey and T. Watanabe). International Development Research Centre, Ottawa, Canada, pp. 130-135.

Supamattaya, K. and Phromkunthong, W. 1988. Effects of water soluble vitamins on the blood components of seabass (*Lates calcarifer* Bloch). *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 10 (3) : 325-328.

Tacon, A.G.J. 1991. Vitamin nutrition in shrimp and fish. In "Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Bangkok, Thailand, September 19-25, 1991" (ed. by D.M. Akiyama and R.K.H.Tan), American Soybean Association, Republic of Singapore, pp. 10-41.

Takeuchi, L., Takeuchi, T. and Ogino, C. 1980. Riboflavin requirements in carp and rainbow trout. *Bull.Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46 (6) : 733-737.

Takeuchi, T. 1988. Laboratory work : Chemical evaluation of dietary nutrients. In Fish Nutrition and Mariculture (ed. by T. Watanabe). Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan, pp. 179-199.

Thompson, I., White, A., Fletcher, T.C., Houlihan, D.F. and Secombes, C.J. 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. *Aquaculture*, 114(1-2) : 1-18.

Tucker, B.W. and Halver, J.E. 1986. Utilization of ascorbate-2-sulfate in fish. *Fish. Physiol. Biochem.*, 2 : 151-160.

Vel, M.S., Sampath, K. and Pandian, T.J. 1990. Dosage effects of Pyridoxine, folacin and ascorbic acid on the blood parameters of *Cyprinus carpio*. In "The Proceeding of the Second Asian Fisheries Forum., 17-22 April 1989" (ed. by Hirano, R. and Hanyu, I.). Tokyo, Japan, pp. 263-266.

Verlhac, V. and Gabaudan, J. 1994. Influence of vitamin C on the immune system of salmonids. *Aqua. Fish. Manage.*, 25 : 21-36,

Waagboe, R. Glette, J., Raa-Nilson, E. and Sandnes, K. 1993. Dietary vitamin C immunity and disease resistance in Atlantic salmon *(Salmo salar)*. *Fish. Physiol. Biochem.*, 12 (1) : 61-73.

Waagboe, R., Thorsen, T. and Sandnes, K. 1989. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout *(Salmo gairdneri)*. *Aquaculture*, 80 : 301-314.

Watanabe, T. 1988. Vitamins. In "Fish Nutrition and Mariculture" (ed. by T. Watanabe). Tokyo University of fisheries Tokyo Japan, pp. 71-74.

Wilson, R.P. and Poe, W.E. 1973. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. *J. Nutr.*, 103 : 1359-1364.

Wilson, R.P., Bowser, P.R. and Poe, W.E. 1983. Dietary pantothenic acid requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 113 : 2224-2228.

Woodward, B. 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. *Aquaculture*, 124 : 133-168.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ ก-1 ถึง ก-12

ตารางผนวกที่ ก-1 แสดงน้ำหนักปลากดเหลือง เฉลี่ยต่อตัว(เป็นกรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง (สัปดาห์)					
	0	2	4	6	8	10
T_1r_1	1.01	1.60	2.17	2.33	4.78	3.45
T_1r_2	1.00	1.54	2.13	2.58	2.67	2.80
T_1r_3	1.03	1.94	2.74	3.43	3.26	4.42
T_2r_1	1.01	1.86	3.24	6.37	10.03	14.78
T_2r_2	1.03	1.94	3.14	5.92	10.22	15.00
T_2r_3	1.01	1.78	2.88	5.51	9.60	12.20
T_3r_1	1.02	1.77	2.77	4.96	8.43	12.60
T_3r_2	1.02	1.76	2.70	4.85	7.88	12.83
T_3r_3	1.02	1.83	2.60	4.73	8.13	12.50
T_4r_1	1.01	1.64	2.42	4.99	7.42	10.94
T_4r_2	1.01	1.74	2.71	4.50	6.86	10.14
T_4r_3	1.01	1.82	2.82	5.08	7.49	11.53
T_5r_1	1.03	1.70	2.08	2.48	3.73	4.16
T_5r_2	1.02	1.56	2.28	2.96	3.78	6.47
T_5r_3	1.03	1.54	1.82	2.72	4.54	5.75
T_6r_1	1.02	1.69	2.92	5.35	7.37	9.46
T_6r_2	1.02	1.87	2.84	5.40	8.29	9.10
T_6r_3	1.01	1.70	2.48	4.50	5.85	7.47

*T_1 : ขาดวิตามินทุกชนิด T_3 : ขาดวิตามินบี 1 T_5 : ขาดวิตามินแพนโตเทนิก

T_2 : วิตามินครบถ้วน T_4 : ขาดวิตามินบี 2 T_6 : ขาดวิตามินซี

ตารางผนวกที่ ก-2 แสดงอัตราการรอดตาย (%) ของปลากดเหลือง) ที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง (สัปดาห์)					
	0	2	4	6	8	10
T_1r_1	100.00	93.33	86.67	63.33	36.67	6.67
T_1r_2	100.00	100.00	93.33	63.33	43.33	13.33
T_1r_3	100.00	90.00	80.00	56.67	30.00	3.33
T_2r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_2r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_2r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	96.67
T_3r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_3r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_3r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	96.67
T_4r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	90.00
T_4r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	96.67	93.00
T_4r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_5r_1	100.00	100.00	86.67	56.67	20.00	6.67
T_5r_2	100.00	96.67	76.67	60.00	50.00	13.33
T_5r_3	100.00	90.00	70.00	50.00	23.33	13.33
T_6r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	96.67	93.33
T_6r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_6r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

*T_1 : ขาดวิตามินทุกชนิด T_3 : ขาดวิตามินบี 1 T_5 : ขาดวิตามินแพนโตเทนิก

T_2 : วิตามินครบถ้วน T_4 : ขาดวิตามินบี 2 T_6 : ขาดวิตามินซี

ตารางผนวกที่ ก-3 แสดงน้ำหนักอาหารที่ปลากดเหลือง กินเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง (สัปดาห์)				
	2	4	6	8	10
T_1r_1	1.11	1.40	1.29	1.15	3.66
T_1r_2	1.11	1.36	1.71	1.10	2.10
T_1r_3	1.27	1.67	1.66	1.92	7.57
T_2r_1	1.17	1.90	3.89	5.36	7.96
T_2r_2	1.11	1.80	3.63	5.31	7.03
T_2r_3	1.14	1.63	3.73	5.02	7.04
T_3r_1	1.07	1.87	3.36	4.34	6.37
T_3r_2	1.17	1.83	3.21	5.67	6.11
T_3r_3	1.14	1.78	3.42	4.28	5.82
T_4r_1	1.20	1.11	3.22	3.43	5.36
T_4r_2	1.18	1.64	2.91	3.30	5.40
T_4r_3	1.17	1.63	3.25	3.68	4.95
T_5r_1	1.08	1.23	1.60	2.76	5.88
T_5r_2	1.34	1.40	1.68	1.66	4.11
T_5r_3	1.17	1.29	2.07	2.56	2.74
T_6r_1	1.17	1.85	3.36	3.93	9.46
T_6r_2	1.19	1.73	3.30	4.12	9.10
T_6r_3	1.12	1.60	3.06	2.97	7.47

*T_1 : ขาดวิตามินทุกชนิด T_3 : ขาดวิตามินบี 1 T_5 : ขาดวิตามินแพนโตเทนิก

T_2 : วิตามินครบถ้วน T_4 : ขาดวิตามินบี 2 T_6 : ขาดวิตามินซี

ตารางผนวกที่ ก-4 แสดงน้ำหนักเฉลี่ย ของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหาร 6 สูตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

อาหารสูตรที่	วิตามินที่ขาด	น้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลือง (กรัม)					
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 10
1 (T_1)	วิตามินทุกชนิด	1.01 ± 0.02^{a}	1.69 ± 0.22^{a}	2.35 ± 0.34^{ab}	2.78 ± 0.58^{a}	3.57 ± 1.09^{a}	3.65 ± 0.82^{a}
2 (T_2)	วิตามินครบถ้วน	1.02 ± 0.01^{a}	1.86 ± 0.08^{a}	3.09 ± 0.19^{c}	5.93 ± 0.43^{c}	9.95 ± 0.32^{c}	13.99 ± 1.56^{e}
3 (T_3)	วิตามินไทอะมีน	1.02 ± 0.01^{a}	1.79 ± 0.04^{a}	2.69 ± 0.09^{bc}	4.85 ± 0.12^{b}	8.15 ± 0.28^{b}	$12.64+0.17^{de}$
4 (T_4)	วิตามินไรโบฟลาวิน	1.01 ± 0.00^{a}	1.73 ± 0.09^{a}	2.65 ± 0.21^{b}	4.86 ± 0.31^{b}	7.26 ± 0.35^{b}	10.87 ± 0.70^{d}
5 (T_5)	วิตามินแพนโตเทนิก	1.03 ± 0.01^{a}	1.60 ± 0.09^{a}	2.06 ± 0.23^{a}	2.72 ± 0.24^{a}	4.02 ± 0.45^{a}	5.46 ± 1.18^{b}
6 (T_6)	วิตามินซี	1.02 ± 0.01^{a}	1.75 ± 0.10^{a}	2.75 ± 0.23^{bc}	5.08 ± 0.51^{b}	7.17 ± 1.23^{b}	8.68 ± 1.06^{c}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางผนวกที่ ก-5 แสดงอัตราการรอดตายของลูกปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารแตกต่างกัน 6 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

อาหารสูตรที่	วิตามินที่ขาด	อัตราการรอดตาย (%)					
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 10
1 (T_1)	วิตามินทุกชนิด	100^{a}	94.44 ± 5.09^{a}	85.67 ± 6.66^{b}	61.56 ± 3.85^{b}	36.67 ± 6.06^{a}	7.78 ± 5.09^{a}
2 (T_2)	วิตามินครบถ้วน	100^{a}	100^{a}	100^{c}	100^{c}	100^{b}	98.89 ± 1.92^{b}
3 (T_3)	วิตามินไทอะมีน	100^{a}	100^{a}	100^{c}	100^{c}	100^{b}	98.89 ± 1.92^{b}
4 (T_4)	วิตามินไรโบฟลาวิน	100^{a}	100^{a}	100^{c}	100^{c}	98.89 ± 1.92^{b}	94.44 ± 5.09^{b}
5 (T_5)	วิตามินแพนโตเทนิก	100^{a}	95.56 ± 5.09^{a}	77.78 ± 8.39^{a}	55.56 ± 5.09^{a}	31.11 ± 16.449^{a}	11.11 ± 3.14^{a}
6 (T_6)	วิตามินซี	100^{a}	100^{a}	100^{c}	100^{c}	98.89 ± 1.92^{b}	97.78 ± 3.85^{b}

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางผนวกที่ ก-6 แสดงน้ำหนักปลากดเหลือง เฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
T_1r_1	1.66	2.50	2.98	3.03	3.28
T_1r_2	1.64	2.55	2.93	2.97	3.38
T_1r_3	1.66	2.58	3.30	3.19	3.16
T_2r_1	1.66	2.67	4.07	6.04	9.33
T_2r_2	1.67	2.70	4.04	6.26	10.52
T_2r_3	1.65	2.70	4.14	6.24	10.73
T_3r_1	1.64	2.50	4.00	5.94	9.49
T_3r_2	1.64	2.57	4.00	5.82	9.85
T_3r_3	1.65	2.69	3.76	5.70	9.20
T_4r_1	1.67	2.56	3.80	5.27	8.75
T_4r_2	1.65	2.85	4.34	6.05	9.67
T_4r_3	1.66	2.79	4.23	6.26	10.24
T_5r_1	1.66	2.91	4.37	6.47	10.67
T_5r_2	1.65	2.80	4.48	6.25	10.38
T_5r_3	1.66	2.87	4.58	6.34	10.49
T_6r_1	1.63	2.55	4.19	5.92	9.65
T_6r_2	1.65	3.03	4.40	6.10	9.37
T_6r_3	1.65	2.72	4.28	6.04	10.43

*T_1 : วิตามินแพนโตเทนิก 0.00 มก. / กก.
T_2 : วิตามินแพนโตเทนิก 30.00 มก. / กก.
T_3 : วิตามินแพนโตเทนิก 50.00 มก. / กก.
T_4 : วิตามินแพนโตเทนิก 100.00 มก. / กก.
T_4 : วิตามินแพนโตเทนิก 150.00 มก. / กก.
T_6 : วิตามินแพนโตเทนิก 200.00 มก. / กก.

ตารางผนวกที่ ก-7 แสดงน้ำหนักอาหาร (กรัม) ที่ปลากดเหลืองกิน เฉลี่ยต่อตัวในทุก 2 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง (สัปดาห์)			
	2	4	6	8
T_1r_1	1.29	0.76	1.23	2.01
T_1r_2	1.26	0.81	0.72	1.11
T_1r_3	1.23	1.00	1.10	1.18
T_2r_1	1.56	2.03	2.45	4.52
T_2r_2	1.54	2.42	2.48	4.91
T_2r_3	1.55	2.08	2.36	5.17
T_3r_1	1.48	2.19	2.40	4.39
T_3r_2	1.49	2.10	2.46	4.56
T_3r_3	1.44	2.11	2.48	4.62
T_4r_1	1.45	2.06	2.24	4.65
T_4r_2	1.34	1.98	2.36	4.53
T_4r_3	1.60	2.00	2.32	4.86
T_5r_1	1.64	2.12	2.45	4.93
T_5r_2	1.54	2.15	2.39	4.78
T_5r_3	1.56	2.18	2.43	4.98
T_6r_1	1.54	1.92	2.32	4.48
T_6r_2	1.61	1.85	2.39	4.47
T_6r_3	1.47	1.97	2.31	4.67

*T_1 : วิตามินแพนโตเทนิก 0.00 มก. / กก.
T_2 : วิตามินแพนโตเทนิก 30.00 มก. / กก.
T_3 : วิตามินแพนโตเทนิก 50.00 มก. / กก.
T_4 : วิตามินแพนโตเทนิก 100.00 มก. / กก.
T_5 : วิตามินแพนโตเทนิก 150.00 มก. / กก.
T_6 : วิตามินแพนโตเทนิก 200.00 มก. / กก.

ตารางผนวกที่ ก-8 แสดงน้ำหนักเฉลี่ย ของปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก แตกต่างกัน 6 ระดับ ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

สูตรอาหารที่	ปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก (มก./กก.)	น้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลือง (กรัม)				
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8
1 (T_1)	0.00	1.65 ± 0.01^{a}	2.54 ± 0.04^{a}	3.07 ± 0.20^{a}	3.06 ± 0.11^{a}	3.27 ± 0.11^{a}
2 (T_2)	30.00	1.66 ± 0.01^{a}	2.69 ± 0.02^{a}	4.08 ± 0.05^{b}	6.18 ± 0.12^{b}	10.19 ± 0.75^{b}
3 (T_3)	50.00	1.64 ± 0.01^{a}	2.59 ± 0.10^{a}	3.92 ± 0.14^{b}	5.82 ± 0.12^{b}	9.51 ± 0.33^{b}
4 (T_4)	100.00	1.66 ± 0.01^{a}	2.73 ± 0.15^{a}	4.12 ± 0.29^{b}	5.88 ± 0.52^{b}	9.55 ± 0.75^{b}
5 (T_5)	150.00	1.66 ± 0.01^{a}	2.86 ± 0.06^{a}	4.48 ± 0.11^{b}	6.35 ± 0.11^{b}	10.51 ± 0.15^{b}
6 (T_6)	200.00	1.64 ± 0.01^{a}	2.77 ± 0.24^{a}	4.29 ± 0.11^{b}	6.02 ± 0.09^{b}	9.82 ± 0.55^{b}

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางผนวกที่ ก-9 แสดงอัตราการรอดตาย(%) ของปลากดเหลือง ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก ปริมาณแตกต่างกัน 6 ระดับ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

ชุดการทดลองที่*	ระยะเวลาการเลี้ยง(สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
T_1r_1	100.00	100.00	93.33	53.33	30.00
T_1r_2	100.00	100.00	93.33	90.00	56.66
T_1r_3	100.00	100.00	96.67	66.67	53.55
T_2r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_2r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	93.33
T_2r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	96.66
T_3r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	96.66
T_3r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	93.33
T_3r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_4r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	93.33
T_4r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_4r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	96.66
T_5r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_5r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	96.66
T_5r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	93.33
T_6r_1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_6r_2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
T_6r_3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

*T_1 : วิตามินแพนโตเทนิก 0.00 มก. / กก.
T_2 : วิตามินแพนโตเทนิก 30.00 มก. / กก.
T_3 : วิตามินแพนโตเทนิก 50.00 มก. / กก.
T_4 : วิตามินแพนโตเทนิก 100.00 มก. / กก.
T_5 : วิตามินแพนโตเทนิก 150.00 มก. / กก.
T_6 : วิตามินแพนโตเทนิก 200.00 มก. / กก.

ตารางผนวกที่ ก-10 แสดงอัตราการรอดตายของลูกปลากดเหลือง ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีวิตามินแพนโตเทนิก ปริมาณแตกต่างกัน 6 สูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (การทดลองที่ 2)

สูตรอาหารที่	ปริมาณวิตามินแพนโตเทนิก (มก./กก.)	อัตราการรอดตายของปลากดเหลือง (%)				
		สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8
1 (T_1)	0.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	94.44±0.93^a	70.00±18.56^a	46.47±14.58^a
2 (T_2)	30.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b	96.66±3.3^b
3 (T_3)	50.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b	96.66±3.34^b
4 (T_4)	100.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b	96.66±3.34^b
5 (T_5)	150.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b	96.66±3.34^b
6 (T_6)	200.00	100.00±0.00^a	100.00±0.00^a	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b	100.00±0.00^b

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในสดมภ์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางผนวกที่ ก-11 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำจากการสุ่มตัวอย่างน้ำในแต่ละชุดการทดลอง ระหว่างทำการทดลอง (การทดลองที่ 1)

น้ำตัว-อย่าง	ก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำ				หลังการเปลี่ยนถ่ายน้ำ			
	ออกซิเจน (มก./ลิตร)	พีเอช	ความกระด้าง (มก./ลิตร)	ความเป็นด่าง (มก./ลิตร)	ออกซิเจน (มก./ลิตร)	พีเอช	ความกระด้าง (มก./ลิตร)	ความเป็นด่าง (มก./ลิตร)
ครั้งที่ 1 (สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง)								
T_1	7.10	6.60	4.50	17.00	7.50	6.90	3.90	19.00
T_2	7.00	6.60	4.50	15.50	7.50	6.90	3.90	19.00
T_3	6.90	6.60	4.90	15.50	7.50	6.90	3.90	19.00
T_4	7.10	6.70	3.60	16.50	7.50	6.90	3.90	19.00
T_5	7.10	6.60	4.70	16.00	7.50	6.90	3.90	19.00
T_6	7.10	6.70	4.90	16.00	7.50	6.90	3.90	19.00
ครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 10 ของการทดลอง)								
T_1	7.20	7.18	4.20	15.00	8.00	7.36	3.80	18.00
T_2	7.00	7.03	4.10	17.00	8.00	7.36	3.80	18.00
T_3	6.40	6.77	3.90	16.00	8.00	7.36	3.80	18.00
T_4	6.80	7.01	3.90	17.00	8.00	7.36	3.80	18.00
T_5	7.40	7.17	3.70	17.000	8.00	7.36	3.80	18.00
T_6	6.90	6.94	3.70	16.00	8.00	7.36	3.80	18.00

ตารางผนวกที่ ก-12 แสดงผลการวิเคราะห์น้ำ จากการสุ่มตัวอย่างน้ำในแต่ละชุดการทดลองระหว่างทำการทดลอง (การทดลองที่ 2)

น้ำตัวอย่าง	ก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำ				หลังการเปลี่ยนถ่ายน้ำ			
	ออกซิเจน (มก./ลิตร)	พีเอช	ความกระด้าง (มก./ลิตร)	ความเป็นด่าง (มก./ลิตร)	ออกซิเจน (มก./ลิตร)	พีเอช	ความกระด้าง (มก./ลิตร)	ความเป็นด่าง (มก./ลิตร)
ครั้งที่ 1 (สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง)								
T_1	8.10	7.39	26.00	17.00	8.50	7.95	26.00	17.00
T_2	7.70	7.30	27.00	20.00	8.50	7.95	26.00	17.00
T_3	6.10	6.94	27.00	20.00	8.50	7.95	26.00	17.00
T_4	5.10	7.04	27.00	27.00	8.50	7.95	26.00	17.00
T_5	6.40	6.99	28.00	28.00	8.50	7.95	26.00	17.00
T_6	6.50	6.99	27.00	27.00	8.50	7.95	26.00	17.00
ครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)								
T_1	7.70	7.25	28.00	13.00	8.60	7.28	34.00	27.00
T_2	7.90	7.24	26.00	36.00	8.60	7.28	34.00	27.00
T_3	7.70	7.26	28.00	25.00	8.60	7.28	34.00	27.00
T_4	6.90	7.15	29.00	10.00	8.60	7.28	34.00	27.00
T_5	7.00	7.26	30.00	27.00	8.60	7.28	34.00	27.00
T_6	6.80	7.25	31.00	15.00	8.60	7.28	34.00	27.00

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจาก Takeuchi, 1988 และ Padmore, 1990)

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 กรัม ใส่ใน digestion tube
2. เติม K_2SO_4 และ $CuSO_4$ 3.5 กรัมตามลำดับเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกริยาเคมี เติม H_2SO_4 ลงในหลอด ๆ ละ 12-15 มิลลิลิตร เขย่าหลอดให้กรดผสมกับตัวอย่าง
3. นำหลอดไปใส่ในเครื่องย่อยที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่งโมง แล้วนำหลอดออกมาจากเครื่องย่อย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นลงไป 75 มิลลิลิตร
4. เติมกรด boric 4 เปอร์เซนต์ ลงในขวดรูปชมพู่ 40 มิลลิลิตร นำไปวางลงในที่รองรับสารละลายที่กลั่นออกมาจากเครื่องกลั่น
5. เติม NaOH ลงในหลอดตัวอย่างที่ย่อยแล้ว พร้อมที่จะกลั่น เริ่มต้นกลั่นจนได้สารละลายสีเขียวใส 150 มิลลิลิตร
6. นำสารละลายที่กลั่นได้แล้วติเตรทด้วย HCl จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู บันทึกปริมาณ และ ความเข้มข้น (N) ของกรดที่ใช้
7. คำนวณหาค่าไนโตรเจน หรือปริมาณโปรตีนรวมจากสูตร

$$\text{ไนโตรเจน} = \frac{14.01\ (A - B) \times \text{ความเข้มข้นของ HCl}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times 10}$$

โดยที่ A : ปริมาณกรดที่ใช้ติเตรทตัวอย่าง

B : ปริมาณกรดที่ใช้ติเตรท Blank

และ เปอร์เซนต์โปรตีน = ไนโตรเจน $\times$ 6.25

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

1. อบขวดสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) 1 ชั่งโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และ ชั่งน้ำหนัก

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ถ้าตัวอย่างเป็นชนิดที่มีไขมันมาก ให้ชั่ง 1 - 2 กรัม ถ้าเป็นชนิดที่ไขมันน้อยให้ชั่ง 3 - 5 กรัม ห่อให้มิดชิดด้วยกระดาษกรองที่พับเป็นรูปสี่เหลี่ยม แล้วนำไปใส่ในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยใยแก้ว หรือสำลี เพื่อให้สารทำละลายกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ในเครื่องสกัดไขมัน

4. เติมสารปิโตรเลียม อีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา

5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Goldfish extractor) พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิท

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมัน 14 ชั่งโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

7. เมื่อครบ 14 ชั่งโมง แล้วนำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากเครื่องและกลั่นเก็บสารละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย

8. นำขวดหาไขมันนั้นไปอบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำ นานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองแตกต่างกันไม่เกิน 1 - 3 มิลลิกรัม

10. คำนวณหาปริมาณไขมัน จากสูตร

ปริมาณไขมันคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก $= \frac{B \times 100}{A}$

โดยที่ A : น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

B : น้ำหนักไขมันหลังอบ

วิธีวิเคราะห์หาความชื้น

1. เตรียมภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง(drying pan) โดยอบในตู้อบไฟฟ้า(hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็น 30 นาที

2. นำ ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างไปชั่ง และบันทึกน้ำหนัก

3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างบันทึกน้ำหนักรวมของภาชนะและตัวอย่าง

4. นำภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างและตัวอย่างไปอบในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่งโมง

5. เมื่อครบ 5 ชั่งโมงแล้ว นำภาชนะพร้อมทั้งตัวอย่างไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น นาน 30 นาที แล้วนำไปชั่ง และ บันทึกน้ำหนัก

6. คำนวณหาเปอร์เซนต์ความชื้น จากสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์ความชื้น} = \frac{(B - C) \times 100}{B - A}$$

โดยที่ A : น้ำหนักภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง

B : น้ำหนักภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง+ ตัวอย่างก่อนอบ

C : น้ำหนัก ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง+ ตัวอย่างหลังอบ

วิธีวิเคราะห์หาเถ้า

1. อบภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง(crucible) ในตู้อบไฟฟ้า(hot air oven) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็น

2. นำภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง ไปชั่ง และ บันทึกน้ำหนัก

3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง บันทึกน้ำหนักภาชนะและตัวอย่าง

4. นำภาชนะพร้อมตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่งโมง

5. เมื่อครบ 6 ชั่งโมงแล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเตาเผา จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที นำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก

6. คำนวณหาเปอร์เซนต์เถ้า จากสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์เถ้า} = \frac{(B - C) \times 100}{B - A}$$

โดยที่ A : น้ำหนักภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง

B : น้ำหนักภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง+ ตัวอย่างก่อนอบ

C : น้ำหนัก ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง + ตัวอย่างหลังอบ

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

การเก็บตัวอย่างเลือด (blood collection)

อุปกรณ์

- ปลากดเหลืองที่ยังมีชีวิตอยู่ จำนวน 5 ตัวต่อชุดการทดลอง
- หลอดฉีดยาขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 25
- สารเคมีป้องกันเลือดแข็งตัว (blood anticoagulant) ในที่นี้จะใช้เฮพาริน (heparin) 5,000 ไอ.ยู.ต่อมิลลิลิตร
- หลอดแก้วสำหรับหาค่าฮีมาโตคริต (microhaematocrit capillary tube)
- RBC diluting pipette , Haemacytometer
- เครื่องปั่นหาค่าฮีมาโตคริต (microhaematocrit centrifuge)
- ยาสลบ MS-222 หรือ quinaldine

การเก็บตัวอย่างเลือดจากตัวปลามีอยู่หลายวิธี เช่น การตัดหาง (severance of the caudal peduncle) การเจาะจากหัวใจ (heart puncture) การเจาะจากเส้นเลือด (venous or aorta puncture) ในการทดลองนี้จะเป็นการเจาะจากเส้นเลือดส่วนหางซึ่งค่อนข้างสะดวกและไม่ค่อยมีการปนเปื้อนจาก ส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อ โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ทำการสลบปลาด้วยยาสลบ (MS-222 หรือ quinaldine) นำปลาที่สลบแล้ววางลงบนถาดใช้ผ้าเช็ดน้ำและเมือกบริเวณลำตัวออกให้สะอาด
2. ใช้หลอดฉีดยาขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 25 มาเคลือบภายในหลอดฉีดยา ด้วยสารละลายเฮพาริน จากนั้นค่อย ๆ แทงเข็มเข้าไปในบริเวณฐานครีบก้น ให้ห่างจากรูก้นประมาณ 1 นิ้ว แทงเข็มลงไปจนรู้สึกว่ากระทบกับส่วนของกระดูกสันหลัง ซึ่งเส้นเลือดจะอยู่บริเวณนี้
3. ถ้าปลายเข็มแทงถูกเส้นเลือด จะสังเกตุเห็นเลือดพุ่งขึ้นมาตามเข็มค่อย ๆ ดูดเลือดให้ขึ้นมาอย่างช้า ๆ ในหลอด (อย่าใช้แรงดูดมากเพราะจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้)

4. เลือดที่ได้ตามจำนวนที่ต้องการ นำไปใส่ไว้ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ

การหาค่าฮีมาโตคริต (% haematocrit) (Blaxhall and Daisley ,1973)

ค่าฮีมาโตคริตเป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (pack cell volume) หลังจากนำไปปั่นในอัตราเร็วเวลาที่กำหนด เทียบกับปริมาตรเลือดทั้งหมด (total blood volume) คิดออกมาเป็นเปอร์เซนต์ ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้

นำเลือดที่เจาะได้ใหม่ ๆ ใส่ในหลอดสำหรับหาค่าฮีมาโตคริต (microhaematocrit capillary tube) ประมาณครึ่งหลอด อุดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน หรือ ไครโตซีล (critoseal) แล้วนำไปปั่นด้วย ฮีมาโตคริตเซนตริฟิวจ์ (haematocrit centrifuge) ที่แรงเหวี่ยง 10,000 - 15,000 รอบต่อนาที นานประมาณ 5 - 10 นาที แล้วนำมาวัดหาอัตราส่วนของปริมาตรเม็ดเลือดกับปริมาตรเลือดทั้งหมด นำมาคำนวณหาค่า เปอร์เซนต์ฮีมาโตคริต จากสูตร

$$\text{ฮีมาโตคริต (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น} \times 100}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมด}}$$

การศึกษาส่วนของ พลาสมา(plasma) หรือ ซีรัม(serum) (Lowry, *et al.* 1951)

ในส่วนที่เป็นของเหลวหรือน้ำเลือด จะมีองค์ประกอบหลายอย่าง การศึกษารายละเอียดขององค์ประกอบใด ก็ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ที่ต้องการศึกษา ในส่วนของน้ำเลือดจะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ พลาสมา (plasma) ได้แก่ส่วนของน้ำเลือดที่ได้แยกเอาเซลล์เม็ดเลือดต่าง ๆ และเกร็ดเลือดออกไปหมด เหลือแต่ของเหลวที่ยังมี ไฟบริน (fibrin) ปนอยู่ อีกประเภทคือ ซีรัม (serum) ได้แก่ส่วนของน้ำเลือดที่เซลล์เม็ดเลือดต่าง ๆ เกร็ดเลือดรวมทั้งไฟบริน ได้ถูกแยกตัวออกไป

อุปกรณ์และสารเคมี

- ปลากดเหลืองทดลองที่ยังมีชีวิตอยู่ (นำเลือดที่ได้จากการเตรียม ตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น)

- หลอดฉีดยาขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 25

- สารเคมีป้องกันเลือดแข็งตัว (blood anticoagulant) ในที่นี้จะใช้เฮพาริน 5,000 ไอ.ยู./มิลลิลิตร

- ยาสลบ (MS-222 หรือ quinaldine)

- สารละลาย Drabkin's

- ฮีโมโกลบินมาตรฐาน (standard haemoglobin) 6, 12, 18 กรัม/เดซิลิตร

- สารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ (alkalime copper solution)

- สารละลายโฟลิน (folin reagent)

- อัลบูมินมาตรฐาน (standard albumin) 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

- ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 5, 20, 50 และ 100 ไมโครลิตร

การหาค่าปริมาณฮีโมโกลบินรวม (total haemoglobin) (Larsen and Snieszko,1961)

การหาค่าปริมาณฮีโมโกลบินรวมจะใช้หลักการที่เรียกว่า Cyamethemoglobin ซึ่งมีหลักว่า เลือดเมื่อทำปฏิกริยากับ Drabkin's solution (มีส่วนผสมของ ferriccyanide และ cyanide) ซึ่ง ferriccyanide จะออกซิไดซ์เหล็ก (Fe^{3+}) ในฮีโมโกลบิน เปลี่ยนไปเป็น methemoglobin (Fe^{2+}) และจะรวมกับ cyanide กลายเป็น cyanmethemoglobin สามารถวัดการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะนำมาเปรียบเทียบกับค่าฮีโมโกลบินมาตรฐาน ที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ Drabkin's solution เป็น blank โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ใช้ไมโครปิเปตขนาด 20 ไมโครลิตรดูดเลือดที่เจาะได้ใหม่ ๆ มาผสมรวมกับสารละลาย Drabkin's 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี แล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 20 นาที

2. จากนั้นนำเอาไปเซนตริฟิวจ์ เพื่อขจัดเศษเซลล์เม็ดเลือด (cell debris) และไฟบริน ต่าง ๆ ออกไป

3. นำส่วนที่ใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาว 540 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะนำมาเปรียบเทียบกับค่าฮีโมโกลบินมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้สารละลาย Drabkin's เป็นแบลงค์ (blank)

4. นำค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินมาตรฐานและค่า OD ที่ได้มาเขียนกราฟ โดยให้ความเข้มข้นอยู่ในแกน X และค่า OD อยู่ในแกน Y แล้วลากเส้นกราฟมาตรฐาน

(standard curve) ผ่านจุดทั้งสาม ค่า OD ของตัวอย่างเลือดปลา สามารถเทียบเป็นค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินได้จากกราฟมาตรฐาน

การหาค่าโปรตีนรวมในซีรัมหรือพลาสมา (total serum **หรือ** plasma protein)

การหาปริมาณโปรตีนรวมในเลือดจะใช้วิธีซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Lowry, *et al.* (1951) โดยมีขั้นตอนดังนี้ คือ

1. ดูดซีรัมมา 5 ไมโครลิตร ผสมรวมกับน้ำกลั่น 995 ไมโครลิตร
2. เติมสารละลายอัลคาไลน์คอปเปอร์ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 10 นาที
3. ครบ 10 นาที แล้วจึงเติมสารละลายโฟลิน รีเอเจนท์ 1:10 ลงไป 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันในระยะนี้จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น
4. เมื่อครบ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร
5. นำค่า OD ของตัวอย่างเลือดปลาที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าแอลบูมินมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นโดยใช้แบลงค์ (blank) ที่เตรียมขึ้นตามขั้นตอนนี้แต่ไม่เติมซีรัม
6. ดูดแอลบูมิน มาตรฐาน (standard albumin) ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ
7. เติมน้ำกลั่นลงไปหลอดละ 0.9, 0.7, 0.5, 0.1 และ 0 มิลลิลิตร ตามลำดับ จะได้ความเข้มข้นของแอลบูมิน ในแต่ละหลอดเท่ากับ 50, 150, 250, 350, 450 และ 500 ไมโครกรัม ตามลำดับ
8. นำแต่ละหลอดมาทำตามขั้นตอน การหาซีรัมโปรตีนในเลือด ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น
9. นำค่า OD และความเข้มข้นของแอลบูมิน ที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานโดยให้ค่าความเข้มข้นอยู่ในแกน X และค่า OD อยู่ในแกน Y แล้วลากเส้นผ่านจุดบนกราฟ ค่า OD ของตัวอย่างเลือดปลา สามารถเทียบเป็นความเข้มข้นของโปรตีนรวมในเลือด ได้จากกราฟมาตรฐานนี้

ภาคผนวก ง

การศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยา (Bancroft,1967)

การเก็บตัวอย่าง

1. ใช้มีดหรือกรรไกรผ่าตัดเอาอวัยวะที่ต้องการศึกษา เช่น ไต ตับ เหงือก ออกมาในขณะที่ปลายังมีชีวิตอยู่

2. ชิ้นส่วนของอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ เช่นตับ ให้ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 0.5 × 0.5 × 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรก่อน

3. นำชิ้นส่วนของอวัยวะ ที่ต้องการไปเก็บไว้ในน้ำยาดอง Bouin's solutions ทันทีและเก็บตัวอย่างนี้ไว้ได้ตลอดไป

ขั้นตอนการขจัดน้ำออกจนถึงการฝังเนื้อเยื่อลงในขี้ผึ้งเหลว

1. นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษา ซึ่งดองอยู่ในน้ำยาบูแอง หรือ แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซนต์ มาตบแต่ง (trim) โดยใช้กรรไกรและมีดผ่าตัด ตัดส่วนของเนื้อเยื่อ ตับ ไต และเหงือก ให้มีขนาด 0.5 × 0.5 × 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยประมาณหรือเล็กกว่าขึ้นอยู่กับขนาดของอวัยวะแต่ละชนิด ตบแต่งให้สวยงามเพื่อสะดวกต่อการฝังในขี้ผึ้งเหลวต่อไป

2. นำตัวอย่างเหล่านั้นไปผ่านขั้นตอนการขจัดน้ำออกด้วย เครื่องนำเนื้อเยื่อผ่านสารละลายเคมีโดยอัตโนมัติ (automatic tissue processor) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา(ชั่วโมง)
1	50% alcohol	0.45
2	70% alcohol	2.15
3	70% alcohol	2.00
4	95% alcohol	2.00
5	95% alcohol	2.00
6	Absolute alcohol	0.45
7	Isopropyl alcohol	0.45

6	Absolute alcohol	0.45
7	Isopropyl alcohol	0.45
8	Isopropyl alcohol	0.45
9	Xylene	0.45
10	Xylene	0.45
11	Paraplast	3.10
12	Paraplast	1.00

3. นำตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ผ่านขั้นตอนในข้อ 2 มาตบแต่งอีกครั้งหนึ่งแล้วจัดวางตัวอย่างให้อยู่ในบล๊อก (block) โดยประมาณว่าให้เหมาะกับขนาดของสไลด์ (slide) และกระจกปิดสไลด์ (cover glass) ปิดสนิทได้

4. ทำการฝังขี้ผึ้งเหลวเพื่อทำบล๊อก (blocking) เสร็จแล้วนำบล๊อกไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อง่ายต่อการที่จะนำไปตัด section ต่อไป

5. ทำการตัดชิ้นเนื้อ (section) โดยใช้เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) ให้ได้ชิ้นเนื้อบางๆ ที่มีความหนาประมาณ 1 - 3 ไมโครเมตร

6. ใช้สไลด์ (slide) ช้อนชิ้นเนื้อเยื่อที่ลอยในอ่างน้ำอุ่น (water bath) อุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส

7. นำสไลด์ที่มีตัวอย่างที่สมบูรณ์ ไปวางไว้ในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อบข้ามคืนเพื่อให้ตัวอย่างยึดติดแผ่นสไลด์ดีขึ้น

8. นำสไลด์ที่มีตัวอย่างติดแน่นไปผ่านขบวนการย้อมสี ซึ่งในการศึกษาเนื้อเยื่อทั่วไปจะย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin (H & E) โดยมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	Xylene	3
2	Xylene	3
3	Xylene	3
4	Absolute alcohol หรือ Isopropyl alcohol	1
5	Absolute alcohol หรือ Isopropyl alcohol	1

6	90% alcohol	1
7	70% alcohol	1
8	50% alcohol	1
9	แช่น้ำกลั่น	1
10	Hematoxylin	5-10
11	แช่น้ำกลั่น	1
12	น้ำประปา	1
13	น้ำกลั่น	1
14	50% alcohol	1
15	Eosin	2
16	70% alcohol	1/2
17	95% alcohol	1/2
18	95% alcohol	1/2
19	Absolute alcohol	1/2
20	Isopropyl alcohol	1/2
21	Isopropyl alcohol	1/2
22	Xylene	1
23	Xylene	1
24	Xylene	1

9. หยดสารตัวกลาง (mounting media) ลงบนสไลด์ด้วยน้ำยา Eukitt แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover glass)

10. นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น BX 50 พร้อมด้วยกล้องถ่ายภาพ OLYMPUS รุ่น C-35AD

ผล : นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน ของ Hematoxylin

ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูถึงสีแดง ของ Eosin

การเตรียมน้ำยาดอง Bouin's solution และเตรียมสีย้อม Hematoxylin และ Eosin

1. น้ำยาดอง (Bouin's solution)

Saturated picric acid	15 มล.
formalin (100 %)	5 มล.
acetic acid	1 มล.

ผสมสารละลายทั้งสามเข้าด้วยกัน จะได้น้ำยาดอง Bouin's solution พร้อมที่จะนำมาใช้ได้ทันที

2. การเตรียมสีย้อม Hematoxylin และ Eosin

2.1 การเตรียม Hematoxylin

Hematoxylin crystal	4 กรัม
Sodium iodate	0.80 กรัม
Potassium aluminum sulfate (alum)	100 กรัม
Citric acid	4 กรัม
Cholral hydrate	200 กรัม
น้ำกลั่น	2,000 มล.

ละลาย alum ในน้ำกลั่น แล้วจึงใส่ Hematoxylin ลงไป คนให้ละลาย จึงเติม Sodium iodate ผสมให้เข้ากัน เติม Citric acid และ Chloral hydrate คนให้เข้ากัน เขย่าจนกว่าสารทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จึงนำมาใช้

2.2 การเตรียม Eosin

Eosin Y.CI 45380	1 กรัม
70% Ethyl alcohol	1,000 มล.
Glacial acetic acid	5 มล.

ผสมเข้าด้วยกัน

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen : DO)

โดยดัดแปลงวิธีการของ Boyd and Tucker (1992) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

สารเคมีที่ใช้และการเตรียมสารละลาย

1. Manganese sulphate solution ($MnSO_4$)

ในการชั่งน้ำหนักต้องตรวจดูจำนวนผลึกของน้ำจากสูตรของสารเคมีที่ใช้ เช่น $MnSO_4.4H_2O$ ใช้ 480 กรัม หรือถ้าเป็น $MnSO_4.2H_2O$ ใช้ 400 กรัม และถ้าเป็น $MnSO_4.H_2O$ ใช้ 364 กรัมแล้วนำมาละลายน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. Alkali-iodide-azide solution

ละลาย sodium azide (NaN_3) 10 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติม Sodium hydroxide (NaOH) 480 กรัม และเติม sodium iodide (NaI) 750 กรัม คนให้เข้ากันจนละลายหมดแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3. Sulfuric acid (H_2SO_4)

ใช้กรด H_2SO_4 เข้มข้นที่มีความถ่วงจำเพาะ 1.84

4. น้ำแป้ง (Starch indicator)

ละลายผงแป้ง (Soluble starch) 2 กรัม ในน้ำกลั่น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปต้มเพื่อให้ความร้อนคนจนกระทั่งใส แล้วเติมฟอร์มาลินลงไป 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร เพื่อกันเสียหรือเติม salicylic acid 0.2 กรัม

5. Sodium thiosulphate solution ($Na_2S_2O_3$)

ใช้ $Na_2S_2O_3.5H_2O$ 6.205 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดและทิ้งไว้ให้เย็นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติม chloroform ลงไป 2-3 หยด เพื่อเก็บรักษาไว้ให้นานขึ้น หรือเติม NaOH 0.4 กรัม

5. Sodium thiosulphate solution ($Na_2S_2O_3$)

ใช้ $Na_2S_2O_3.5H_2O$ 6.205 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดและทิ้งไว้ให้เย็นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติม chloroform ลงไป 2-3 หยด เพื่อเก็บรักษาไว้ให้นานขึ้น หรือเติม NaOH 0.4 กรัม

หมายเหตุ

- น้ำกลั่นที่ใช้ต้องต้มให้เดือดใหม่ ๆ และตั้งทิ้งไว้ (ปิดฝา) ให้เย็น
- เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชา ไม่ควรให้ถูกแสง
- ควรตรวจความเข้มข้น ทุก ๆ เดือน
- สารละลาย $Na_2S_2O_3$ นี้จะมีความเข้มข้นประมาณ 0.025 N ซึ่งต้องนำไปปรับความเข้มข้นให้ถูกต้องเสียก่อน
- ปัจจุบันสามารถซื้อสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ซึ่งมีบริษัทขายน้ำยาเคมีผลิตขึ้นเวลานำมาใช้ก็นำมาทำให้เจือจางจนมีระดับความเข้มข้น 0.225 N

การตรวจความเข้มข้นของสารละลาย Sodium Thiosulfate

สารเคมีที่ใช้

1. Potassium dicromate ($K_2Cr_2O_7$) solution

ใช้ $K_2Cr_2O_7$ ที่อบแห้งสนิทโดยอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 90 นาที แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น จำนวน 0.6129 กรัม (ชั่งอย่างละเอียด) ละลาย ในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ ๆ และทำให้เย็นจนได้ปริมาตรครบ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ เท่ากับ 0.025 N

2. Potassium iodide solution (KI)

ใช้ KI 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ ๆ และทำให้เย็นจนได้ปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3. กรด H_2SO_4 เข้มข้น

วิธีการตรวจความเข้มข้นของสารละลาย Sodium Thiosulfate

1. น้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ ๆ และทำให้เย็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงใน บีกเกอร์ ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. เติมสารละลาย KI 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3. เติมสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ลงไปอีก 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4. ค่อย ๆ เติม H_2SO_4 เข้มข้นอย่างช้า ๆ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. ติเตรทด้วยสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่เตรียมไว้จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน หยดน้ำแป้งลงไป 2-3 หยด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ติเตรทต่อด้วยสารละลาย $Na_2S_2O_3$ จนกระทั่งสีน้ำเงินหมดไป บันทึกปริมาตรของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไป (A)

การคำนวณ

ความเข้มข้นของสานละลาย $Na_2S_2O_3$ $= \dfrac{0.025 \times 50}{\text{ปริมาตรของสารละลาย } Na_2S_2O_3 \text{ ที่ใช้ไป (A)}}$

หรือ $= \dfrac{1.25}{A}$

ตัวอย่างเช่น ปริมาตรของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ (A) เท่ากับ 48.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้น ความเข้มข้นของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่แท้จริงเท่ากับ $\dfrac{1.25}{48.0}$

$= 0.026$ N

จึงต้องทำการปรับค่าความเข้มข้นให้เท่ากับ 0.025 N

โดยใช้สูตร $\boxed{N_1V_1 = N_2V_2}$

N_1 : ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า ซึ่งเท่ากับ 0.026

N_2 : ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ ซึ่งเท่ากับ 0.025

V_1 : ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 : ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ ซึ่งเท่ากับ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

แทนค่าในสูตร

$$0.026 \times V_1 = 0.025 \times 1,000$$

$$V_1 = \frac{0.025 \times 1,000}{0.026}$$

$= 961.54$ ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้น ปริมาตรของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ต้องนำมาเตรียมเป็นสารละลาย ที่มีความเข้มข้น 0.025 N จึงเท่ากับ 961.54 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ ออกซิเจนในตัวอย่างน้ำ

1. ใช้ขวด BOD ที่มีความจุประมาณ 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร เก็บตัวอย่างน้ำ ที่ต้องการตรวจสอบ โดยในระหว่างเก็บ พยายามไม่ให้เกิดฟองอากาศ แล้วปิดจุกแก้วให้สนิท

2. เติม $MnSO_4$ solution 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ alkali-iodide-azide solution 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดจุกเอียงคว่ำไปมา เพื่อให้สารละลายผสมกัน ซึ่งจะเกิดตะกอนตั้งทิ้งไว้จนตะกอนนอนก้น

3. ละลายตะกอนด้วย H_2SO_4 เข้มข้น 1-2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดจุกเอียงคว่ำไปมาจนตะกอนละลายหมดไป

หมายเหตุ ขั้นตอนที่ 3 นี้หากยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ก็อาจเก็บตัวอย่างไว้ในที่เย็นและไม่ถูกแสงสว่าง แล้วทำการวิเคราะห์ในภายหลังแต่ไม่ควรเกิน 6 ชั่วโมง

4. ตวงสารละลายจากขวด BOD 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ใน flask ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. ติเตรทด้วยสารละลาย $Na_2S_2O_3$ 0.025 N จนได้สีเหลือง หยดน้ำแป้ง 2-3 หยด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินติเตรทต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินหมดไปบันทึกปริมาตรของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไป

การคำนวณ

ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละ ลายในน้ำ เท่ากับปริมาณ (ลูกบาศก์เซนติเมตร) ของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ไป คูณด้วย 2

วิธีวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) โดยใช้เครื่องมือ pH meter (ยี่ห้อ METTLER DALTA รุ่น 340)

มีขั้นตอนดังนี้คือ

1. การเตรียมเครื่องมือ (calibrate)

1.1 กดปุ่มเปิดเครื่อง

1.2 กดปุ่ม auto read

1.3 กดปุ่ม cal

1.4 ล้างหัวจุ่มอิเลคโตรด (electrode) ด้วยน้ำกลั่น แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษเยื่อ แล้วจุ่มในบัฟเฟอร์ พีเอช (pH) 4.01 รอให้มีสัญญาณเสียงเตือน

1.5 กดปุ่ม cal

1.6 กระทำเช่นเดียวกับข้อ 4 แต่ใช้บัฟเฟอร์ พีเอช 7.00

1.7 กดปุ่ม read เพื่อวัดค่า พีเอช ของน้ำตัวอย่าง

2. การวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

2.1 ล้างหัวจุ่มอิเลคโตรด ด้วยน้ำกลั่น แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษเยื่อ

2.2 จุ่มหัวจุ่มอิเลคโตรด ลงในน้ำตัวอย่าง แล้วรอสัญญาณเตือน

2.3 อ่านค่า พีเอช ที่วัดได้

2.4 กดปุ่ม read และทำตามข้อ 2.2 และ 2.3 เมื่อต้องการวัดค่าพีเอชของน้ำตัวอย่างต่อไป

การหาความกระด้าง (Hardness) ของน้ำ

สารเคมีและวิธีการเตรียมสารละลาย

1. Indicator

ละลาย Hydroxylamine hydrochloride ($NH_2OH.HCl$) 4.5 กรัม และ Eriochrome black T 0.5 กรัม ละลายในเอทธิลแอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) 70% จนได้ปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. Standard sodium ethylenediamine tetraactate (EDTA) ละลาย EDTA 4 กรัม และ Magnessium chloride ($Mg\ Cl_2.6H_2O$) 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3. Standard calcium solution

ชั่ง anhydrous calcium carbonate ($CaCO_3$) 1 กรัม ค่อย ๆ ละลายใน Hydrochloric acid เจือจางด้วยน้ำกลั่น 50% จนได้สารละลายใสหรือจนกระทั่ง $CaCO_3$ หมดไป แล้วเติมน้ำจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่ง 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของสารละลาย = 1 มิลลิกรัมของ $CaCO_3$

4. Buffer solution

ละลาย Ammonium chloride (HN_4Cl) 67.5 กรัมใน Ammonium hydroxide (NH_4OH) 570 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

วิธีการตรวจความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

1. ดูดสารละลาย calcium solution มา 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงใน flask ขนาด 125 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. เติม buffer solution ลงไปประมาณ 1-2 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้ผสมกัน

3. หยด indicator ลงไปประมาณ 6 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีม่วงแดง

4. ติเตรทด้วยสารละลาย EDTA ทีละน้อย จนได้สารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงิน

5. จากนั้นทำการปรับสารละลาย EDTA โดยใช้น้ำกลั่นเพื่อให้ 1 ลูกบาศก์-เซนติเมตร ของ EDTA เท่ากับ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของสารละลาย calcium solution คือถ้าใช้ calcium solution 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก็จะต้องติเตรทด้วยสารละลาย EDTA 50 ลูกบาศก์เซนติเมตรเช่นกัน

วิธีหาค่าความกระด้างของตัวอย่างน้ำ

1. นำตัวอย่างน้ำมา 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงใน flask ขนาด 125 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. เติม buffer solution 1-2 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้ผสมกัน

3. หยด indicator ลงไปประมาณ 6 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีม่วงแดง

4. ติเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน EDTA ที่ปรับความเข้มข้นแล้วจนถึง end point ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนสีจากม่วงแดงเป็นน้ำเงิน

5. บันทึกปริมาตรของสารละลาย EDTA ที่ใช้ไปเป็น ลูกบาศก์เซนติเมตร

การคำนวณ :

ความกระด้างของน้ำ (เป็นมิลลิกรัม/ลิตรของ $CaCO_3$) = ปริมาตรของสารละลาย EDTA คูณด้วย 20

วิธีวิเคราะห์หาค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) ของน้ำ

สารเคมีที่ใช้และวิธีการเตรียมสารละลาย

1. Standard sodium carbonate solution 0.2 N เตรียมเช่นเดียวกับการหา free CO_2

2. Standard sulphuric acid solution (H_2SO_4) 0.2 N ละลาย H_2SO_4 6.00 ลูกบาศก์-เซนติเมตร ในน้ำกลั่น (ที่ต้มเดือดใหม่ ๆ แล้วปิดฝาทำให้เย็น) จนได้ปริมาตรครบ 1,000 ลูก-บาศก์เซนติเมตร สารละลายน้ำ H_2SO_4 นี้มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 N

3. methyl red indicator ละลาย Methyl red 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น (deionized water) จนได้ปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4. Phenolphtalin indicator ละลาย Phenolphthalin 0.5 กรัม ในเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% จนได้ปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. Methyl orange indicator ละลาย Methyl orange 0.5 กรัมในน้ำกลั่น (deionized water) จนได้ปริมาตรครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

วิธีการตรวจความเข้มข้นของสารละลาย

1. ดูดสารละลาย Na_2CO_3 0.2 N. 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงใน ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 125 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. หยด Methyl red indicator 5 หยด เขย่าให้ผสมกัน จะได้สารละลายสีเหลือง

3. ติเตรทด้วยสารละลาย H_2SO_4 จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลาประมาณ 3 นาที เพื่อไล่ CO_2 ให้หมด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอีกครั้งหนึ่ง

5. ติเตรทด้วยสารละลาย H_2SO_4 ต่อไปอีกจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู อีกครั้งหนึ่ง

6. บันทึกปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 ทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย } H_2SO_4 = \frac{0.2 + 25}{\text{ปริมาตร ของสารละลาย } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไป}}$$

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 ให้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 N โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 : ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 : ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 : ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 : ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

วิธีการหาค่าความเป็นด่างของตัวอย่างน้ำ

1. ตวงตัวอย่างน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงใน flask ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. หยด Phenolphthalein indicator 10 หยด เขย่าให้ผสมกัน

- ถ้าสารละลายใสแสดงว่า Phenolphthalein alkalinity = 0 นั่นคือ ในน้ำไม่มีสารประกอบคาร์บอเนต ($CO_3^{=}$ = 0)

- ถ้าสารละลายมีสีชมพู แสดงว่าในตัวอย่างน้ำมีสารประกอบของคาร์บอเนตละลายอยู่ นั่นคือ phenolphthalein alkalinity > 0 ให้ติเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N ที่ใช้ไป phenolphthalein alkalinity (ppm) = ปริมาตร (ลูกบาศก์เซนติเมตร) ของสารละลาย 0.02 N ที่ใช้ไปคูณด้วย 10

3. นำสารผสมจากข้อ 2 มาหยด methyl orange 5 หยด เขย่าเพื่อให้ผสมกันจะได้

สารละลายสีเหลือง

4. ติเตรทด้วยสารละลาย H_2SO_4 0.02 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้ม จดปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 ทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณ

Total alkalinity (ppm) = ปริมาตรของ H_2SO_4 ทั้งหมดคูณด้วย 10

Methyl orange alkalinity (ppm) = Total alkalinity-phenolphthalein alkalinity

หมายเหตุ

เนื่องจากในการติเตรทด้วย indicator ดังกล่าว การมองเห็นสีที่เปลี่ยนแปลงไปค่อนข้างสังเกตได้ยาก จึงอาจมีข้อผิดพลาดขึ้นได้ในผู้ปฏิบัติแต่ละคน ดังนั้นวิธีการติเตรท โดยใช้เครื่องวัด pH สำหรับตรวจสอบว่าถึง end point หรือไม่ จึงให้ค่าที่ถูกต้องแน่นอนกว่า โดยติเตรทด้วยกรดจนถึงค่า pH 4.5 (ระหว่าง 4.3 ถึง 4.7) บันทึกจำนวนปริมาตรกรดที่ใช้ไปแล้วคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{Alkalinity (mg/l } CaCO_3) = \frac{A \times N \times 50{,}000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

A = ปริมาตร (ml) ของ H_2SO_4 ที่ใช้ไป

N = นอร์มัลลิตี้ของ H_2SO_4 ซึ่งเท่ากับ 0.02 N

ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง = 100 ml

ดังนั้น $\text{Alkalinity} = \frac{\text{ปริมาตรของ } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้} \times 0.02 \times 50{,}000}{100}$

ซึ่งเท่ากับ ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ คูณด้วย 10 นั่นเอง

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายประกอบ เส้งสีแดง

วัน เดือน ปี เกิด 20 กุมภาพันธ์ 2509

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วท.บ. (ศึกษาศาสตร์) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป	ม. สงขลานครินทร์	2531

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน ตำแหน่งอาจารย์ 1 สังกัดกรมกองทุนและสวัสดิการสำนักงานคณะกรรมการการศึกษาเอกชน กระทรวงศึกษาธิการ ปฏิบัติราชการที่ โรงเรียนอัตตัรกียะห์อิสลามียะห์ อำเภอเมืองนราธิวาส จังหวัดนราธิวาส