

ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร  
การรอดตาย องค์กรประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์กรประกอบเลือดและ  
การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกำพัน (*Clarias nieuhofii*)

วันวิภา หนูมา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา  
มหาวิทยาลัยทักษิณ

2555



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา  
มหาวิทยาลัยทักษิณ

ชื่อวิทยานิพนธ์ : ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์ประกอบเลือดและ การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)

ชื่อ – ชื่อสกุลผู้ทำวิทยานิพนธ์ : นางสาววันวิภา หนูมา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์

(อาจารย์ ดร.สุภฎา ศิริรัฐนิคม)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แจ่มจันทร์ เพชรศิริ)

ประธานที่ปรึกษา

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

(อาจารย์ ดร.สุภฎา ศิริรัฐนิคม)

กรรมการที่ปรึกษา

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

กรรมการ

(อาจารย์ ดร.นเรศ ช้วนยุค)

กรรมการ

มหาวิทยาลัยทักษิณอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยทักษิณ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมภพ อินทสุวรรณ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยทักษิณ



## บทคัดย่อ

ชื่อวิทยานิพนธ์ : ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์กรประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์กรประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)

ชื่อ-สกุลผู้ทำวิทยานิพนธ์ : นางสาววันวิภา หนูมา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อาจารย์ ดร.สุกัญญา ศิริรัฐนิคม และ

รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง

ปริญญาและสาขาวิชา : ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษาที่สำเร็จ : 2554

ศึกษาผลของวิตามินซีและอีในอาหารต่อการเจริญเติบโต องค์กรประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) โดยเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 200 ppm และวิตามินอี 3 ระดับ คือ 0, 50 และ 100 ppm เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ระดับของวิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโต โดยกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี ( $p < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี ไม่เสริมวิตามินอี และกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 ppm มีปริมาณโปรตีนในร่างกายต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น ขณะที่ปริมาณไขมันมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี วิตามินซีและวิตามินอีมีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน โดยปริมาณของวิตามินซีในระดับมีแนวโน้มลดลง เมื่อระดับของวิตามินอีในอาหารเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีปริมาณวิตามินซีในระดับน้อยที่สุด ขณะที่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 200 ppm โดยไม่เสริมวิตามินอี มีปริมาณวิตามินซีในระดับมากที่สุด ( $p < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณวิตามินอีในระดับน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm ( $p < 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าฮีโมโกลบินน้อยกว่าปลาที่ได้รับวิตามินซีทุกระดับ ( $p < 0.05$ ) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าปลาที่ได้รับวิตามินอีทุกระดับ ( $p < 0.05$ ) ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 200 ppm ( $p > 0.05$ ) การศึกษาพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อพบความผิดปกติของเซลล์คันดารีลามลลึ ในกลุ่มปลาที่ขาดวิตามินซี โดย เซลล์บุผิวเหงือกมีการแยกตัว และเกิดการแบ่งเซลล์มากผิดปกติของเซลล์บุผิวบริเวณเซลล์คันดารี ลามลลึ จากผลการศึกษาข้างต้นสรุปได้ว่าวิตามินซีและอีที่ 50 ppm เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพัน

## Abstract

Thesis Title : Effects of Vitamin C and E on Growth, Feed Conversion Ratio, Survival, Body Composition, Blood Components and Histological Changes of Nieuhofii' s Catfish (*Clarias nieuhofii*)

Student's Name : Miss Wanwipa Nooma

Advisory Committee : Dr.Suphada Kiriratnikom and

Assoc.Prof. Dr.Wutiporn Phromkunthong

Degree and Program : Master of Science in Biology

Academic Year : 2011

Studies on the effects of dietary vitamin C and E on growth, body composition and histological changes in Nieuhofii' s Catfish (*Clarias nieuhofii*), by feeding the fish with four levels of vitamin C (0, 50, 100 and 200 ppm) and each with three levels of vitamin E (0, 50 and 100 ppm) for 10 weeks. Fish fed test diets without vitamin C supplementation showed the lowest growth when compared to the groups fed vitamin C supplemented diets ( $p<0.05$ ). The groups of fish fed test diet without vitamin C or vitamin E supplementation, and the group received 50 ppm vitamin C supplements had lower crude protein contents compared to other treatments. The highest ash content found in fish fed diets without vitamin C. Levels of vitamin C and vitamin E showed interaction, as total vitamin C in liver tended to decrease if vitamin E in diet increased. Lowest liver vitamin C content found in the fish fed diets without vitamin C, while the fish fed 200 ppm vitamin C but without vitamin E supplementation had the highest liver vitamin C content ( $p<0.05$ ). Fish fed diets without vitamin E had lower liver vitamin E contents than those fed 50 ppm vitamin E supplements ( $p<0.05$ ). Lower hemoglobin found in fish fed diets without vitamin C supplementation compared to all groups fed vitamin C supplement ( $p<0.05$ ), whereas, lower red blood cell found in fish fed test diet without vitamin E supplementation compared to those fed vitamin E supplemented diet ( $p<0.05$ ), diets without vitamin C supplementation resulted in lower total white blood cell compared to the fish fed 200 ppm vitamin C supplemented diets ( $p<0.05$ ). Histological studies showed severe detachment of respiratory epithelium and hyperplasia of epithelial cell in gill filament. These results indicated that the level of vitamin C and E at 50 ppm was sufficient for Nieuhofii's Catfish growth.

## แหล่งทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการ  
วิจัยแห่งชาติ (วช.) กลุ่มเรื่องที่ 5 การเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร งบประมาณที่ได้รับ  
การสนับสนุนจำนวน 130,000 บาท (หนึ่งแสนสามหมื่นบาทถ้วน) ปีงบประมาณ 2553

## ประกาศคุณูปการ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. สุภฎา ศิริรัฐนิคม ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา ช่วยเหลือ สนับสนุน แนะนำในการศึกษาและการทำวิจัย ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ จนกระทั่งวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ให้โอกาสในการศึกษา และกรุณาอบรมสั่งสอน ช่วยชี้แนะอันก่อให้เกิดความรู้ข้อคิดที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้ามากมาย

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แจ่มจันทร์ เพชรศิริ และอาจารย์ ดร. นเรศ ช้วนยุค ประธานและกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่เอื้อเพื่อสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดจนอาจารย์อานุช ศิริรัฐนิคม คุณกฤษณะ เรืองคล้าย คุณพันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร คุณปิยพงษ์ ทองคำหุ และคุณสุปราณี เนียมนวล ที่คอยช่วยสนับสนุนการทำวิจัยในหลาย ๆ เรื่องทำให้งานสำเร็จได้อย่างราบรื่นด้วยดี

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มอบทุนสนับสนุนค่าเล่าเรียน ทำให้ข้าพเจ้าได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท จนได้พบเจอประสบการณ์มากมายที่หาซื้อไม่ได้

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่มอบทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อน พี่น้องทุกคนข้างกายข้าพเจ้าที่เป็นแรงผลักดันและกำลังใจให้ข้าพเจ้าสามารถเผชิญปัญหาต่าง ๆ และแก้ไขให้ผ่านไปได้เป็นอย่างดี

วันวิภา หนูมา

## สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ .....	1
ภูมิหลัง .....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	2
สมมติฐานของการวิจัย .....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย .....	2
ขอบเขตของการวิจัย .....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
ปลาคุกลำพัน .....	4
อาหารสัตว์น้ำ .....	5
สารอาหาร .....	5
วิตามิน .....	6
วิตามินซี .....	6
ความสำคัญของวิตามินซีในปลา .....	12
วิตามินอี .....	15
ความสำคัญของวิตามินอีในปลา .....	20
3 วิธีดำเนินการวิจัย .....	23
ประชากร .....	23
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย .....	23
สารเคมีหลัก .....	24
การวางแผนการทดลอง .....	25
อาหารทดลอง .....	25
การเก็บรวบรวมข้อมูล .....	28
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ .....	30
4 ผลการวิจัย .....	31
ความผิดปกติภายนอกเนื่องจากอาการขาดวิตามิน .....	31
ผลการเจริญเติบโต .....	33

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย	
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน	
และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ .....	36
องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลา .....	41
องค์ประกอบเลือด .....	44
ปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้า .....	47
การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ .....	52
5 อภิปรายผล สรุปผล และข้อเสนอแนะ .....	57
อภิปรายผล .....	57
สรุปผล .....	64
ข้อเสนอแนะ .....	65
บรรณานุกรม .....	66
ภาคผนวก .....	75
ประวัติย่อผู้วิจัย .....	87

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 อัตราส่วนวัตถุดิบอาหารทดลอง .....	26
2 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง .....	27
3 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	34
4 น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหาร ทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	39
5 องค์ประกอบทางเคมีของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	42
6 องค์ประกอบเลือดของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	45
7 ปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้าของปลาคูกลำพันที่ได้รับ อาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	50

## สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1 การเปลี่ยนรูปจากกรดแอล-แอสคอร์บิก ไปเป็น กรดแอล-ดีไฮโดรแอสคอร์บิก .....	7
2 การดูดซึมของธาตุเหล็กในทางเดินอาหาร .....	8
3 การทำงานของกรดแอสคอร์บิกในปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน .....	9
4 การทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก .....	9
5 การทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ให้แก่คาร์นิทีนของวิตามินซี .....	11
6 การสังเคราะห์กรดแอสคอร์บิกผ่านทางวิถีกลูโคโนล เอซิด .....	12
7 ความแตกต่างระหว่างโทโคเฟอร์รอลและโทโคไตรอีนอล รวมทั้งชนิดของ สารทั้ง 2 กลุ่ม .....	16
8 เมแทบอลิซึมของแอลฟาโทโคฟีรอล .....	19
9 อาการตกเลือด และหูดกุดในปลาที่ขาดวิตามินซี .....	31
10 อาการตกเลือด หูดกุด และครีบกร่อนในปลาที่ขาดวิตามินซี .....	32
11 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับและไม่ได้รับวิตามินซี .....	32
12 น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	33
13 น้ำหนักที่เพิ่มของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็น ระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	37
14 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	37
15 ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	38
16 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	38
17 ปริมาณวิตามินซีที่มีในตับของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	48
18 ปริมาณวิตามินซีที่มีในไตส่วนหน้าของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	48

## สารบัญภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
19 ปริมาณวิตามินอีที่มีในตับของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ .....	49
20 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm .....	53
21 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm .....	53
22 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 100 ppm .....	54
23 เนื้อเยื่อปกติของเหงือกปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm .....	54
24 เนื้อเยื่อปกติของตับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm .....	55
25 เนื้อเยื่อปกติของตับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm .....	55
26 เนื้อเยื่อปกติของไตปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm .....	56
27 เนื้อเยื่อปกติของไตปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm .....	56

# บทที่ 1

## บทนำ

### ภูมิหลัง

ปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง พบส่วนใหญ่ในบริเวณป่าพรุ โดยมีการแพร่กระจายพันธุ์ในประเทศไทย พบที่จังหวัดนครราชสีมา ปัตตานี ยะลา สงขลา พัทลุง นครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี (ศราวุธ เจะโกล๊ะ, สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว, 2538 : 333) เนื่องจากเป็นปลาที่อาศัยเฉพาะถิ่นดังนั้นการบุกรุกหรือเปลี่ยนแปลงพื้นที่ป่าพรุเพื่อทำกิจกรรมอื่นๆ จึงอาจกระทบต่อประชากรปลาดุกลำพัน และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ (สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2548 : 11) นอกจากนี้ปลาดุกลำพันยังเป็นปลาที่นิยมบริโภคเนื่องจากมีรสชาติดีกว่าปลาดุกทั่วไป มีการจับจากธรรมชาติเพื่อการบริโภคเป็นปริมาณมาก จากการสำรวจพบว่าปลาดุกลำพันในธรรมชาติมีแนวโน้มลดลง (ศราวุธ เจะโกล๊ะ, สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว, 2538 : 343-344) จากสาเหตุข้างต้นทำให้มีความพยายามเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ปลา เป็นการช่วยแก้ปัญหาการลดลงของปลาดุกลำพันในธรรมชาติ และการเพาะขยายพันธุ์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงเชิงเศรษฐกิจ แต่เนื่องจากปลาดุกลำพันเป็นปลาชนิดใหม่ที่สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้จึงยังขาดข้อมูลต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยง และการขยายพันธุ์ (อุดมชัย อากาศ และ สุวรรณี โสกุลประกิจ, 2529 : 376-383) โดยเฉพาะข้อมูลด้านความต้องการสารอาหารของปลา จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีการศึกษาเฉพาะในด้านเทคนิคการเพาะฟัก และการอนุบาลลูกปลา ส่วนการศึกษาด้านอาหารมีเฉพาะในด้านของสารอาหารที่ให้พลังงาน เช่น การศึกษาผลของอาหารรูปแบบต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต และการรอดตายของปลาดุกลำพันวัยอ่อน (Kiriratnikom, Ruangklay, Choksawatdikorn, Anuchart and Kiriratnikom. Retrieved March 6, 2011, from <http://www.sci.soc.or.th>) คัพภะวิทยาของปลาดุกลำพัน (กฤษณะ เรืองคล้าย, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, พันชสิทธิ์ โชคสวัสดิกร, และอานูช คีรีรัฐนิคม. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://www.bio.sci.tsu.ac.th>) ระดับของโปรตีนในอาหารที่มีผลต่อปลาดุกลำพัน (Chessadapa, Phromkunthong and Kiriratnikom. 2009 : 240) และผลของระดับความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและการรอดตายของปลาดุกลำพันระยะปลาน้ำในบ่อคอนกรีต (พันชสิทธิ์ โชคสวัสดิกร, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานูช คีรีรัฐนิคม. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://www.bio.sci.tsu.ac.th>) เป็นต้น แต่ข้อมูลสารอาหารที่ไม่ให้พลังงาน ได้แก่ วิตามิน

และแร่ธาตุซึ่งนับว่าเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อสุขภาพและผลผลิตของปลานั้นยังไม่มีรายงานการศึกษา งานวิจัยนี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อตรวจสอบระดับความต้องการวิตามินซี และวิตามินอี ซึ่งเป็นวิตามินละลายน้ำที่ปลามีความต้องการสูง (Macrovitamin) และวิตามินละลายไขมันที่มีความสำคัญต่อสุขภาพของปลา นอกจากนี้ยังเป็นวิตามินที่มีความคงสภาพต่ำ อีกทั้งวิตามินทั้งสองยังมีความสัมพันธ์กันในการเสริมฤทธิ์แก่กันคือ วิตามินซีจะช่วยส่งเสริมการทำงานของวิตามินอีโดย เมื่อวิตามินอีจับกับอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจาก แอลฟา-โทโคเฟอรอล ( $\alpha$ -Tocopherol) เป็นอนุมูลโทโคเฟอรอล (Tocopheryl Radical) และเปลี่ยนต่อไปเป็น โทโคเฟอรอล ควินิน (Tocopheryl Quinine) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ของวิตามินอี แต่วิตามินซีสามารถจะเปลี่ยนให้กลับมาเป็นแอลฟา-โทโคเฟอรอลที่ทำหน้าที่ได้อีกครั้ง (Kohlmeier, 2003 : 490-499) การวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มองค์ความรู้ในการปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพัน เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมให้การเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพันประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของวิตามินซีและอีที่มีต่อปลาดุกลำพันในการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ
2. เพื่อศึกษาถึงผลของวิตามินซีและอีในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีและอีในตัวปลา

### สมมติฐานของการวิจัย

ระดับของวิตามินซีและอีในอาหารที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์ประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุกลำพัน

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ทราบถึงระดับความต้องการวิตามินซีและอีที่เหมาะสมในปลาดุกลำพัน ตลอดจนผลที่เกิดขึ้นในการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ และนำผลการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาดุกลำพันให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

### ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาผลของวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต (Ascorbyl-2-Polyphosphate) และวิตามินอีในรูปดีแอล-แอลฟาโทโคเฟอริล อะซิเตด (DL- $\alpha$  Tocopheryl Acetate) ต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์กรประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์กรประกอบเลือด ปริมาณวิตามินซีและอีในตับและไตส่วนหน้า และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุกลำพันในระยะปลาน้ำ น้หนักเฉลี่ย 1 กรัม/ตัว โดยใช้วิตามินซี 4 ระดับ คือ 0, 50, 100 และ 200 ppm และวิตามินอี 3 ระดับ คือ 0, 50 และ 100 ppm มีทั้งหมด 12 หน่วยทดลอง เลี้ยงในตู้ทดลอง จำนวน 15 ตัว/ตู้ทดลอง เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ปลาคูกลำพัน

##### ลักษณะและที่อยู่อาศัย

ปลาคูกลำพันเป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด มีครีบหลัง ครีบหาง และครีบกันเชื่อมต่อกัน จัดอยู่ในกลุ่มปลากินเนื้อ ลำตัวค่อนข้างยาวและมีจุดขาวเรียงขวางกับลำตัว ลักษณะสีของลำตัวจะเปลี่ยนไปตามอายุ ขนาด และสภาพแวดล้อมมีถิ่นที่อยู่จำกัดเฉพาะในเขตป่าพรุที่รกทึบ มีกระแสน้ำไหลเอื่อย ๆ หรือเป็นแอ่งน้ำค่อนข้างนิ่งมีต้นไม้ปกคลุม อยู่ในสภาพดินหรือน้ำที่เป็นกรด มีซากพืชหรือใบไม้ทับถม มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำ (ศราวุธ เจะโสีะ, สุวิมล สิริรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว. 2538 : 332)

##### อนุกรมวิธาน

Common Name : Nieuhofii' s Catfish

Kingdom Animalia

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Class Actinopterygii

Order Siluriformes

Family Clariidae

Genus *Clarias*

Species *nieuhofii*

(Valenciennes. Retrieved March 6, 2009, from <http://www.fishbase.org>)

จากการที่ปลาคูกลำพันเป็นปลาที่อาศัยเฉพาะถิ่นในเขตป่าพรุ อีกทั้งเป็นปลาที่นิยมบริโภค เนื่องจากปัญหาการบุกรุกพื้นที่ การตัดจับสัตว์น้ำ ส่งผลให้ปัจจุบันพบปลาคูกลำพันจำนวนน้อยในธรรมชาติ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ จึงมีการศึกษาเพื่อเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพัน เพื่อปล่อยพันธุ์ปลาคืนสู่ธรรมชาติ โดยการศึกษาเกี่ยวกับระบบการเลี้ยง ความต้องการอาหาร และปริมาณสารอาหารทั้งที่ให้พลังงานและไม่ให้พลังงานที่เหมาะสม จะช่วยให้การเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพันมีความประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น

## อาหารสัตว์น้ำ

อาหารสัตว์น้ำ หมายถึง สิ่งที่สัตว์น้ำบริโภคเข้าไปแล้วไม่ก่อให้เกิดโทษ แต่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย โดยช่วยทำให้ร่างกายเจริญเติบโต ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ให้พลังงานทำให้กระบวนการทำงานของร่างกายเป็นไปอย่างปกติ อาหารสัตว์น้ำมีส่วนสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการผลิตสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับปริมาณและคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ต้นทุนประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวกับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งผู้เลี้ยงจะต้องทำความเข้าใจในเรื่องของอาหารและการให้อาหารที่ถูกต้อง การให้อาหารอย่างถูกต้องและเหมาะสมจึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการเลี้ยงสัตว์น้ำให้ประสบความสำเร็จหากสัตว์น้ำได้รับอาหารที่มีคุณภาพดี มีสารอาหารครบถ้วนและเพียงพอจะส่งผลให้มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง มีความต้านทานต่อโรคสูง เจริญเติบโตเร็วและให้ผลผลิตสูง ดังนั้นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องคำนึงถึงคุณค่าและปริมาณที่เหมาะสมของอาหาร เพื่อให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตดี มีสุขภาพแข็งแรง (มงคล ว่องสมบัติ. 2548 : 101 ; นฤมล อัสวเกษมณี. 2550 : 21)

สัตว์น้ำหรือสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ต้องการอาหารบริโภคเพื่อดำรงชีวิต มีการเจริญเติบโตและสามารถแพร่ขยายพันธุ์ ถ้าสัตว์น้ำได้รับอาหารอย่างเพียงพอและเป็นอาหารที่มีคุณภาพดี สัตว์น้ำก็จะมีมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว สุขภาพดี แข็งแรง และมีประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ที่ดี ซึ่งเป็นสิ่งที่อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องการ อาจกล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะประสบผลสำเร็จหรือไม่ขึ้นอยู่กับคุณภาพ ปริมาณ และราคาของอาหารสัตว์น้ำเป็นสำคัญ

อาหารสัตว์น้ำมีผลต่อสุขภาพสัตว์น้ำหลายด้าน การที่สัตว์น้ำได้รับสารอาหารไม่เพียงพอหรือในภาวะบกพร่องทางโภชนาการ ย่อมทำให้การเจริญเติบโตของร่างกายไม่สามารถดำเนินต่อเนื่องไปได้ปกติ เกิดความผิดปกติของร่างกายทั้งทางด้านโครงสร้าง รูปร่าง และขนาด ถ้าเหตุการณ์เช่นนี้เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำในระยะวัยอ่อน ย่อมส่งผลกระทบต่อเนื่องถึงการทำงานของสมองและระบบประสาทในระยะต่อมา บางกรณีอาจรุนแรงจนทำให้การทำงานของสมองและระบบประสาทเสื่อมได้ (Halver and Hardy. 2002 : 43-49)

## สารอาหาร

สารอาหาร (Nutrients) หมายถึง สารเคมีที่อยู่ในอาหาร ซึ่งเมื่อสัตว์น้ำบริโภคเข้าไปแล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการมีชีวิต สามารถจำแนกได้ 2 กลุ่ม คือ

สารอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย ได้แก่ สารประกอบอินทรีย์ จำพวก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน

สารอาหารที่ไม่ให้พลังงานแก่ร่างกาย ได้แก่ วิตามิน และสารประกอบอนินทรีย์ จำพวกแร่ธาตุ (Halver and Hardy. 2002 : 675-688)

## วิตามิน

เป็นสารอินทรีย์ที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์หรือสารตั้งต้นของปฏิกิริยาต่าง ๆ ในกระบวนการเมแทบอลิซึม แม้จะต้องการในปริมาณน้อยแต่หากได้รับในปริมาณที่ไม่เพียงพอจะทำให้เกิดโรคที่เกิดจากการขาดสารอาหาร (Nutrition Related Diseases) การเจริญเติบโตและสุขภาพอ่อนแอ ซึ่งสามารถแบ่งวิตามินได้ 2 ประเภทตามคุณสมบัติการละลายคือ

1. วิตามินละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ ดี อี และเค

2. วิตามินละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินบี วิตามินซี โคลีน (Choline) ไนอะซิน (Niacin) อินโนซิทอล (Inositol) และไบโอติน (Biotin) (ชูติมา ตันติจิตติ. 2549 : 72)

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ จะให้ความสำคัญกับวิตามินซีและอี เนื่องจากเป็นวิตามินละลายในน้ำและในไขมันตัวสำคัญที่มีความสำคัญต่อสุขภาพสัตว์น้ำ มีความคงสภาพต่ำ และมีผลต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และระบบสืบพันธุ์

## วิตามินซี

วิตามินซี (Vitamin C) มีชื่อทางเคมีว่ากรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid) คำว่า “Ascorbic” ย่อมาจากรากศัพท์ว่า “Anti-Ascorbutic Factor” ซึ่งเป็นชื่อเดิมของวิตามินซี ที่พบในน้ำมะนาว และเนื่องจากสารนี้มีลักษณะทางเคมีเป็นกรด จึงเติมคำว่ากรดนำหน้าลงไปด้วย ลักษณะคล้ายน้ำตาลกลูโคส (ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 353-387)

### คุณสมบัติ

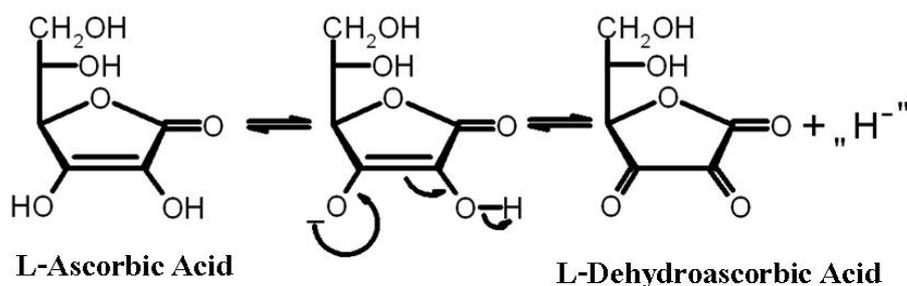
#### 1. ทางกายภาพ

เป็นผงสีขาว ผลึกรูปเข็มและเกล็ดเล็กๆ ละลายน้ำได้ดี สลายตัวได้ง่ายโดยแสงสว่าง ความร้อน ต่างและสารออกซิไดส์ แต่คงทนต่อกรด

#### 2. ทางเคมี

วิตามินซีมีโมเลกุลขนาดเล็ก โมเลกุลของวิตามินซีค่อนข้างไม่อยู่ตัว ดังนั้นในแหล่งธรรมชาติจึงพบวิตามินซีอยู่ในรูปรีดิวส์ (Reduced Form) คือ แอล-แอสคอร์บิก เอซิด (L-ascorbic

Acid) และรูปออกซิไดส์ (Oxidised Form) คือ ดีไฮโดรแอสคอร์บิก เอซิด (Dehydroascorbic Acid) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนรูปจาก กรดแอสคอร์บิก ไปเป็น กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (Verde. Retrieved March 18, 2009, from <http://commons.wikimedia.org>)

วิตามินซีเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย โดยการเร่งของสารออกซิไดส์ ซึ่งมักเป็นสารประกอบออกซิเจนที่ว่องไว เช่น สารไขมันเปอร์ออกไซด์ รวมทั้งไอออนเหล็กและไอออนทองแดง วิตามินซีจะเปลี่ยนจากกรดแอสคอร์บิก เป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก นั่นคือ เมื่อถูกออกซิไดส์หมู่ไฮดรอกซิลทั้งสองในวงแหวนของวิตามินซีจะเปลี่ยนเป็นหมู่คาร์บอนิลบริเวณคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ทำให้วิตามินซีมีคุณสมบัติรีดิวส์ได้ดี อีกทั้งการที่วิตามินซีเสียสภาพได้ง่ายการผสมวิตามินซีในอาหารส่วนมากจึงนิยมใช้ในรูปแบบของอนุพันธ์วิตามินซี เนื่องจากยังคงมีฤทธิ์ของวิตามินซีและมีความคงทนดีกว่า

อนุพันธ์ของวิตามินซีมีหลายชนิด เช่น แอล-แอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต (L-Ascorbyl-2-Sulfate) แอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต (L-Ascorbyl-2-Monophosphate) แอล-แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต (L-Ascorbyl-2-Polyphosphate) วิตามินซีเกลือไขมัน และวิตามินซีเกลือบซิลิโคน เป็นต้น แต่รูปแบบที่นิยมใช้ผสมในอาหารสัตว์น้ำมี 2 ชนิด คือ แอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต และแอล-แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต เนื่องจาก มีความคงทนและร่างกายสามารถดูดซึมเพื่อนำไปใช้ได้ดีที่สุด (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; Halver and Hardy. 2002 : 99-107)

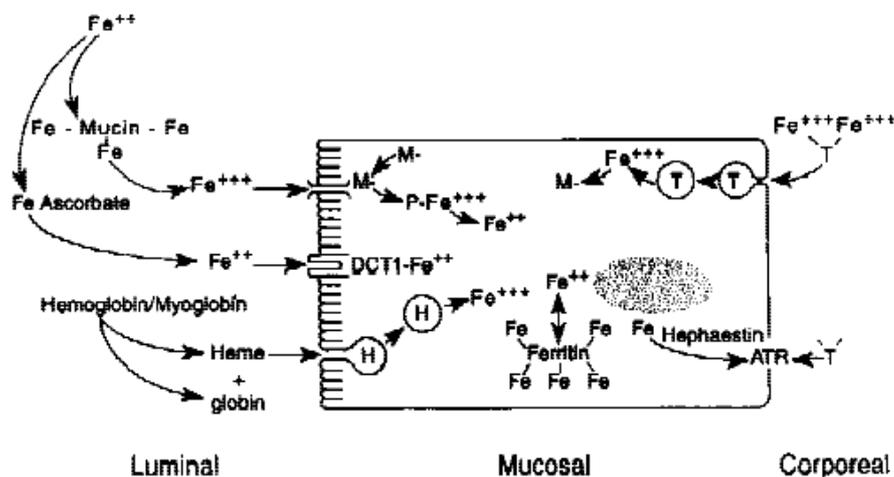
### 3. ทางชีวภาพ

วิตามินซีมีบทบาทต่อเมแทบอลิซึมของสารอื่นๆ ในร่างกาย และทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพหลายประการ ดังต่อไปนี้

#### 3.1 ช่วยในการดูดซึมของธาตุเหล็กในทางเดินอาหาร

วิตามินซี ช่วยทำให้อิออนเหล็กอยู่ในสภาพของเฟอร์รัส (Ferrous,  $Fe^{2+}$ ) ซึ่งดูดซึมเข้าสู่เซลล์บุผิวของลำไส้ได้ และยังช่วยทำให้เหล็กในรูปเฟอร์ริก (Ferric,  $Fe^{3+}$ ) ที่เกาะกับโปรตีน

ทรานเฟอร์ริน (Transferrin) ในพลาสมาหลุดออกเป็นอิสระในรูปของเฟอร์รัสให้ไปเกาะกับเฟอร์ริทิน (Ferritin) ในเซลล์ตับและเซลล์ทั่วไป (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; Conrad and Umbreit. 2000 : 291) แสดงดังภาพที่ 2

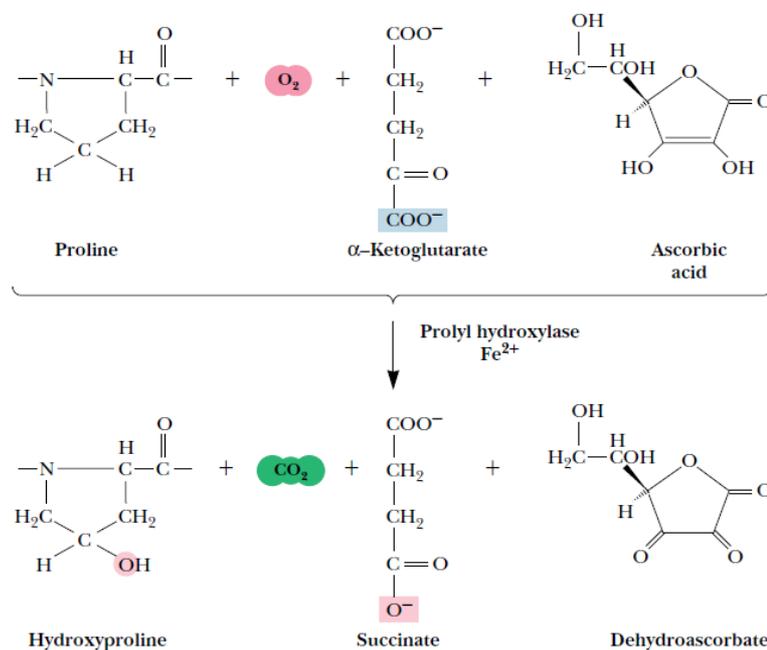


ภาพที่ 2 การดูดซึมของธาตุเหล็กในทางเดินอาหาร (Conrad and Umbreit. 2000 : 291)

### 3.2 เป็นโคแฟกเตอร์ในขบวนการสร้างคอลลาเจน

การสร้างพันธะ (Cross-Links) ภายในเส้นใยคอลลาเจน จำเป็นต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์โปรติล ไฮโดรอกซิเลส (Protyl Hydroxylase) และไลซิล ไฮดรอกซิเลส (Lysyl Hydroxylase) ในการผลิตไฮดรอกซีโพรลีน (Hydroxyproline) และไฮดรอกซีไลซีน (Hydroxylysine) เพื่อให้คอลลาเจนสมบูรณ์ เหนียวและแข็งแรง สามารถเป็นเยื่อหุ้มรองรับ (Basement Membrane) ที่ดีให้แก่เส้นเลือดฝอย และการเกาะพอกของเกล็ดแร่กับเยื่อหุ้มรองรับในกระดูกและฟัน ทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเส้นเลือดแข็งแรงไม่เปราะและแตก

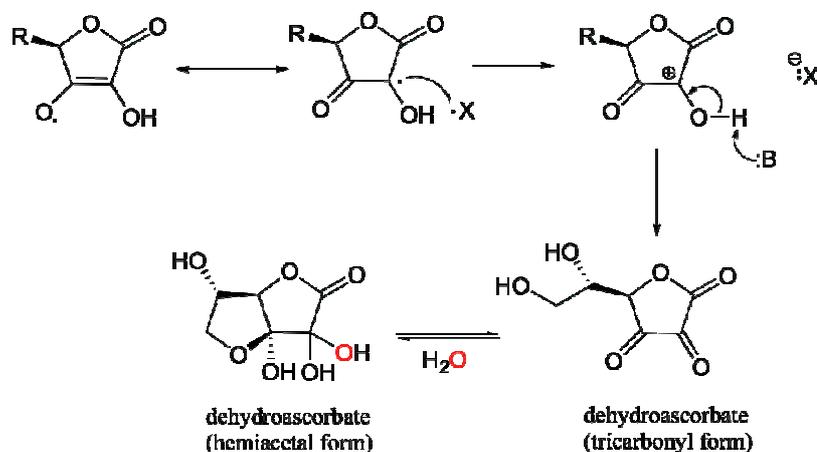
กลไกการออกฤทธิ์ของกรดแอสคอร์บิก คือ ช่วยรักษาสภาพของอ็อนเฟอร์รัส (Ferrous Ion) ซึ่งเป็นตัวทำปฏิกิริยา (Activator) ของไฮดรอกซิเลส (Hydroxylases) ไม่ให้ถูกออกซิไดส์กลายเป็นเฟอร์ริกซึ่งจับกับไฮดรอกซิเลสอย่างแน่นหนา ทำให้เอนไซม์เสียสภาพจึงไม่เกิดไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) ทำให้เนื้อเยื่อพังผืดไม่แข็งแรง แสดงดังภาพที่ 3 (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 353-387 ; Garrett and Grisham. 1999 : 176)



ภาพที่ 3 การทำงานของกรดแอสคอร์บิกในปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชัน (Garrett and Grisham, 1999 : 176)

### 3.3 เป็นตัวต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

วิตามินซี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical) ซึ่งเป็นสารที่ว่องไวมากในปฏิกิริยาออกซิเดชัน เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิกซึ่งทำให้เซลล์เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว โดยหมู่ไฮดรอกซิลบริเวณคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 จะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปคาร์บอนิล หรือกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก แสดงดังภาพที่ 4 (Soderberg, 2010 : 328)



ภาพที่ 4 การทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก (Soderberg, 2010 : 328)

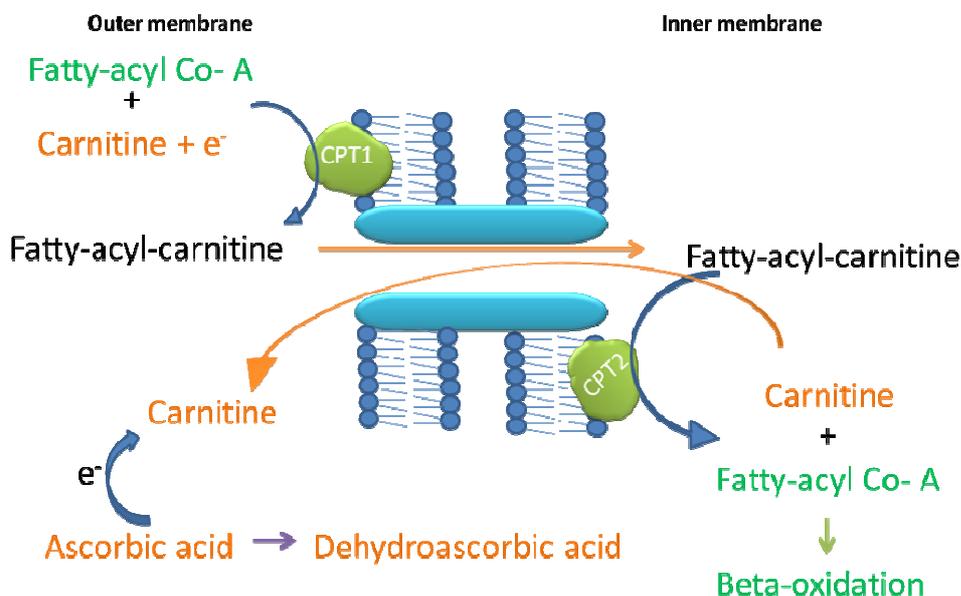
วิตามินซี สามารถป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างที่เป็นน้ำและน้ำมันได้ดี โดยทำงานร่วมกับวิตามินอี และทำให้วิตามินอี มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในตัวอย่างที่เป็นไขมันได้นานขึ้น ช่วยรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ ต่อมต่าง ๆ และตับให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ช่วยต่อมหมวกไตและรังไข่ในการสร้างสเตียรอยด์ฮอร์โมน รักษาสภาพเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของกระดูก ฟัน และอวัยวะทั่วไปให้แข็งแรง ซ่อมแซมบาดแผลให้สมานแผลได้เร็วขึ้น ป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (Low Density Lipoprotein, LDL) (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 353-387)

### 3.4 ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน

วิตามินซี สะสมมากในเซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งช่วยในการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (Neutrophils) ในการกำจัดเชื้อโรคให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 353-387)

### 3.5 เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ในปฏิกิริยาเบตา-ออกซิเดชัน

วิตามินซี เป็นสารรีดิวซ์ (Reducing Agent) สำหรับการสังเคราะห์คาร์นิทีน (Carnitine) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่นำกรดไขมันเข้าสู่ไมโทคอนเดรียภายในเซลล์ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเบตา-ออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งคาร์นิทีนจะจับกับกรดไขมันโดยอาศัยคาร์นิทีนปาล์มิติลทรานเฟอร์เรส 1 (Carnitin Palmyltransferase 1) เพื่อเปลี่ยนเป็นแฟตตี-เอซิล-คาร์นิทีน (Fatty-Acyl-Carnitine) แล้วจึงเข้าสู่เมทริกซ์ (Matrix) ของไมโทคอนเดรีย จากนั้นคาร์นิทีนปาล์มิติลทรานเฟอร์เรส 2 (Carnitin Palmyltransferase 2) จะทำให้คาร์นิทีนและกรดไขมันหลุดออกจากกันซึ่งคาร์นิทีนจะขาดอิเล็กตรอน โดยจะรับอิเล็กตรอนจากวิตามินซีซึ่งทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ เพื่อให้คาร์นิทีนสามารถทำหน้าที่ได้ต่อไป แสดงดังภาพที่ 5 (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; Baker, ClareMcCormick and Robergs. 2010 : 10)

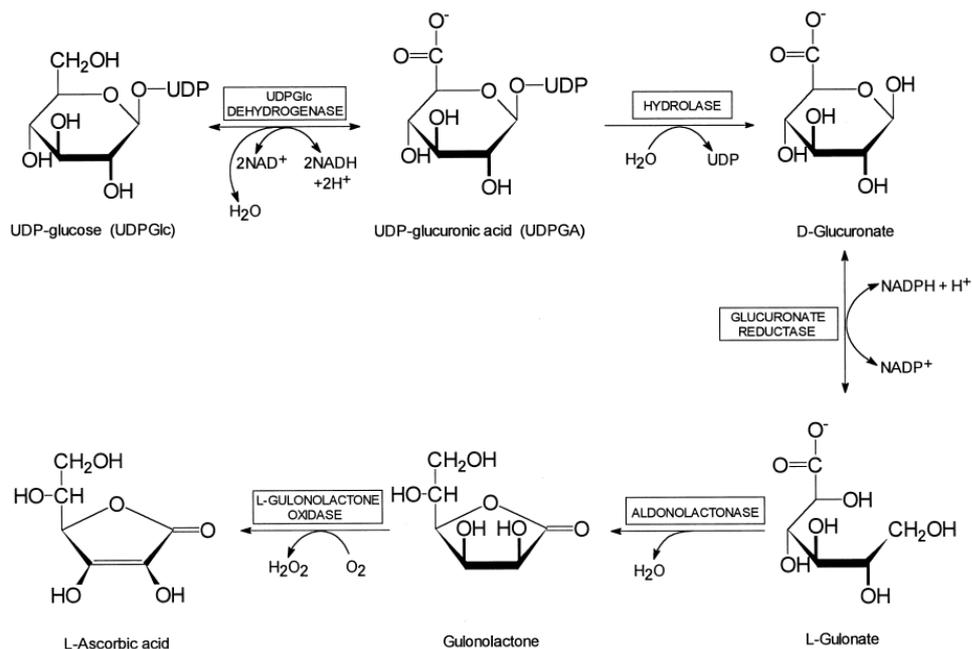


ภาพที่ 5 การทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ให้แก่คาร์นิตินของวิตามินซี (CPT1 : Carnitin Palmityltransferase1, CPT2 : Carnitin Palmityltransferase 2) (ดัดแปลงจาก Baker, ClareMcCormick and Robergs. 2010 : 10)

### การสังเคราะห์

ทั้งพืชและสัตว์ส่วนใหญ่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้จากดี-กลูโคส (D-Glucose) หรือ ดี-กาแลคโตส (D-Galactose) โดยทางวิถีกลูคูโรนิก เอซิด (Glucuronic Acid Pathway) ดังแสดงใน ภาพที่ 6 เริ่มต้นด้วยการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสไปเป็นกรดดี-กลูคูโรนิก (D-Glucuronic Acid) และถูกรีดิวส์เป็นแอล-กูลอนเนต (L-Gulonate) แล้วเปลี่ยนไปเป็นแอล-กูลโน-แกมมา-แลคโตน (L-Gulono- $\gamma$ -lactone) ซึ่งจะถูกรีดิวส์ไปเป็น 2-คีโต-แอล-กูลโนแลคโตน (2-Keto-L-Gulonolactone) โดยมีอัตราการสลายตัว (Rate Limiting Enzyme) ในการออกซิเดชัน คือแอล-กูลโน-แกมมา-แลคโตน ออกซิเดส (L-Gulono- $\gamma$ -lactone oxidase) จากนั้นจะมีการเปลี่ยนรูป (Isomerized) ไปเป็นแอล-แอสคอร์บิก เอซิด

สิ่งมีชีวิตกลุ่มไพรเมต (Primates) ปลา และ ครัสเตเชียน (Crustacea) ไม่สามารถสังเคราะห์ วิตามินซีขึ้นเองได้ เพราะขาดเอนไซม์แอล-กูลโน-แกมมา-แลคโตน ออกซิเดส ที่ใช้ในการเปลี่ยน 2-คีโต-แอล-กูลโนแลคโตน ไปเป็นแอล-แอสคอร์บิก เอซิด ดังนั้นสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้จึงจำเป็นต้อง ได้รับวิตามินนี้จากภายนอก (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 353-387 ; Banhegyi, Braun, Csala, Puskas and Mandl. 1997 : 794)



ภาพที่ 6 การสังเคราะห์กรดแอสคอร์บิกผ่านทางวิถีกลูคูโรนิก เอซิด (Banhegyi et al. (1997) : 794)

### การดูดซึม

การดูดซึมวิตามินซี เริ่มตั้งแต่ในปากบริเวณเยื่อ مخاطข้างแก้ม กระเพาะอาหารและลำไส้ การดูดซึมภายในปากจะเป็นการแพร่แบบพาสซีฟ (Passive Diffusion) ส่วนการดูดซึมในทางเดินอาหารจะเป็นไปอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ถ้าระดับวิตามินซีที่ได้รับมีปริมาณต่ำการดูดซึมจะเป็นแบบแอกทีฟเมดิเอท ทรานสปอร์ต (Active-Mediated Transport System) แต่หากปริมาณวิตามินซี ในอาหารที่ได้รับเข้าไปมีมากการดูดซึมจะลดลง (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 116-130 ; ศิริวรรณ สุทขจิตต์. 2550 : 353-387 ; Halver and Hardy. 2002 : 99-107)

### ความสำคัญของวิตามินซีในปลา

วิตามินซีมีผลต่อการเจริญเติบโต และการเมแทบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งหากปลาขาดวิตามินซีจะทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตช้า การสร้างกระดูกผิดปกติ กระพุ้งเหงือกผิดปกติ ซี่เหงือกบิดเบี้ยว ขากรรไกรผิดปกติ มีอาการตกเลือดที่ตา ปาก เพดานปาก กระพุ้งเหงือก ลำตัว ตับ ไต ลำไส้เล็ก และกล้ามเนื้อ (เจษฎา อิศหาะ. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://courseware.rmutl.ac.th>) โดยมีการศึกษาการเสริมวิตามินซีในอาหารปลาดังนี้

เอล เนกการ์และโลเวลล์ (EL Naggar and Lovell. 1991 : 1622-1626) ศึกษาการเสริมวิตามินซี 3 รูปแบบ ได้แก่ แอล-แอสคอร์บิก เอซิด แอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต และ

แอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต ที่ระดับ 0, 11, 22, 44, และ 132 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ในอาหารทุกสูตร เป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาคออเมริกัน (*Channel Catfish, Ictalurus punctatus*) กลุ่มที่เสริมวิตามินซีทุกระดับในรูปแอสคอร์บิล-2-เอซิด และแอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน ส่วนอัตราการเจริญเติบโตนั้นกลุ่มที่เสริมวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด และไม่พบอาการผิดปกติที่กระดูกสันหลังในกลุ่มที่เสริมวิตามินซีทุกระดับแต่จะพบอาการผิดปกติที่กระดูกสันหลังในกลุ่มที่ไม่เสริมวิตามินซี ส่วนคอลลาเจนในกระดูกที่ลดลงและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของเหงือกและตับเป็นตัวบ่งชี้ถึงการขาดวิตามินซี โดยพบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในเหงือกที่ชี้เหงือกบริเวณแซคคันดารี ลามลลี (Secondary Lamellae) มีการแบ่งตัวมากผิดปกติ และในตับพบเซลล์อาร์ชีนา (Ascini Cell) ตีบในตับอ่อน (Atrophied) ซึ่งแสดงในกลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีและกลุ่มที่เสริมวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต ที่ระดับต่ำ คล้ายกันกับการทดลองของ มูไร, แอนดริวส์ และเบาเินฟานด์ (Murai, Andrews and Bauernfeind. 1978 : 1761-1766) ศึกษาการใช้วิตามินซีในรูป แอสคอร์บิล-2-เอซิด วิตามินซีเคลือบเอทโทเคลิล (Ethocel Coated Ascorbic Acid) และแอสคอร์เบท-2-ซัลเฟต (Ascorbate-2-Sulfate) เสริมในอาหารปลาคออเมริกัน แบ่งเป็น 5 ระดับ คือ 25, 50, 75, 100 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารตามลำดับ เป็นเวลา 20 สัปดาห์ เพื่อดูผลการเจริญเติบโต การสะสมในเลือดและตับ พบว่า แอสคอร์บิล-2-เอซิด และวิตามินซีเคลือบเอทโทเคลิลที่ระดับ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ซึ่งอาหารที่เสริมวิตามินซีทั้ง 3 รูปแบบ ที่ระดับ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดอาการผิดปกติที่กระดูกสันหลัง ส่วนการเติบโตและประสิทธิภาพอาหาร กลุ่มที่เสริมวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล-2-เอซิด และวิตามินซีเคลือบเอทโทเคลิลที่ระดับ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารเพียงพอสำหรับทำให้มีค่าการเติบโตและประสิทธิภาพอาหารดีที่สุด และกลุ่มที่เสริมวิตามินซีที่ระดับ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีการสะสมของวิตามินซีในเลือดและตับมากที่สุด โดยวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล-2-เอซิด และวิตามินซีเคลือบเอทโทเคลิลมีการสะสมมากกว่ารูปแอสคอร์เบท-2-ซัลเฟต

สุกญา กิรีรัฐนิคมและวุฒิพร พรหมขุนทอง (2541 : 59-73) ศึกษารูปแบบของวิตามินซีในปลาคอดเหลือง (*Yellow Mystus, Mystus nemurus*) โดยเสริมวิตามินซีรูปแบบต่างๆ ในอาหาร ได้แก่ แอสคอร์บิล-2-เอซิด แอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต วิตามินซีเคลือบไขมัน และวิตามินซีเคลือบซิลิโคน โดยเสริมวิตามินซีทุกรูปแบบให้มีเนื้อวิตามินซี 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร พบว่า ปลาคอดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินซีแสดงอาการขาดวิตามินซีหลังจากเลี้ยงไปได้ 4 สัปดาห์ ในขณะที่ปลาที่

ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีรูปแบบต่างๆ ไม่แสดงอาการขาดวิตามินซี หลังจากสัปดาห์ที่ 10 พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการรอดตายของปลาที่เสริมแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต และ แอล-แอสคอร์บิล เอซิดสูงที่สุด อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีรูปแบบต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าเหล่านี้ต่ำที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ จากการตรวจสอบปริมาณวิตามินซีในตับและไตส่วนหน้า รวมทั้งการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของเนื้อเยื่อเหงือก ตับและไตส่วนหน้า เป็นสิ่งยืนยันถึงสภาวะขาดวิตามินซีในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินซี โดยที่เหงือกพบพยาธิสภาพการแยกตัวของเซลล์บุผิวเหงือก (Respiratory Epithelium) ของ เซลล์คันดารี ลาเมลลีย่างรุนแรง และพบการแบ่งเซลล์มากผิดปกติ (Hyperplasia) ตับพบช่องว่าง (Vacuole) ทั้งขนาดเล็กและใหญ่ภายในตับจนคั่นนิวเคลียส (Nucleus) ไปชิดขอบเซลล์ ส่วนในไตพบเซลล์บุผิวของท่อไต (Renal Tubule) เยื่อมนิวเคลียสของเซลล์เริ่มตาย (Pycnotic Nuclei) และเรโนล คอพัสเคิล (Renal Corpuscle) เยื่อมสภาพ โดยมีการเยื่อมสลายของโกลเมอรูลัส (Glomerulus) ปริมาณคอลลาเจนในกระดูกปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีรูปแบบต่าง ๆ มีค่าไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินซีมีปริมาณคอลลาเจนในกระดูกต่ำและมีความแตกต่างจากปลาในกลุ่มอื่น ๆ ปริมาณไฮดรอกซีโปรตีนในคอลลาเจนของปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด และ แอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ และมีค่าต่ำในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินซี เมื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในตับและไตส่วนหน้าพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอล-แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต และแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต มีการสะสมของวิตามินซีมากที่สุดคือ ที่ตับมีค่า  $145.88 \pm 1.97$  และ  $146.73 \pm 0.42$  ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ และที่ไตส่วนหน้ามีค่า  $96.85 \pm 1.37$  และ  $101.60 \pm 5.53$  ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้ แอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟตเป็นแหล่งของวิตามินซีที่ดี ที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโต อีกทั้งยังสามารถป้องกันการขาดวิตามินซีในปลากดเหลือองได้

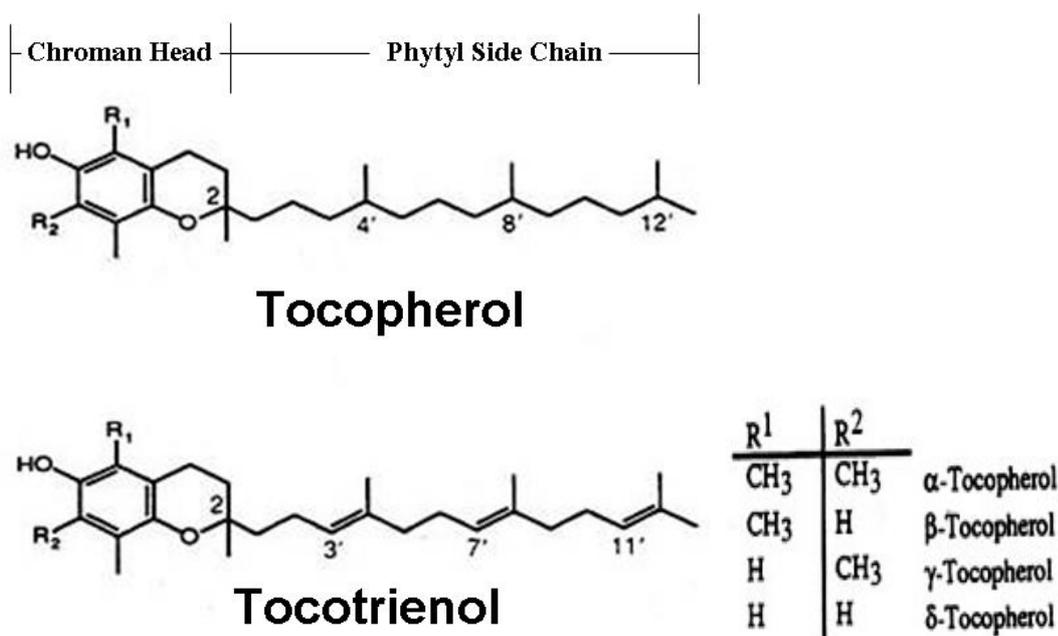
ซาฮูและมุกเคอร์จี (Sahoo and Mukherjee. 2003 : 65-76) ศึกษาวิตามินซีในอาหารที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันและสุขภาพของปลาชี่สกเทศ (Rohu, *Labeo rohita*) โดยศึกษาผลของวิตามินซีต่อความต้านทานพิษของอะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>) แบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> 1.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว กลุ่มที่ได้รับวิตามินซีปริมาณ 500 ppm ในอาหาร และกลุ่มที่ได้รับทั้งอะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> และวิตามินซี ทดลองเป็นเวลา 60 วัน พบว่า อะฟลาทอกซิน บี<sub>1</sub> ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบจำเพาะและไม่จำเพาะมีการทำงานลดลง ซึ่งหากปลาได้รับวิตามินซีร่วมด้วยจะช่วยทำให้ประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้นได้

วาง, คิม, ไบ, ฮูห์ และโช (Wang, Kim, Bai, Huh and Cho. 2003 : 203-211) ศึกษาระดับของวิตามินซีในอาหารในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟตที่ระดับ 0, 60, 120, 240, 480 และ 2000 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร และรูปแอล-แอสคอร์บิล เอซิดที่ระดับ 60 และ 240 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร แล้วนำอาหารทดลองมาวิเคราะห์ปริมาณของวิตามินซีหลังผ่านกระบวนการทำอาหารพบว่าปริมาณวิตามินซีที่หลงเหลือในอาหารเป็นดังนี้ วิตามินซีที่เสริมในอาหาร ในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต มีปริมาณของแอล-แอสคอร์บิล เอซิด ที่ระดับ 0, 50, 100, 205, 426 และ 1869 มิลลิกรัม แอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร และวิตามินซีที่เสริมในอาหารในรูปแอล-แอสคอร์บิล เอซิดมีปริมาณของแอล-แอสคอร์บิล เอซิด ที่ระดับ 36 และ 149 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร โดยนำมาทดลองกับปลานกแก้ว (Parrot Fish, *Oplegnathus fasciatus*) เป็นเวลา 11 สัปดาห์พบว่า กลุ่มที่เสริมวิตามินซี 50 และ 36 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดแตกต่างจากกลุ่มที่เสริมวิตามินซี 1869 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร ซึ่งมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มที่เสริมวิตามินซี 426 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร สำหรับกลุ่มที่ไม่เสริมวิตามินซีพบว่าเมื่อผ่านไป 3 สัปดาห์มีการเจ็บโตช้า เบื่ออาหาร และอัตราการตายสูง ในสัปดาห์ที่ 6 การกินอาหารลดลง ตับมีขนาดเล็ก และตายหมดเมื่อสิ้นสัปดาห์ที่ 7 การสะสมวิตามินซีในตับในกลุ่มที่เสริมวิตามินซี 50 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร มีค่า 31.9 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมเนื้อเยื่อ ซึ่งมีการสะสมปริมาณน้อยที่สุด และกลุ่มที่เสริมวิตามินซี 1869 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร มีการสะสมปริมาณมากที่สุด โดยมีค่าการสะสม 109.6 มิลลิกรัมแอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมเนื้อเยื่อ อีกทั้งเมื่อวิเคราะห์ความต้องการวิตามินซีในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟตของปลานกแก้วโดยการวิเคราะห์จุดสูงสุดของความถดถอยเชิงสหสัมพันธ์ (Broken Line Analysis) พบว่า ปริมาณที่ต้องการเพื่อให้มีการเจริญเติบโตสูงที่สุดคือ  $118 \pm 12$  มิลลิกรัม แอล-แอสคอร์บิล เอซิด/กิโลกรัมอาหาร

## วิตามินอี

วิตามินอี (Vitamin E) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดไม่อิ่มตัวที่มีวงแหวนโครมานอล (Chromanol Ring) และสายโซ่ไอโซพรีนอยด์ (Isoprenoid Side Chain) เป็นองค์ประกอบ มีชื่อทางเคมีว่าโทโคเฟอรอล (Tocopherol) ซึ่งมาจากภาษากรีก 2 คำ คือ “Tokos” หมายถึง ให้กำเนิดลูก และ “Phero” หมายถึง นำพา การทำให้มี เนื่องจากเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการทำให้มีลูก หรือป้องกันการเป็นหมัน วิตามินอีเป็นชื่อรวมของสาร 2 กลุ่ม โดยแบ่งตามชนิดของสายโซ่ไอโซพรีนอยด์ คือ

โทโคเฟอรอล ซึ่งไม่มีพันธะคู่ (Phytyl Tail) ในสายโซ่ไอโซพรีนอยด์ หรือเป็นสารประกอบที่อิ่มตัว และโทโคไตรอีนอล (Tocotrienols) ซึ่งมีพันธะคู่ (Unsaturated Tail) ที่สายโซ่ไอโซพรีนอยด์ หรือเป็นสารประกอบที่ไม่อิ่มตัว โดยแต่ละกลุ่มย่อยมีสมาชิกอย่างละ 4 ชนิด ตามความแตกต่างของจำนวน และตำแหน่งของหมู่เมทิล (Methyl,  $-CH_3$ ) ที่ต่อกับวงแหวนเบนซีนของวงแหวนโครมานอล โดยแบ่งเป็นชนิดแอลฟา ( $\alpha$ ) เบตา ( $\beta$ ) แกมมา ( $\gamma$ ) และเดลตา ( $\delta$ ) (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 90-100 ; ศิริวรรณ สุททจิตต์. 2550 : 123-153) แสดงได้ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ความแตกต่างระหว่างโทโคเฟอรอลและโทโคไตรอีนอล รวมทั้งชนิดของสารทั้ง 2 กลุ่ม (Arcy. Retrieved March 18, 2009, from <http://www.whyweage.com/node/15>)

## คุณสมบัติ

### 1. ทางกายภาพ

เป็นน้ำมันสีเหลืองอ่อน ละลายได้ดีในสารตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน คลอโรฟอร์ม อะซิโตน แอลกอฮอล์ มีความคงตัวต่ำถูกทำลายได้ด้วยอนุมูลอิสระต่าง แสงแดด และรังสียูวี น้ำมันที่เหม็นหืน สารประกอบเกลือเหล็ก สารออกซิไดส์อื่นๆ แต่ทนต่อกรดและสารรีดิวส์

### 2. ทางชีวภาพ

สารวิตามินอี สำคัญที่สุดในทางชีวภาพ คือ แอลฟา-โทโคเฟอรอล รองลงมาคือ แกมมา-โทโคไตรอีนอล ในเลือดและเนื้อเยื่อทั่วไปของคนและสัตว์มีวิตามิน 2 ชนิดนี้เท่านั้น ซึ่งช่วยป้องกันเซลล์ร่างกายจากอนุมูลอิสระ ป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดง และมีฤทธิ์อื่นๆ เช่น ช่วย

สร้างเม็ดเลือดแดง ป้องกันการเกิดลิ่มเลือด และการอุดตันของเส้นเลือด ทำให้เส้นเลือดแข็งแรง มีการหมุนเวียนเลือดดี มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุดคือ เกลตา-โทโคเฟอรอล รองมา คือ แกมมา-โทโคเฟอรอล เบตา-โทโคเฟอรอล และแอลฟา-โทโคเฟอรอล ตามลำดับ

วิตามินอีในร่างกายมีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) ไปเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Hydroperoxide) และยังช่วยป้องกันการออกซิเดชันของพันธะโปรตีนซัลไฟด์ (Protein Bound Sulfhydryls) ไปเป็นไดซัลไฟด์ (Disulfides) ได้อีกด้วย อีกทั้งกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย ออกซิเจนอิสระ (Oxygen Radical) เกิดขึ้นจากการที่เซลล์ต้องใช้ ออกซิเจนในกระบวนการออกซิเดทีฟ เมตาบอลิซึม (Oxidative Metabolism) จะได้อนุพันธ์ของอนุมูลอิสระดังนี้คือ ซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide,  $O_2^-$ ) และไฮดรอกซี (Hydroxy, OH) อนุมูลที่ได้ นี้มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของสายโซ่กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA Chain) ของเยื่อหุ้มฟอสโฟลิปิด (Membrane Phospholipid) อย่างมาก และอนุมูลลิโปเปอร์ออกซิไลอิสระ (Lipoperoxyl Free Radicals) ที่เกิดขึ้นจะทำลายกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนถัดไป ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ ตามมา เพื่อทำลายเซลล์ปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน (Peroxidation Chain) ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ คือ

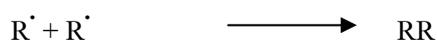
- ระยะเหนี่ยวนำ (Initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีแสงหรืออุณหภูมิเป็นตัวเร่ง ดังสมการ



- ระยะเพิ่มจำนวน (Propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (Peroxy Radical) (1) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระ (2) ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อ ทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ ดังสมการ



- ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันในรูปแบบต่าง ๆ ดังสมการ (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 90-100 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 123-153 ; Kohlmeier. 2003 : 490-499)



### การดูดซึมและการขนส่ง

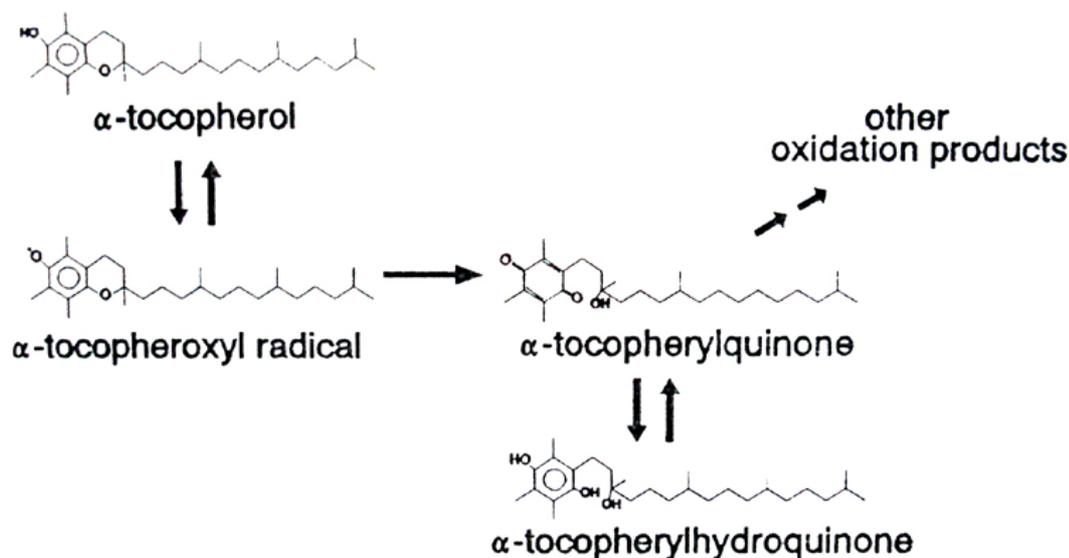
แอลฟา-โทโคเฟอรอลถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก โดยการแพร่แบบไม่ใช้พลังงาน (Non-Saturation Passive Diffusion) ต้องอาศัยน้ำดีและเอนไซม์จากตับอ่อน โทโคเฟอรอลเอสเทอร์จะถูกไฮโดรไลซ์ (Hydrolysed) ด้วยเอนไซม์เอสเทอเรสจากตับอ่อน การดูดซึมวิตามินเป็นไปเช่นเดียวกับ การดูดซึมสารไม่มีขั้ว (Hydrophobic) ทั่ว ๆ ไป คือ เข้าสู่ท่อน้ำเหลืองโดยรวมกับไคโลไมครอน (Chylomicron) แอลฟา-โทโคเฟอรอล และ แกมมา-โทโคเฟอรอลจะมีการดูดซึมคล้ายคลึงกัน แต่แกมมา-โทโคเฟอรอลจะถูกขับออกทางน้ำดีได้ง่ายกว่า จึงพบสารประกอบชนิดนี้มีน้อยในพลาสมา แม้ว่าจะพบปริมาณค่อนข้างมากในอาหาร ส่วนเซลตา และเบตา-โทโคเฟอรอล จะถูกดูดซึมได้น้อยมาก

ไคโลไมครอนที่อยู่ในกระแสเลือดจะถูกไลโปโปรตีน ไลเปส (Lipoprotein Lipase) สลายให้ได้ไคโลไมครอน เรมแนนท์ (Chylomicron Remnant) ส่งต่อไปยังตับ เพื่อเก็บไว้ที่ไมโทโซม จากนั้นแอลฟา-โทโคเฟอรอลจะถูกปล่อยออกมาที่ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำมาก (Very Low Density Lipoprotein, VLDL) เมื่อไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำมากสลายจะปล่อยให้แอลฟา-โทโคเฟอรอลจับกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (High Density Lipoprotein, HDL) โดยส่วนใหญ่จะเก็บสะสมไว้ที่ตับ กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมันแอลฟา-โทโคเฟอรอลจะเคลื่อนจากเนื้อเยื่อไขมัน ได้ช้าแม้ร่างกายขาดวิตามินอีก็ตาม

การขนส่งวิตามินอี ภายในเซลล์ของอวัยวะต่าง ๆ ต้องอาศัยตัวรับจำเพาะ (Specific Tocopherol-Binding Protein, TBPs) ของอวัยวะนั้น ๆ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง ตับ หัวใจ สมอง และเยื่อบุผนังลำไส้ เป็นต้น วิตามินอีที่ไม่อยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน (Adipose Tissue) จะอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์และมีแหล่งรวมวิตามินอี 2 แหล่ง คือ อวัยวะหลักในการสะสมวิตามินอีที่สามารถปลดปล่อยออกมาใช้ได้ (Labile Pool) และอวัยวะหลักในการสะสมวิตามินอีที่ไม่สามารถปลดปล่อยออกมาใช้ได้ (Fixed Pool) ซึ่งทั้ง 2 แหล่งนี้จะมีอัตราการสลายตัว (Rate of Turn Over) แตกต่างกันไป อวัยวะหลักในการสะสมวิตามินอีที่สามารถปลดปล่อยออกมาใช้ได้ โดยมากอยู่ในพลาสมาและตับ ซึ่งสามารถเคลื่อนย้ายวิตามินอีออกมาได้รวดเร็ว ส่วนวิตามินอีที่อยู่ในเนื้อเยื่อไขมันเป็นอวัยวะหลักในการสะสมวิตามินอีที่ไม่สามารถปลดปล่อยออกมาใช้ได้ ซึ่งเคลื่อนย้ายได้ยากเมื่อร่างกายต้องการดังนั้นปริมาณของวิตามินอีในอวัยวะต่าง ๆ จึงแตกต่างกันมาก (สมทรง เลขะกุล. 2543 : 90-100 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550 : 123-153 ; Kohlmeier. 2003 : 490-499)

### เมแทบอลิซึม

วิตามินอีจะถูกดูดซึมเข้าไปและลำเลียงไปสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเมื่อโมเลกุลของวิตามินอี ถูกออกซิไดส์เป็นแอลฟาโทโคเฟอรอลควิโนน ( $\alpha$ -Tocopherolquinone) จะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระให้กับโมเลกุลของวิตามินอีและการเปลี่ยนแปลงจากแอลฟา-โทโคเฟอรอลไปเป็นอนุมูลแอลฟาโทโคเปอร์รอกซิล ( $\alpha$ -Tocopheroxyl) เป็นปฏิกิริยาที่กลับป้อนกลับมาได้ (Reversible) แต่ขั้นตอนที่เปลี่ยนแปลงเป็นแอลฟา-โทโคเฟอรอลควิโนน ( $\alpha$ -Tocopherylquinone) นั้น ปฏิกิริยาเป็นไปได้ทางเดียว (Irreversible) จากแอลฟา-โทโคเฟอรอลควิโนนสามารถเปลี่ยนไปเป็นแอลฟา-โทโคเฟอรอลไฮโดรควิโนน ( $\alpha$ -Tocopherylhydroquinone) และเป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยนกลับป้อนกลับมาได้ เมื่อสารนี้จับกับกรดกลูคูโรนิก (Glucuronic Acid) ก็จะถูกขับออกทางน้ำดีและอุจจาระ แสดงดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 เมแทบอลิซึมของแอลฟาโทโคฟีรอล (Kohlmeier, 2003 : 490-499)

การที่เมแทบอลิซึมของแอลฟา-โทโคเฟอรอลมีปฏิกิริยาเปลี่ยนกลับป้อนกลับมาได้ เนื่องจากอนุมูลแอลฟา-โทโคเฟอรอกซิล ( $\alpha$ -Tocopheroxyl Radical) เป็นสารที่สามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้ โดยกลไก 2 ทางด้วยกัน คือ โดยกรดแอสคอร์บิกรีดิวส์ให้กลับไปเป็นวิตามินอี อีกวิธีคือ โดยกลูตาไธโอล (Glutathione, GSH) และเอ็นไซม์โทโคเฟอรอกซิล รีดักเตส (Tocopheroxyl Reductase) ที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Endoplasmic Reticulum) และในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ไปรีดิวส์อนุมูลแอลฟา-โทโคเฟอรอกซิลได้อีกวิธีหนึ่ง (สมทรง เลขะกุล, 2543 : 90-100 ; ศิริวรรณ สุทธิจิตต์, 2550 : 123-153 ; Halver and Hardy, 2002 : 120-124 ; Kohlmeier, 2003 : 490-499)

## ความสำคัญของวิตามินอีในปลา

วิตามินอีมีส่วนช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ซึ่งหากขาดวิตามินอีจะส่งผลให้ปลาเกิดอาการเจริญเติบโตช้า ระบบสืบพันธุ์ผิดปกติ เม็ดเลือดแดง ตาโปน ตัวงอ ตับโตผิดปกติ ท่อทางเดินปัสสาวะไม่ทำงาน ต่อมไตเสื่อมองทำงานผิดปกติ และตายในที่สุด (เจษฎา อิศหา. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://courseware.rmutl.ac.th>) โดยมีการศึกษาการเสริมวิตามินอีในอาหารปลาดังนี้

โพสตอน, คอมบ์ และเลโบวิตซ์ (Poston, Combs and Leibovitz. 1976 : 892-904) ทดลองเสริมวิตามินอีในรูปดีแอล-แอลฟา-โทโคเฟอรอล อะซิเตท (DL- $\alpha$ -Tocopheryl Acetate) และซีลีเนียมในอาหารปลาแซลมอลแอตแลนติก (*Atlantic Salmon, Salmo salar L.*) เป็นเวลา 16 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมวิตามินอี 0.5 IU/กรัมอาหารแห้ง กลุ่มที่เสริมซีลีเนียม 0.1 มิลลิกรัม/กรัม และกลุ่มที่เสริมทั้งวิตามินอีและซีลีเนียม พบว่ากลุ่มที่เสริมทั้งวิตามินอีและซีลีเนียมช่วยให้อัตราการตายลดลง และในกลุ่มที่ขาดวิตามินอีพบอาการตกเลือดเหงือกเปื่อย ลักษณะเม็ดเลือดแดงผิดปกติ ระดับโปรตีนในพลาสมาสูง บวมน้ำ ตับเหลือง กระจกตา เซลล์กล้ามเนื้อฝ่อ อีกทั้งการเสริมทั้งวิตามินอีและซีลีเนียมช่วยให้มีการสะสมของโทโคเฟอรอลในเซลล์ตับมากขึ้น โดยมีค่าการสะสม 24.7 IU/100 กรัม และในกลุ่มที่เสริมวิตามินอี มีค่าการสะสม 15.4 IU/100 กรัม ส่วนการศึกษาของ พอล, ซาร์การ์ และ โมฮันตี (Paul, Sarkar and Mohanty. 2004 : 529-536) ทดลองใช้วิตามินอีที่ระดับ 19, 66, 120, 165 และ 216 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร พบว่าเมื่อเสริมวิตามินอีที่ระดับ 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ทำให้ปลานวลจันทร์เทศ (*Mrigal, Cirrhinus mrigala*) มีน้ำหนักที่เพิ่มมากขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน มีค่าสูงที่สุด แต่การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้าและความชื้น มีค่าไม่แตกต่างกันในวิตามินอีทุกระดับ และเมื่อทดสอบการแตกของเม็ดเลือดแดงพบว่า กลุ่มที่เสริมวิตามินอีที่ระดับ 216 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีค่าการแตกของเม็ดเลือดแดงน้อยที่สุด คือ  $0.400 \pm 0.003$  50% Osmotic Erythrocyte Fragility และกลุ่มที่เสริมวิตามินอีที่ระดับ 19 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารมีค่าการแตกของเม็ดเลือดแดงมากที่สุด คือ  $0.458 \pm 0.004$  50% Osmotic Erythrocyte Fragility อาจเนื่องมาจากวิตามินอีมีผลต่อการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง และเมื่อวิเคราะห์การสะสมของวิตามินอีในปลาทั้งตัวพบว่า กลุ่มที่เสริมวิตามินอีที่ระดับ 19 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีการสะสมของวิตามินอีน้อยที่สุดคือ  $30.58 \pm 0.79$  ไมโครกรัม/กรัม และกลุ่มที่เสริมวิตามินอีที่ระดับ 216 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีการสะสมของวิตามินอีมากที่สุดคือ  $46.06 \pm 0.23$  ไมโครกรัม/กรัม และเมื่อนำค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมาวิเคราะห์พบว่า ปลานวลจันทร์เทศต้องการวิตามินอีที่ระดับ 99 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร

ฮามร์และลี (Hamre and Lie. 1995 : 547-554) ศึกษาผลของอาหารที่มี n-3 PUFA ซึ่งมีผลต่อปริมาณการสะสมวิตามินอีในอวัยวะต่างๆ ของปลาแซลมอลแอตแลนติก โดยเปรียบเทียบอาหารที่ใช้ไขมันชาร์ดิน (Sardine) กับน้ำมันคาเปลิน (Capelin) ซึ่งอาหารแต่ละสูตรแบ่งเป็นเสริมวิตามินอีในรูปดีแอล-แอลฟา-โทโคเฟอรอล อะซิเตท 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และไม่เสริมวิตามินอีเป็นเวลา 5 เดือน พบว่าเมื่อตรวจสอบการสะสมวิตามินอีในปลาทั้งตัวพบว่ากลุ่มที่เสริมวิตามินอีมีการสะสมของวิตามินอีเพิ่มขึ้นและไม่แตกต่างในอาหารที่ใช้ไขมันชาร์ดินกับน้ำมันคาเปลินและเมื่อตรวจสอบการสะสมของวิตามินในอวัยวะพบว่า ที่ ตับ ม้าม และไต มีการสะสมของวิตามินอีมากกว่าในอวัยวะอื่นๆ

ซัว, พอล, โมฮานตา และโมฮานตี (Sau, Paul, Mohanta and Mohanty. 2004 : 359-368) ทดลองหาระดับความต้องการวิตามินอีในรูปดีแอล-แอลฟา-โทโคเฟอรอล อะซิเตท ของปลาชี่สกเทศเป็นเวลา 90 วัน โดยศึกษาจากการเจริญเติบโต แบ่งเป็น 5 สูตรทดลอง คือ 0, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารแห้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เปรียบเทียบผลการเจริญเติบโต การสะสมในเนื้อเยื่อ ค่าการแตกของเม็ดเลือดแดง (Erythrocyte Fragility) และค่า Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARs) พบว่ากลุ่มที่เสริมวิตามินอี 100-200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารแห้ง มีค่าการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีที่สุดในกลุ่มที่เสริมวิตามินอี 0 และ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารแห้ง อีกทั้งระดับของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ TBARs และการแตกของเม็ดเลือดแดงมีค่าลดลง และเมื่อนำมาวิเคราะห์กราฟจุดสูงสุดของความถดถอยเชิงสหสัมพันธ์ พบว่า ปริมาณวิตามินอีที่เหมาะสมที่ปลาชี่สกเทศต้องการ คือ 131.91 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารแห้ง

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเสริมวิตามินซีและวิตามินอีร่วมกันในปลา โดย

ออร์ตูโน, เคสตา, เอสตีบัน และเมเสเจอร์ (Ortuno, Cuesta, Esteban and Meseguer. 2001 : 167-180) ศึกษาการเสริมวิตามินซีและอีในอาหารปลากระพงแดง (Gilthead Seabream, *Sparus aurata*) เป็นเวลา 45 วัน แบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลองคือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมวิตามินซี 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร กลุ่มที่เสริมวิตามินอี 1.2 กรัม/กิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่เสริมทั้งวิตามินซีและอี 3 และ 1.2 กรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ เพื่อตรวจระดับของวิตามินซีและอีในซีรัม การเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมี การฟาโกไซโทซิส (Phagocytic Activity) และปฏิกิริยาการหายใจระดับเซลล์ พบว่ากลุ่มที่เสริมวิตามินซีมีระดับของวิตามินซีในซีรัมมากที่สุดในวันที่ 30 คือ  $43.9 \pm 1.6$  ไมโครกรัมวิตามิน/มิลลิลิตรซีรัม และกลุ่มที่เสริมวิตามินอีมีระดับของวิตามินอีในซีรัมมากที่สุดในวันที่ 30 คือ  $31 \pm 1$  ไมโครกรัมวิตามิน/มิลลิลิตรซีรัม ส่วนกลุ่มที่เสริมทั้งวิตามินซีและอีมีระดับของวิตามินซีและอีในซีรัมมากที่สุดในวันที่ 30 คือ  $32.4 \pm 3.3$  และ  $37.3 \pm 6.7$  ไมโครกรัมวิตามิน/มิลลิลิตรซีรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ปฏิกิริยาการหายใจระดับเซลล์เพิ่มมากขึ้นในกลุ่มที่เสริม

วิตามินซี ส่วนกลุ่มที่เสริมวิตามินอีมีการฟาโกไซโทซิสเพิ่มขึ้น และกลุ่มที่เสริมทั้งวิตามินซีและอี การฟาโกไซโทซิสและปฏิกิริยาการหายใจระดับเซลล์ดีมากกว่ากลุ่มที่เสริมวิตามินซีและอีอย่างใดอย่างหนึ่ง

เชน, ลอคแมนน์, กูดวิน, ปาร์เวน ดาโบรวิสกี และลี (Chen, Lochmann, Goodwin, Praveen, Dabrowski and Lee. 2004 : 553–569) ทดลองเสริมวิตามินซีและอีในอาหารปลาโกลเดนชินเนอ (Golden Shiner, *Notemigonus crysoleucas*) เป็นเวลา 17 สัปดาห์ โดยวิตามินซีมี 4 ระดับ คือ 23, 43, 98, และ 222 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร และวิตามินอี 2 ระดับคือ 0 และ 38 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ทำอาหาร 8 สูตรการทดลอง พบว่าในกลุ่มที่เสริมวิตามินอี 38 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารควบคู่กับวิตามินซี ช่วยให้การเจริญเติบโต อัตราการรอดและระบบภูมิคุ้มกันดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมวิตามินอี อีกทั้งยังช่วยลดอัตราการตายจากสภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat Stress) และในสัปดาห์ที่ 10 ปลาในกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารที่มีวิตามินอีจะมีการฆ่าเลือด และการสะสมของวิตามินอีในร่างกายมีปริมาณน้อย ส่งผลให้ปริมาณ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในร่างกายมีค่าลดลง รวมทั้งพบพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อในกลุ่มที่ขาดวิตามินอีจะมีการเซลล์กล้ามเนื้อลีบและตาย อีกทั้งผลต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับระดับวิตามินซีคือความผิดปกติจากการขาดวิตามินอีจะลดลงเมื่อได้รับวิตามินซีในปริมาณที่มากขึ้น โดยปลาที่ได้รับวิตามินอีร่วมกับวิตามินซีในระดับ 98 และ 222 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีการเจริญเติบโต อัตราการรอดและระบบภูมิคุ้มกันดีที่สุด ซึ่งแสดงว่าวิตามินซีและอีมีผลต่อปฏิกิริยาในร่างกายร่วมกัน

การ์เซีย, ปิลาร์สกี, โอนากะ, โมเรส และมาร์ตินส์ (Garcia, Pilarski, Onaka, Moraes and Martins. 2007 : 39–46) ทดลองเสริมวิตามินซีและอีในอาหารปลาจะระเมื่อน้ำจืด (Pacu, *Piaractus mesopotamicus*) ที่ระดับ 0, 250, 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีและอีมีส่วนช่วยปกป้องเม็ดเลือดทำให้ปลามีปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้น และระดับของวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณทรอมโบไซต์หลังจากที่ปลาได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* สังเกตได้จากค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบิน โดยค่าฮีมาโตคริตของกลุ่มที่ได้รับการเสริมวิตามินซีที่ 0 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมควบคู่กับวิตามินอีที่ 0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีค่าฮีมาโตคริตมากที่สุด คือ 34 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าฮีโมโกลบิน กลุ่มที่เสริมวิตามินซีที่ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ควบคู่กับวิตามินอีทุกระดับ มีค่าฮีโมโกลบินมากที่สุด คือ 9.50, 8.38 และ 9.11 เดซิลิตร/ลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งการเสริมวิตามินซีและอีที่ระดับ 500 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมมีผลทางองค์ประกอบเลือดดีที่สุด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### ประชากร

ลูกปลาคูกดำพันซึ่งได้จากการเพาะพันธุ์ โดยวิธีการผสมเทียมจากพ่อแม่พันธุ์ที่จับในธรรมชาติ เลี้ยงลูกปลาด้วยอาหารสำเร็จรูปแบบผงที่มีโปรตีน 40% จนกระทั่งลูกปลามีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 1 กรัม/ตัวเพื่อใช้ศึกษาการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร อัตราการรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์ประกอบเลือด ปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้า และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ ดำเนินการทดลองโดยเลี้ยงในตู้ทดลองระบบน้ำไหลผ่านตลอดที่มีการให้อากาศตลอดเวลา ขนาด 45×90×40 เซนติเมตร จำนวน 36 ตู้ ตู้ละ 15 ตัว บันทึกน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลอง ให้อาหารปลาแต่ละชุดการทดลองวันละ 2 ครั้ง ในปริมาณที่ปลากินหมดภายใน 20 นาที (ประมาณ 3-5 % ของน้ำหนักตัวต่อวัน) ดูดตะกอนและเศษอาหารที่พื้นตู้ปลาทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำด้วยระบบไหลผ่านตลอดเวลาในอัตรา 100-150 % ต่อวัน ทดลองเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

#### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

##### 1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง

1.1 ตู้กระจกทดลองขนาด 45×90×40 เซนติเมตร ปิดด้านข้างและด้านหลังตู้ด้วยแผ่นพลาสติกสีทึบทั้ง 3 ด้าน เพื่อป้องกันการถูกรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก

1.2 เครื่องปั้มน้ำ

1.3 อุปกรณ์ให้อากาศ ประกอบด้วย เครื่องให้อากาศ สายยาง และหัวทราย

1.4 อุปกรณ์ขนย้ายปลา ได้แก่ สวิงช้อนปลา ชั้นพลาสติก และถังพลาสติก

##### 2. อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองและสัตว์ทดลอง

2.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ตู้อบ (Hot Air Oven) Binder® รุ่น ED240 โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง Sartorius® รุ่น TE313S

2.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ ชุดเครื่องวิเคราะห์โปรตีนแบบกลั่น Gerhardt® รุ่น Vapodest20 ชุดเครื่องวิเคราะห์โปรตีนแบบย่อย Gerhardt® รุ่น GB8S หลอดย่อยโปรตีน(Digestion Tube) กระจกตวง บีกเกอร์ บิวเรต ขวดรูปชมพู่ และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง Sartorius® รุ่น TE313S

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible) เต้าเผาอุณหภูมิสูง Carbolite® รุ่น Control 301 โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง Sartorius® รุ่น TE313S

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ FALC® กระจายกรองสาร คู่อบ โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง

### 3. อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

3.1 อุปกรณ์เก็บเลือดปลา ได้แก่ เข็มขนาด 25G และหลอดชนิดยาขนาด 1 มิลลิเมตร

3.2 อุปกรณ์แยกพลาสมา ได้แก่ ไมโครปีเปต และเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) NUVA® รุ่น NF048

3.3 อุปกรณ์นับเม็ดเลือด ได้แก่ ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)

3.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) Thermo® รุ่น Evolution 300LC

### 4. อุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีและอีในตับและไตส่วนหน้า

4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์วิตามินซี ได้แก่ เครื่องมือผ่าตัด หลอดทดลอง เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง กระจายกรอง กรวยกรอง บิวเรต และเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Thermo® รุ่น Evolution 300LC

4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์วิตามินอี ได้แก่ เครื่องมือผ่าตัด ขวดแก้ว เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง เตาร้อน (Hot Plate) กรวยแยก หลอดหยด แผ่น TLC (TLC Plate, Aluminium Sheet 20×20 cm Silica Gel 60 F<sub>254</sub> MERCK®) และเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Thermo® รุ่น Evolution 300LC

### 5. อุปกรณ์วิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อ

5.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อ ได้แก่ เครื่องมือผ่าตัด บีกเกอร์ บล็อกโลหะ (Mold) บล็อกพลาสติก (Embedding Ring) เครื่องตัดชิ้นเนื้อชนิดล้อหมุน (Rotary Microtome) SLEE® อ่างน้ำอุ่น (Water Bath) สไลด์ แผ่นปิดสไลด์ เตาร้อน กล้องจุลทรรศน์ Olympus®BX52 ที่ติดตั้งกล้องดิจิทัล Olympus® DP70

### สารเคมีหลัก

1. Ascorbyl-2-Polyphosphate (Rovimix -Stay C-35, DSM®)

2. DL- $\alpha$  Tocopheryl Acetate (Fluka®)

### การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลโดยการสุ่มทดลอง (Factorial in CRD) ศึกษา 2 ปัจจัย คือ

วิตามินซี มี 4 ระดับ ได้แก่ 0, 50, 100 และ 200 ppm

วิตามินอี มี 3 ระดับ ได้แก่ 0, 50 และ 100 ppm

ดังนั้นมี 12 Treatment Combination ทั้งหมด 3 ซ้ำ มี 36 หน่วยทดลอง อัตราการปล่อยปลา 15 ตัวต่อตู้

### อาหารทดลอง

ทำอาหารทดลองทั้งหมด 12 สูตร (ตารางที่ 1, ดัดแปลงจากพันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกรและคณะ สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://www.bio.sci.tsu.ac.th>) โดยผสมวัตถุดิบทั้งหมดเข้าด้วยกันในเครื่องผสมอาหาร เมื่อวัตถุดิบเข้ากันดี จึงนำไปอัดเม็ด และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วแปรรูปอาหารให้มีลักษณะเป็นเกล็ด และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยประมาณตามวิธีมาตรฐานของ The Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1990 : 69-79) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า

ตารางที่ 1 อัตราส่วนวัตถุดิบอาหารทดลอง

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
ปลาป่น (%)	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
กากถั่วเหลือง (%)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
แป้งสาลี (%)	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
แป้งข้าวเจ้า (%)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
น้ำมันปลา (%)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
วิตามินรวม (%)	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
แร่ธาตุรวม (%)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟต (%)	-	-	-	0.014	0.014	0.014	0.028	0.028	0.028	0.056	0.056	0.056
แอลฟา-โทโคเฟอรอล อะซิเตด (%)	-	0.005	0.01	-	0.005	0.01	-	0.005	0.01	-	0.005	0.01
แป้งมัน (%)	0.1	0.095	0.09	0.086	0.081	0.076	0.072	0.067	0.062	0.044	0.039	0.034

\*วิตามินรวม (มิลลิกรัม/ กิโลกรัมอาหาร) : Thiamine 20 ; Riboflavin 20 ; Nicotinic Acid 20 ; Ca Pantothenate 30 ; Inositol 100 ; Biotin 0.5 ; Folic Acid 1.5 ; Vitamin B<sub>12</sub> 0.005 ; Menadione 10 ; Vitamin A 1500 IU ; Vitamin D<sub>3</sub> 230 IU

\*\*แร่ธาตุรวม (กรัม/กิโลกรัมอาหาร) : KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 ; CaHPO<sub>4</sub> 1 ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 ; KCL 0.5 ; CaCO<sub>3</sub>

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
โปรตีน (%)	42.32	39.99	40.75	40.62	40.41	40.38	40.69	40.19	40.72	41.15	41.57	40.69
ไขมัน (%)	16.01	16.45	13.38	14.55	15.27	14.62	14.61	13.40	14.62	13.68	14.37	14.97
เถ้า (%)	18.05	18.18	18.15	18.02	18.13	18.13	18.03	18.51	18.18	17.46	18.30	18.04
ความชื้น (%)	7.30	6.12	7.95	5.73	6.16	7.22	5.50	6.16	7.31	6.96	5.63	6.07
วิตามินซี (ppm) (Equivalent L-Ascorbic Acid)	nd	nd	nd	55.62	50.29	51.22	110.22	121.89	98.33	247.48	235.39	248.71
วิตามินอี (ppm) (Equivalent $\alpha$ - Tocopherol Acetate)	32.15	79.95	118.53	38.82	78.52	139.73	22.00	61.93	95.67	46.33	59.66	105.34

## การเก็บรวบรวมข้อมูล

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักปลาแต่ละหน่วยทดลอง ทุก ๆ 2 สัปดาห์ พร้อมกับจับบันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ในแต่ละช่วงเวลา นำมาคำนวณตามสูตรต่าง ๆ ดังนี้ (Henrique, Gomes, Gouillou-Coustans, Oliva-Teles and Davies. 1998 : 419)

### อัตราการรอดตาย (Survival Rate %)

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \left( \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

### น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight Gain %, WG %)

$$\text{WG \%} = \left( \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

### น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (Average Diary Growth, ADG)

$$\text{ADG} = \left( \frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}} \right)$$

### อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio, FCR)

$$\text{FCR} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$$

### การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลอง นำไปวิเคราะห์ความชื้นในร่างกายทันที และนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของตัวปลาทั้งตัว ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990 : 69-79) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มตัวอย่างปลาจากตู้ทดลอง คู่ละ 2 ตัวไปวิเคราะห์ความชื้นของปลาทั้งตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และวิเคราะห์โปรตีน ไขมันและเถ้า จากนั้นจึงคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ตามสูตร ดังนี้ (Henrique et al. 1998 : 419)

### ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio, PER)

$$\text{PER} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลาได้รับ}}$$

### การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent Net Protein Utilization, ANPU)

$$ANPU = \left( \frac{\% \text{ โปรตีนในตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \% \text{ โปรตีนในตัวปลาเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง}} \right) \times 100$$

### การวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองจำนวน 6 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดบริเวณโคนหางของปลาโดยมี 10% Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Garcia, Pilarski, Onaka, Moraes and Martins. 2007 : 39–46) เพื่อศึกษาองค์ประกอบของเลือด ดังนี้

- ฮีมาโตคริต (Hematocrit) ตามวิธีการของโคลลิเออร์ (Collier. 1944 : 550-552)
- ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) โดยใช้วิธี Cyanmet-Hemoglobin ตามวิธีการของโคลลิเออร์ (Collier. 1944 : 550-552)
- ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (Total Red Blood Cell Count, RBC)
- ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cell count Count, WBC) ตามวิธีการของ มาร์ตินส์, ไดเอส, ฟุจิโมโต, โอนากะ และ โนมูระ (Martins, Dias, Fujimoto, Onaka, and Nomura. 2004 : 640-646)

### การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีและอินดิคและไตส่วนหน้า

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นส่วนตับและไตส่วนหน้าของปลาจำนวน 6 ตัว จากแต่ละชุดการทดลอง โดยทำให้ปลาหมดความรู้สึกในอุณหภูมิต่ำแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว และตัดแยกตับ และไตส่วนหน้าออกบันทึกน้ำหนักสด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีและวิตามินอี โดยการวิเคราะห์วิตามินซีอาศัยการเกิดปฏิกิริยาของวิตามินซีกับ 2, 4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดราซีน (2, 4-Dinitrophenylhydrazine, DNPH) ในภาวะที่เป็นกรด ทำให้เกิดสารบิส-ไฮดราโซน (Bis-Hydrazone) ตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารดังกล่าวด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (Chan and Reade. 1996 : 339 ; Boonyaratpalin and Phromkunthong. 2001 : 127) และวิเคราะห์วิตามินอีด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography, TLC) (Kakela, Hyvarinen and Kakela. 1997 : 28 ; Ortuno et al., 2001 : 170) โดยนำตัวอย่างมาซาปอนนิไฟด์ (Saponified) ด้วย 50% โพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ (50% Potassium Hydroxide) ประมาณ 7 นาที แล้วแยกวิตามินอีออกด้วยไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl Ether) จากนั้นระเหยให้แห้ง แล้วจึงนำไปแยกวิตามินอีทั้งหมดด้วยแผ่น TLC โดยใช้อีเทอร์และเฮกเซน

(Hexane) ในอัตราส่วน 1 : 4 เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) จากนั้นจุดแถบวิตามินอีจากตัวอย่างที่ตรงกับแถบแอลฟา-โทโคเฟอรอลมาตรฐาน (Standard  $\alpha$ -Tocopherol) ออกมาละลายในไดเอทิลอีเทอร์ แล้วนำไปตรวจวัดปริมาณด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 295 นาโนเมตร และจึงนำมาคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับกราฟแอลฟา-โทโคเฟอรอล อะซิเตดมาตรฐาน (Standard  $\alpha$ -Tocopherol Acetate)

#### การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 10 เก็บตัวอย่างชิ้นส่วนเหงือก ดับ และไต เพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาทั้งก่อนการทดลองและสิ้นสุดการทดลอง โดยนำตัวอย่างเนื้อเยื่อมาแช่ในน้ำยาบูแอง (Bouin's Fluid) เป็นเวลา 3 วัน จึงเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ 70% ก่อนนำมาผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อตามวิธีการของฮูมาซอน (Humason, 1967 : 3-167) ก่อนที่จะตัดชิ้นเนื้อให้มีความหนาประมาณ 5-7 ไมโครเมตร เตรียมเป็นสไลด์สำเร็จรูป และย้อมตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยสีย้อมฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (Hematoxylin and Eosin)

#### การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Two-Way Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS รุ่น 17.0

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### ความผิดปกติภายนอกเนื่องจากอาการขาดวิตามิน

ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีและอีที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ปลามีอาการผิดปกติเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี เริ่มตั้งแต่สัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง คือ พบการตกเลือดบริเวณส่วนหัวและครีบหลัง หนองกุดสั้น และส่วนของครีบหลังและครีบหางสีกร่อน (ภาพที่ 9-10) นอกจากนี้พบว่าขนาดของปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี มีขนาดเล็กและโตช้ากว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 9 อาการตกเลือด และหนองกุดในปลาที่ขาดวิตามินซี



ภาพที่ 10 อาการตกเลือด หนอง และครีบกร่อนในปลาที่ขาดวิตามินซี

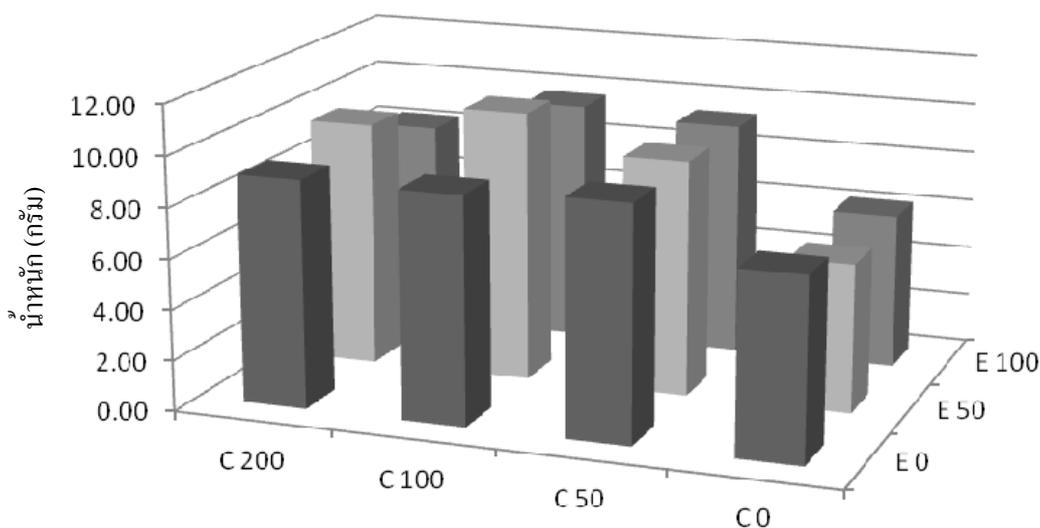


ภาพที่ 11 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างปลาที่ได้รับและไม่ได้รับวิตามินซี

## ผลการเจริญเติบโต

### น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลา

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 12 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 10 สัปดาห์ มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการทดลองโดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทุกกลุ่มการทดลองใน 4 สัปดาห์แรกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และเริ่มมีความแตกต่างตั้งแต่สัปดาห์ที่ 6 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองคือ ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่า (4.386, 5.538 และ 6.424 กรัม/ตัว) แตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 (5.369, 7.310 และ 9.318 กรัม/ตัว) 100 (5.478, 7.407 และ 9.808 กรัม/ตัว) และ 200 ppm (5.226, 6.891 และ 9.033 กรัม/ตัว) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอีทุกระดับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 12 และตารางที่ 3



ภาพที่ 12 น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ตารางที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม) ของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g)					
		เริ่มต้น	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์	10 สัปดาห์
0	0	1.04	1.96	3.29	4.67	6.15	7.18
	50	1.07	1.96	3.56	5.22	7.21	9.26
	100	1.01	1.90	3.43	5.41	7.10	9.00
	200	1.03	2.03	3.31	5.07	7.00	9.03
50	0	1.01	1.90	3.09	4.22	5.06	5.89
	50	1.04	2.05	3.56	5.48	7.42	9.35
	100	1.04	2.08	3.73	5.76	7.96	10.74
	200	1.04	2.08	3.74	5.75	7.50	9.77
100	0	1.02	1.95	3.13	4.26	5.40	6.20
	50	1.04	1.96	3.41	5.40	7.31	9.35
	100	0.97	1.90	3.41	5.26	7.16	9.68
	200	1.02	1.88	3.11	4.84	6.17	8.29
Pooled SEM		0.014	0.031	0.061	0.122	0.198	0.277
วิตามินอี×วิตามินซี (P level)		0.985	0.841	0.707	0.843	0.777	0.780

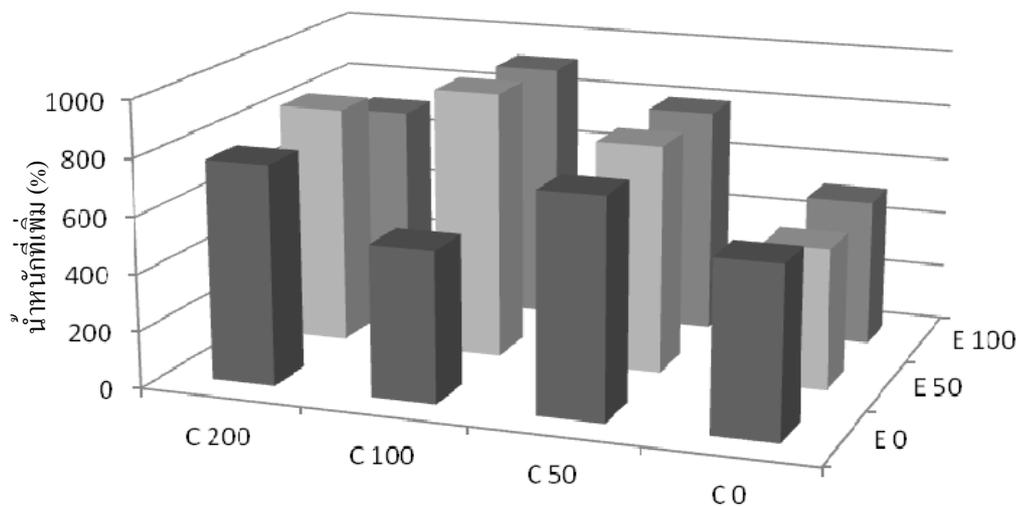
ตารางที่ 3 (ต่อ)

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g)					
		เริ่มต้น	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์	10 สัปดาห์
วิตามินอี (P level)		0.768	0.391	0.234	0.493	0.605	0.712
0		1.035	1.961	3.401	5.095	6.863	8.618
50		1.028	2.028	3.528	5.304	6.985	8.940
100		1.012	1.924	3.263	4.944	6.511	8.379
วิตามินซี (P level)		0.692	0.910	0.178	0.017	0.010	0.001
	0	1.018	1.939	3.170	4.386 <sup>w</sup>	5.538 <sup>w</sup>	6.424 <sup>w</sup>
	50	1.049	1.989	3.512	5.369 <sup>x</sup>	7.310 <sup>x</sup>	9.318 <sup>x</sup>
	100	1.004	1.961	3.521	5.478 <sup>x</sup>	7.407 <sup>x</sup>	9.808 <sup>x</sup>
	200	1.029	1.994	3.386	5.226 <sup>x</sup>	6.891 <sup>x</sup>	9.033 <sup>x</sup>

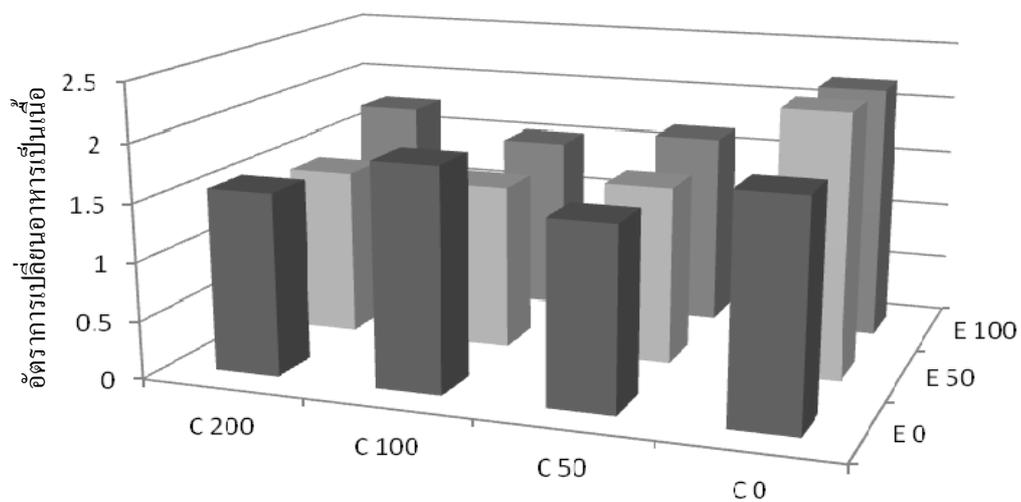
<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p>0.05$ ) ; a, b, c, d, e และ f สำหรับกลุ่มวิตามินอี×วิตามินซี ; p และ q สำหรับกลุ่มวิตามินอี ; w และ x สำหรับกลุ่มวิตามินซี

### น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

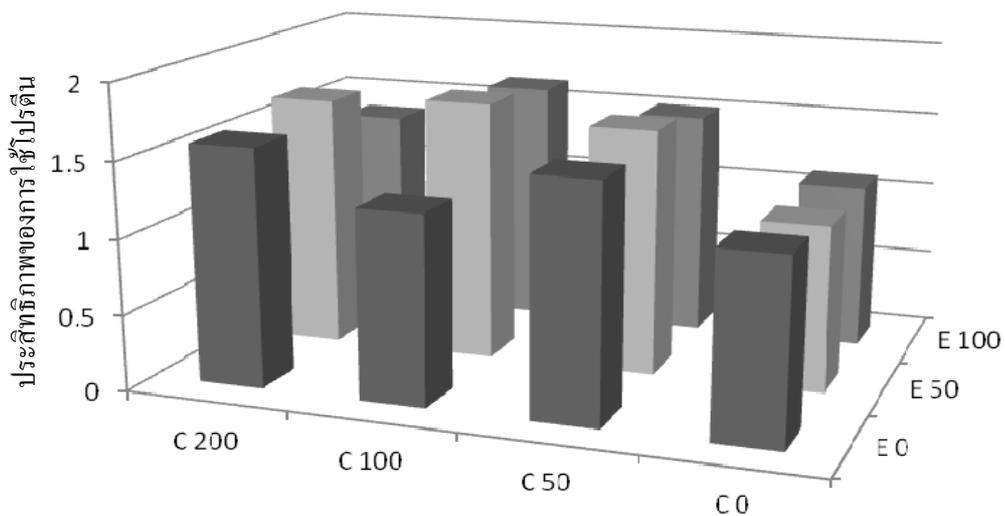
น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทั้ง 12 สูตรทดลอง เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์แสดงดังตารางที่ 4 พบว่า ระดับของวิตามินซีมีผลต่อน้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ โดยปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าน้ำหนักที่เพิ่ม และน้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน 536.418% และ 0.076 กรัม/วัน ตามลำดับ แตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm (788.944%, 0.118 กรัม/วัน, 828.794%, 0.126 กรัม/วัน และ 775.318%, 0.113 กรัม/วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงดังภาพที่ 13 และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 2.122 ซึ่งสูงแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm (1.587, 1.619 และ 1.589) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงดังภาพที่ 14 ส่วนระดับของวิตามินอีไม่มีผลต่อน้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อีกทั้งประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน 1.132 ซึ่งต่ำแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm (1.563, 1.537 และ 1.536) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ระดับของวิตามินอีไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.394-1.400 ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แสดงดังภาพที่ 15 ส่วนการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิพบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 15.327% ซึ่งต่ำแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm (23.038, 22.819 และ 23.052%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกทั้งปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 0 ppm มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 19.342% ซึ่งต่ำที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 50 ppm ที่มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 22.954% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 100 ppm ที่มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 20.881% ( $p > 0.05$ ) และปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 50 ppm มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 22.954% ซึ่งสูงที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 0 ppm ที่มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 19.342% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 100 ppm ที่มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ 20.881% ( $p > 0.05$ ) แสดงดังภาพที่ 16 สำหรับอัตราการรอดตายพบว่าระดับของวิตามินซีและอีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )



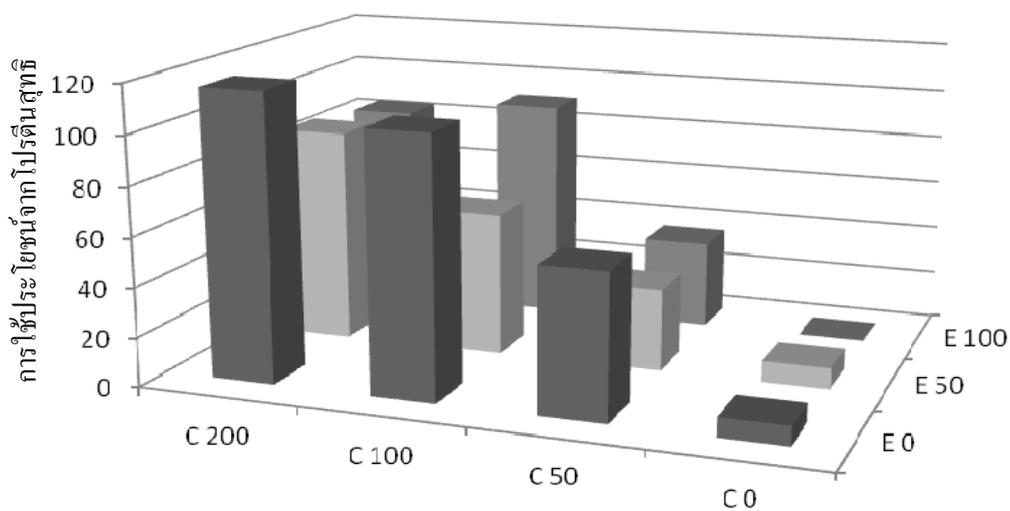
ภาพที่ 13 น้ำหนักที่เพิ่มของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์



ภาพที่ 14 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์



ภาพที่ 15 ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนของปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์



ภาพที่ 16 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ตารางที่ 4 น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีน  
 สุทธิของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ระดับวิตามินอี (ppm)	ระดับวิตามินซี (ppm)	น้ำหนักที่เพิ่ม (%)	น้ำหนักที่เพิ่มต่อ วัน (g/day)	อัตราการรอด ตาย (%)	FCR	PER	ANPU (%)
0	0	596.85	0.08	82.22	1.90	1.20	14.37
	50	767.76	0.12	88.89	1.56	1.55	21.97
	100	530.92	0.11	93.33	1.91	1.25	18.27
	200	773.34	0.11	91.11	1.57	1.58	22.76
50	0	495.78	0.07	88.89	2.26	1.10	15.56
	50	801.97	0.12	97.78	1.53	1.63	24.57
	100	941.12	0.14	88.89	1.42	1.73	26.56
	200	841.27	0.12	93.33	1.44	1.68	25.13
100	0	516.62	0.07	88.89	2.20	1.10	16.05
	50	797.10	0.12	91.11	1.67	1.51	22.58
	100	915.06	0.13	95.56	1.53	1.64	23.63
	200	711.35	0.10	82.22	1.76	1.36	21.26
Pooled SEM		22.298	0.004	1.015	0.040	0.035	0.516
วิตามินอี×วิตามินซี (P level)		0.066	0.851	0.123	0.092	0.170	0.370

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	น้ำหนักที่เพิ่ม (%)	น้ำหนักที่เพิ่ม ต่อวัน (g/day)	อัตราการรอด ตาย (%)	FCR	PER	ANPU (%)
วิตามินอี ( <i>P</i> level)		0.195	0.815	0.373	0.424	0.215	0.029
0		679.607	0.107	88.486	1.733	1.394	19.342 <sup>p</sup>
50		770.034	0.112	92.222	1.663	1.532	22.954 <sup>q</sup>
100		735.032	0.106	89.445	1.792	1.400	20.881 <sup>pq</sup>
วิตามินซี ( <i>P</i> level)		0.001	0.001	0.133	0.000	0.000	0.000
	0	536.418 <sup>w</sup>	0.076 <sup>w</sup>	86.668	2.122 <sup>x</sup>	1.132 <sup>w</sup>	15.327 <sup>w</sup>
	50	788.944 <sup>x</sup>	0.118 <sup>x</sup>	92.592	1.587 <sup>w</sup>	1.563 <sup>x</sup>	23.038 <sup>x</sup>
	100	828.794 <sup>x</sup>	0.126 <sup>x</sup>	92.500	1.619 <sup>w</sup>	1.537 <sup>x</sup>	22.819 <sup>x</sup>
	200	775.318 <sup>x</sup>	0.113 <sup>x</sup>	88.889	1.589 <sup>w</sup>	1.536 <sup>x</sup>	23.052 <sup>x</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยในสคริปต์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ( $p > 0.05$ ) ; a, b, c, d, e และ f สำหรับกลุ่มวิตามินอี×วิตามินซี ; p และ q สำหรับกลุ่มวิตามินอี ; w และ x สำหรับกลุ่มวิตามินซี

### องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลา

องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลา พบว่าปลาคุกลำพันกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 ppm มีค่าโปรตีนในร่างกาย 50.117% ซึ่งต่ำที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 100 และ 200 ppm ที่มีค่าโปรตีนในร่างกาย 52.228 และ 52.688% ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีที่มีค่าโปรตีนในร่างกาย 50.699% ( $p > 0.05$ ) และปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 200 ppm มีค่าโปรตีนในร่างกาย 52.688% ซึ่งสูงที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 และ 50 ppm ที่มีค่าโปรตีนในร่างกาย 50.699 และ 50.117% ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 100 ppm ที่มีค่าโปรตีนในร่างกาย 52.228% ( $p > 0.05$ ) ส่วนปลากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินอีมีค่าโปรตีนในร่างกาย 48.920% ซึ่งต่ำที่สุดแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 50 และ 100 ppm ที่มีค่าโปรตีนในร่างกาย 52.595 และ 52.783% ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกทั้งปลากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีมีค่าไขมันในร่างกาย 34.076% ซึ่งต่ำแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 และ 200 ppm ที่มีค่าไขมันในร่างกาย 38.696 และ 37.317% ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 100 ppm ที่มีค่าไขมันในร่างกาย 37.000% ( $p > 0.05$ ) ส่วนเถ้าและความชื้นพบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm มีค่าเปอร์เซ็นต์เถ้าอยู่ในช่วง 9.057-9.170% และค่าความชื้นอยู่ในช่วง 71.191-72.234% ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีที่มีค่าเปอร์เซ็นต์เถ้า 11.158 % และค่าความชื้น 73.736 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 5) สำหรับระดับของวิตามินอีพบว่าวิตามินอีทุกระดับไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ไขมัน เถ้า และความชื้น

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของปลาอุบลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	ความชื้น (%)
0	0	46.23	33.85	11.02	73.95
	50	48.77	39.81	9.47	71.55
	100	49.62	39.27	8.49	71.28
	200	51.05	39.08	8.63	72.34
50	0	53.43	32.86	12.04	74.26
	50	50.75	38.20	9.25	70.87
	100	53.47	36.40	9.23	71.82
	200	52.74	37.01	8.92	72.15
100	0	52.44	35.52	10.42	72.99
	50	50.83	38.09	8.79	71.15
	100	53.59	35.33	9.46	73.60
	200	54.27	35.86	9.62	72.03
Pooled SEM		0.312	0.524	0.156	0.227
วิตามินอี×วิตามินซี (P level)		0.221	0.797	0.319	0.395

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)	ความชื้น (%)
วิตามินอี ( <i>P</i> level)		0.000	0.272	0.493	0.944
0		48.920 <sup>p</sup>	38.001	9.401	72.283
50		52.595 <sup>q</sup>	36.119	9.859	72.287
100		52.783 <sup>q</sup>	36.196	9.576	72.443
วิตามินซี ( <i>P</i> level)		0.023	0.033	0.000	0.006
	0	50.699 <sup>wx</sup>	34.076 <sup>w</sup>	11.158 <sup>x</sup>	73.736 <sup>x</sup>
	50	50.117 <sup>w</sup>	38.696 <sup>x</sup>	9.170 <sup>w</sup>	71.191 <sup>w</sup>
	100	52.228 <sup>xy</sup>	37.000 <sup>wx</sup>	9.063 <sup>w</sup>	72.234 <sup>w</sup>
	200	52.688 <sup>y</sup>	37.317 <sup>x</sup>	9.057 <sup>w</sup>	72.178 <sup>w</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ( $p>0.05$ ) ; a, b, c, d, e และ f สำหรับกลุ่มวิตามินอี×วิตามินซี ; p และ q สำหรับกลุ่มวิตามินอี ; w และ x สำหรับกลุ่มวิตามินซี

## องค์ประกอบเลือด

องค์ประกอบเลือดของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 6 พบว่าปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีและอีทุกระดับไม่มีผลต่อค่าฮีมาโตคริต ส่วนค่าฮีโมโกลบินพบว่า วิตามินซีที่เสริมในอาหารมีผลต่อค่าฮีโมโกลบิน คือ ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าฮีโมโกลบิน 9.20 กรัม/เดซิลิตร ซึ่งน้อยกว่าปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm ที่มีค่าฮีโมโกลบิน 10.63, 10.31 และ 10.75 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่วิตามินอีที่เสริมในอาหารไม่มีผลต่อค่าฮีโมโกลบินของปลา คือ วิตามินอีทุกระดับมีค่าฮีโมโกลบินในช่วง 10.17-10.43 กรัม/เดซิลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) สำหรับปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดพบว่า วิตามินอีที่เสริมในอาหารมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด คือ ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 0 ppm มีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด  $1.53 \times 10^6$  เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินอี 50 และ 100 ppm ที่มีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด  $1.80 \times 10^6$  และ  $1.81 \times 10^6$  เซลล์/ไมโครลิตร ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่วิตามินซีที่เสริมในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดของปลา คือ วิตามินซีทุกระดับมีค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดอยู่ในช่วง  $1.59 \times 10^6$  -  $1.86 \times 10^6$  เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดพบว่า วิตามินซีที่เสริมในอาหารมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด คือ ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $4.09 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 200 ppm ที่มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $5.72 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 และ 100 ppm ที่มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $5.43 \times 10^3$  และ  $5.16 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร ( $p > 0.05$ ) และปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 200 ppm มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $5.72 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งสูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 0 ppm ที่มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $4.09 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 50 และ 100 ppm ที่มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด  $5.43 \times 10^3$  และ  $5.16 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร ( $p > 0.05$ ) ส่วนวิตามินอีที่เสริมในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดของปลา คือ วิตามินอีทุกระดับมีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดอยู่ในช่วง  $4.47 \times 10^3$  -  $5.56 \times 10^3$  เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ 6 องค์ประกอบเลือดของปลาอุกดำพันธ์ที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	ฮีมาโตคริต (%)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	RBC (cells/ $\mu$ l)	WBC (cells/ $\mu$ l)
0	0	38.66	8.53	$1.23 \times 10^6$	$3.25 \times 10^3$
	50	44.61	10.60	$1.65 \times 10^6$	$6.09 \times 10^3$
	100	44.89	10.11	$1.46 \times 10^6$	$4.01 \times 10^3$
	200	53.11	11.34	$1.74 \times 10^6$	$4.37 \times 10^3$
50	0	46.66	10.30	$1.93 \times 10^6$	$4.12 \times 10^3$
	50	50.87	10.09	$1.57 \times 10^6$	$5.26 \times 10^3$
	100	44.65	10.45	$1.78 \times 10^6$	$4.97 \times 10^3$
	200	53.82	10.87	$1.75 \times 10^6$	$6.10 \times 10^3$
100	0	47.75	8.65	$1.68 \times 10^6$	$4.83 \times 10^3$
	50	51.60	11.20	$1.61 \times 10^6$	$4.87 \times 10^3$
	100	44.89	10.33	$1.87 \times 10^6$	$5.65 \times 10^3$
	200	50.93	10.14	$2.08 \times 10^6$	$6.69 \times 10^3$
Pooled SEM		1.137	0.101	32542.510	154.469
วิตามินอี×วิตามินซี (P level)		0.958	0.101	0.210	0.494

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ระดับวิตามินอี (ppm) <sup>1</sup>	ระดับวิตามินซี (ppm) <sup>1</sup>	ฮีมาโตคริต (%)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	RBC (cells/ $\mu$ l)	WBC (cells/ $\mu$ l)
วิตามินอี (P level)		0.587	0.594	0.038	0.169
0		45.972	10.166	$1.53 \times 10^6$ <sup>p</sup>	$4.47 \times 10^3$
50		49.100	10.434	$1.80 \times 10^6$ <sup>q</sup>	$5.23 \times 10^3$
100		48.944	10.208	$1.81 \times 10^6$ <sup>q</sup>	$5.56 \times 10^3$
วิตามินซี (P level)		0.233	0.003	0.231	0.094
	0	44.264	$9.196$ <sup>w</sup>	$1.64 \times 10^6$	$4.09 \times 10^3$ <sup>w</sup>
	50	49.028	$10.629$ <sup>x</sup>	$1.59 \times 10^6$	$5.43 \times 10^3$ <sup>wx</sup>
	100	44.806	$10.308$ <sup>x</sup>	$1.81 \times 10^6$	$5.16 \times 10^3$ <sup>wx</sup>
	200	52.621	$10.750$ <sup>x</sup>	$1.86 \times 10^6$	$5.72 \times 10^3$ <sup>x</sup>

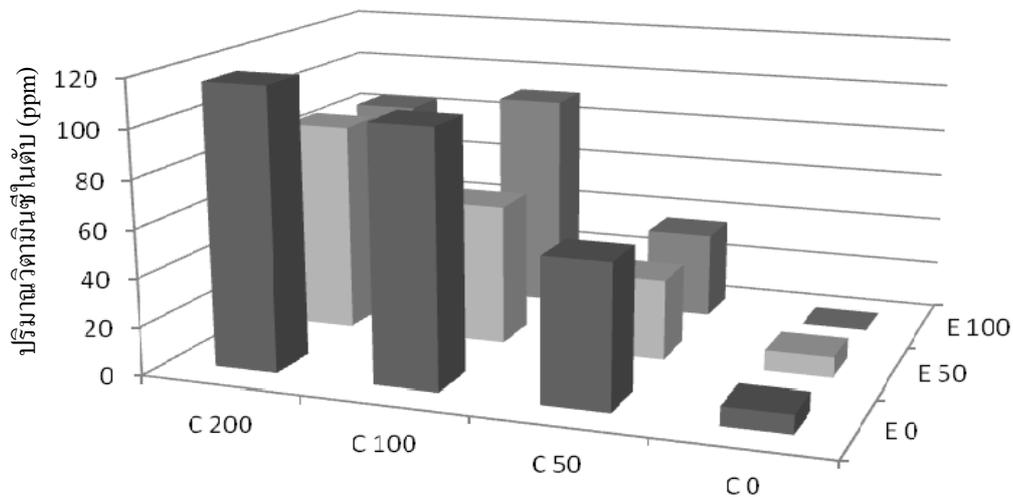
<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p > 0.05$ ) ; a, b, c, d, e และ f สำหรับกลุ่มวิตามินอี×วิตามินซี ; p และ q สำหรับกลุ่มวิตามินอี ; w และ x สำหรับกลุ่มวิตามินซี

## ปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้า

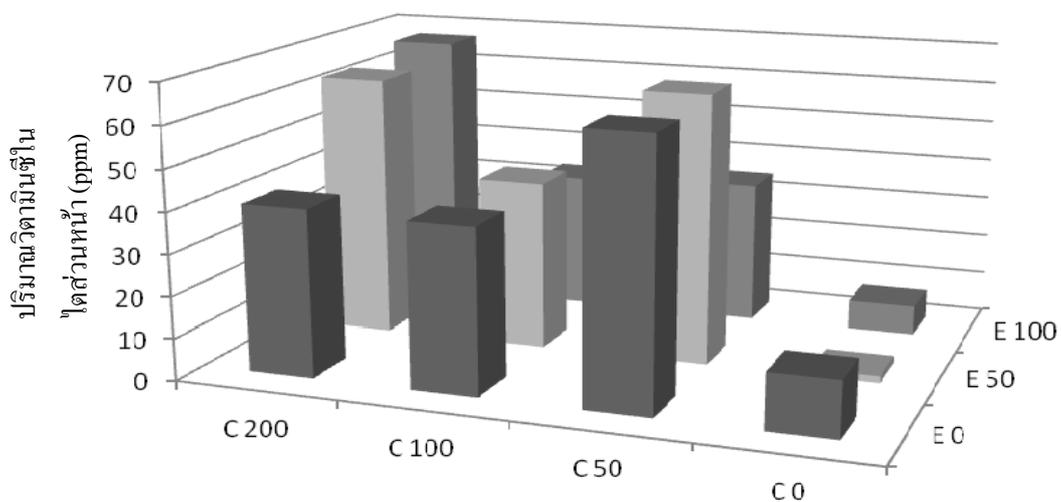
จากการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีที่มีในตับพบว่า วิตามินซีและวิตามินอีมีปฏิสัมพันธ์ต่อกันในเชิงผกผัน กล่าวคือปริมาณของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นในอาหารมีผลต่อปริมาณของวิตามินซีที่มีในตับ โดยเมื่อระดับของวิตามินอีในอาหารเพิ่มขึ้นปริมาณของวิตามินซีในตับจะมีแนวโน้มลดลง โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และวิตามินอี 0, 50 และ 100 ppm มีปริมาณวิตามินซีในตับ 7.79, 8.48 และ 0.00 ppm ซึ่งน้อยที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 200 ppm และวิตามินอี 0 ppm มีปริมาณวิตามินซีในตับ 116.52 ppm ซึ่งมากที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 7) แสดงดังภาพที่ 17

ในส่วนของการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในไตส่วนหน้า พบว่าระดับของวิตามินซีมีผลต่อปริมาณวิตามินซีในไตส่วนหน้า คือ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm มีปริมาณวิตามินซีในไตส่วนหน้า 7.448 ppm ซึ่งน้อยที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm ที่มีปริมาณวิตามินซีในไตส่วนหน้า 54.508, 37.957 และ 56.978 ppm ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 7) แสดงดังภาพที่ 18

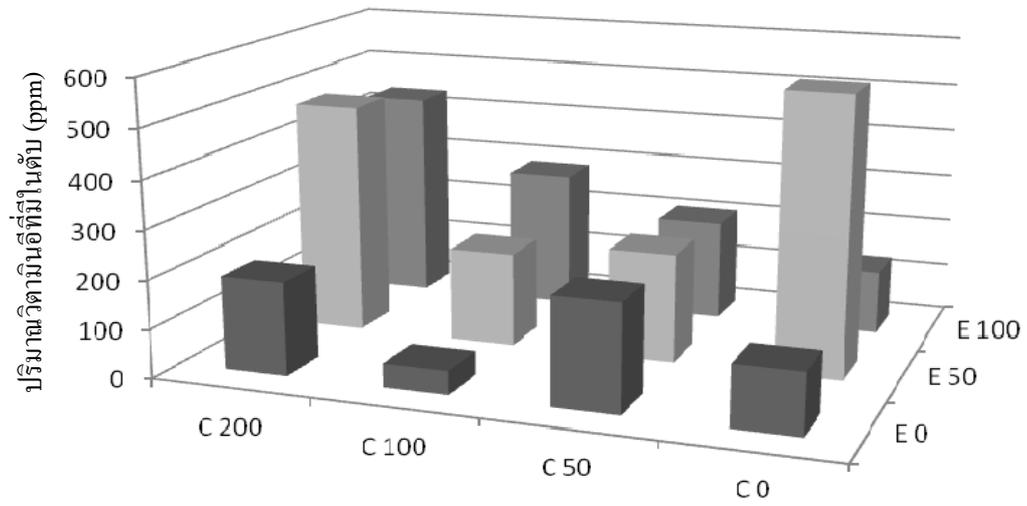
ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีในตับ พบว่าระดับของวิตามินอีในอาหารมีผลต่อปริมาณวิตามินอีในตับ คือ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm มีปริมาณวิตามินอีในตับ 139.821 ppm ซึ่งน้อยที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm ที่มีปริมาณวิตามินอีในตับ 348.006 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) จากปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 100 ppm ที่มีปริมาณวิตามินอีในตับ 261.676 ppm และปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm มีปริมาณวิตามินอีในตับ 348.006 ppm ซึ่งมากที่สุดแตกต่างจากปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm ที่มีปริมาณวิตามินอีในตับ 139.821 ppm อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) จากปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี 100 ppm ที่มีปริมาณวิตามินอีในตับ 261.676 ppm (ตารางที่ 7) แสดงดังภาพที่ 19



ภาพที่ 17 ปริมาณวิตามินซีที่มีในตัวของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์



ภาพที่ 18 ปริมาณวิตามินซีที่มีในไตส่วนหน้าของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์



ภาพที่ 19 ปริมาณวิตามินอีที่มีในตัวของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ตารางที่ 7 ปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้าของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

ระดับวิตามินอี (ppm)	ระดับวิตามินซี (ppm)	ปริมาณ วิตามินซีในตับ (ppm)	ปริมาณวิตามินซีใน ไตส่วนหน้า (ppm)	ปริมาณ วิตามินอีในตับ (ppm)
0	0	7.79 <sup>a</sup>	13.52	125.18
	50	58.75 <sup>c</sup>	63.61	220.11
	100	104.95 <sup>ef</sup>	39.68	48.95
	200	116.52 <sup>f</sup>	40.37	191.81
50	0	8.48 <sup>a</sup>	1.69	569.82
	50	33.42 <sup>b</sup>	65.04	224.29
	100	58.44 <sup>c</sup>	40.79	194.10
	200	87.32 <sup>de</sup>	63.57	477.76
100	0	0.00 <sup>a</sup>	7.13	131.39
	50	35.80 <sup>b</sup>	34.87	208.05
	100	90.70 <sup>de</sup>	33.40	286.04
	200	83.96 <sup>d</sup>	66.99	435.86
Pooled SEM		2.181	3.914	36.034
วิตามินอี×วิตามินซี ( <i>P</i> level)		0.021	0.288	0.370

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ระดับวิตามินอี (ppm)	ระดับวิตามินซี (ppm)	ปริมาณ วิตามินซีในตับ (ppm)	ปริมาณวิตามินซีใน ไตส่วนหน้า (ppm)	ปริมาณ วิตามินอีในตับ (ppm)
วิตามินอี ( <i>P</i> level)		0.000	0.654	0.046
0		70.527	36.431	139.821 <sup>p</sup>
50		41.721	38.210	348.006 <sup>q</sup>
100		50.490	32.436	261.676 <sup>pq</sup>
วิตามินซี ( <i>P</i> level)		0.000	0.000	0.228
	0	5.128	7.448 <sup>w</sup>	253.993
	50	43.509	54.508 <sup>x</sup>	217.155
	100	84.700	37.957 <sup>x</sup>	176.362
	200	94.223	56.978 <sup>x</sup>	360.051

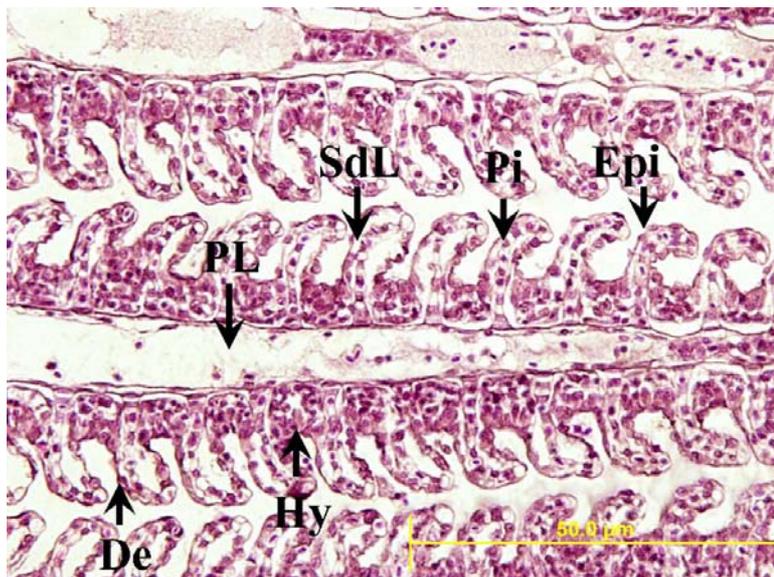
<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p > 0.05$ ) ; a, b, c, d, e และ f สำหรับกลุ่มวิตามินอี×วิตามินซี ; p และ q สำหรับกลุ่มวิตามินอี ; w และ x สำหรับกลุ่มวิตามินซี

## การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

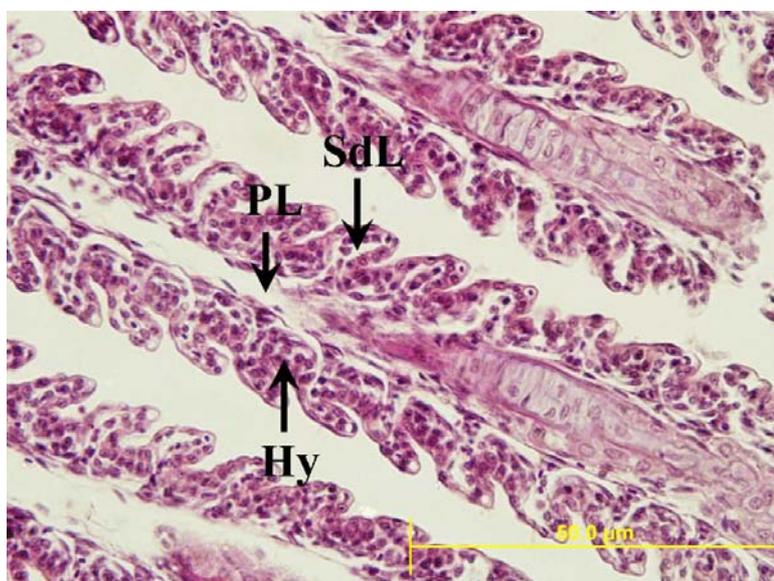
การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อเหงือก ตับ และไต ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลอง สูตรต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์พบว่า เนื้อเยื่อเหงือกของปลาคูกลำพันประกอบด้วยซี่กรอง (Gill Raker) และซี่เหงือก (Gill Filament) ตั้งอยู่ตรงข้ามกัน บนส่วนของแกนเหงือกโดยซี่เหงือก มีลักษณะเป็นแขนงยื่นออกมาจากแกนเหงือก ประกอบด้วยไพรมารี ลามेलลี (Primary Lamellae) และเซคคันดารี ลามेलลี ซึ่งบริเวณเซคคันดารี ลามेलลี มีเซลล์บุผิวแบบสความัส (Squamous Epithelial Cells) ปกคลุมเป็นชั้นเนื้อเยื่อบุผิว ภายในพบเซลล์พิลลาร์ (Pillar Cells) เชื่อมต่อกันเป็น ตัวค้ำจุน เกิดเป็นท่อเลือดขนาดเล็ก ซึ่งเป็นช่องที่เม็ดเลือดผ่าน ไปแลกเปลี่ยนก๊าซกับน้ำ ซึ่งเนื้อเยื่อ เหงือกของปลาคูกลำพันในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50, 100 และ 200 ppm ไม่แสดงพยาธิ สภาพของเนื้อเยื่อใด ๆ ดังแสดงในภาพที่ 23 แต่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในปลากลุ่มที่ขาดอาหาร เสริมวิตามินซี คือ เซลล์บุผิวเหงือกของเซคคันดารี ลามेलลี มีการแยกตัว และเกิดการแบ่งเซลล์มาก ผิดปกติของเซลล์บุผิวบริเวณเซคคันดารี ลามेलลี แสดงดังภาพที่ 20-22

เนื้อเยื่อตับของปลาคูกลำพันประกอบด้วยเซลล์ตับ (Hepatocyte) มีลักษณะเป็นรูปหลาย เหลี่ยม นิวเคลียสกลมอยู่ตรงกลางเซลล์ พบไซนัสซอยด์ (Sinusoid) แทรกระหว่างเซลล์ตับได้ทั่วไป ซึ่งพบว่าระดับของวิตามินซีและอีที่เสริมในอาหาร ไม่มีผลต่อพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับของปลา คูกลำพันแสดงดังภาพที่ 24 และ 25

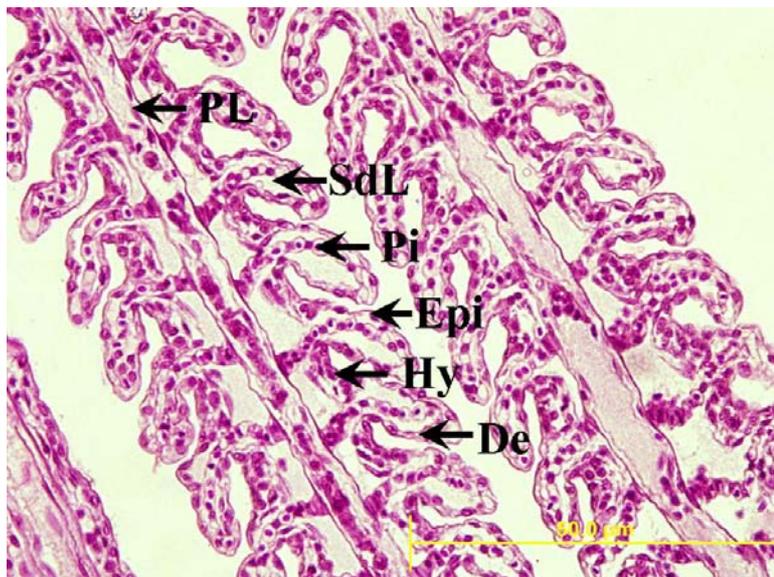
เนื้อเยื่อไตของปลาคูกลำพันประกอบด้วยเนฟรอน (Nephrons) เป็นหน่วยทำงานของไต สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ เรนอล คอพัสเคิล ประกอบด้วย โกลเมอรูลัสเป็นกลุ่มของเส้น เลือดฝอย ที่ถูกล้อมรอบด้วย โบว์แมน แคปซูล (Bowman's Capsule) และเรนอล ทูบูล (Renal Tubule) เป็นท่อไตที่เชื่อมต่อจากเรนอล คอพัสเคิล ประกอบด้วย เซลล์บุผิวแบบคิวบอยดอย (Cuboidal Epithelium Cell) เป็นเซลล์บุผิวท่อ ซึ่งพบว่าระดับของวิตามินซีและอีที่เสริมในอาหาร ไม่มีผลต่อพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตของปลาคูกลำพันแสดงดังภาพที่ 26 และ 27



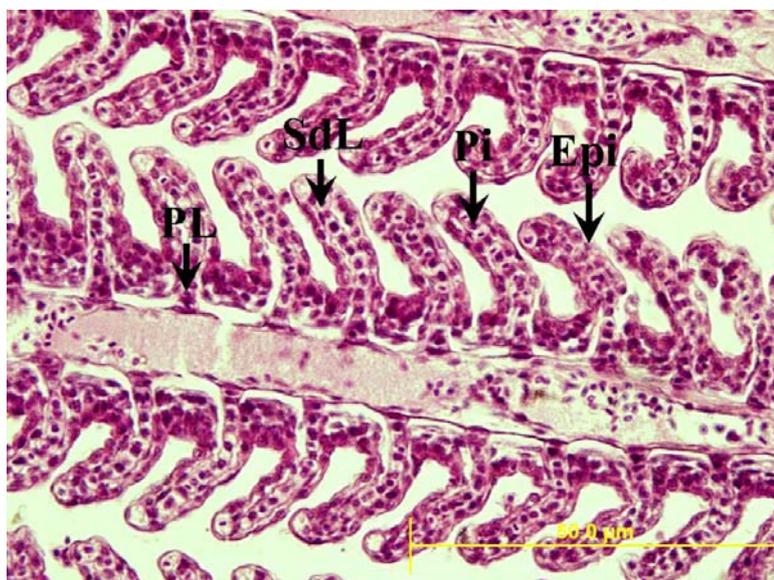
ภาพที่ 20 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm (H and E, 40×) (PL : Primary Lamellar, SdL : Secondary Lamellae, Epi : Epithelial Cell, Pi : Pillar Cells) เกิดการแยกตัวของเซลล์บุผิวเหงือกบริเวณเชคคันดารี ลามลลี้ (De : Detachment) และการแบ่งเซลล์มากผิดปกติของเซลล์บุผิวบริเวณเชคคันดารี ลามลลี้ (Hy : Hyperplasia)



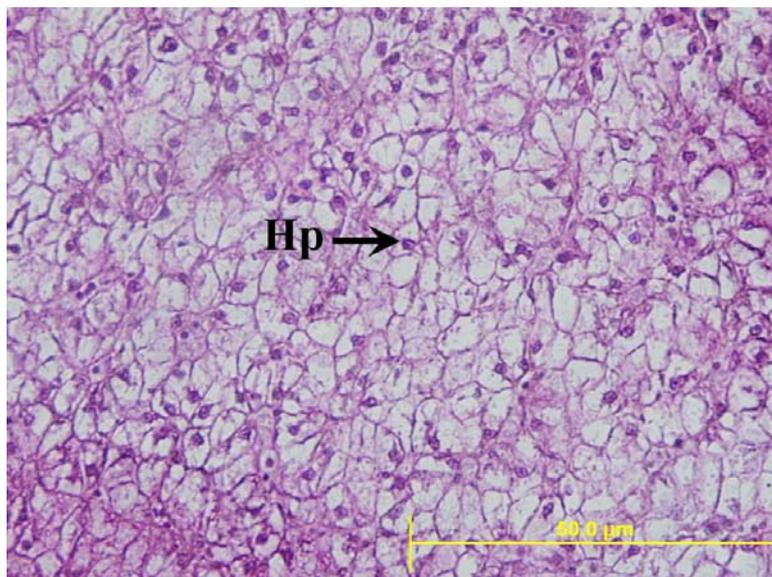
ภาพที่ 21 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm (H and E, 40×) (PL : Primary Lamellar, SdL : Secondary Lamellae) เกิดการแบ่งเซลล์มากผิดปกติของเซลล์บุผิวบริเวณเชคคันดารี ลามลลี้ (Hy : Hyperplasia)



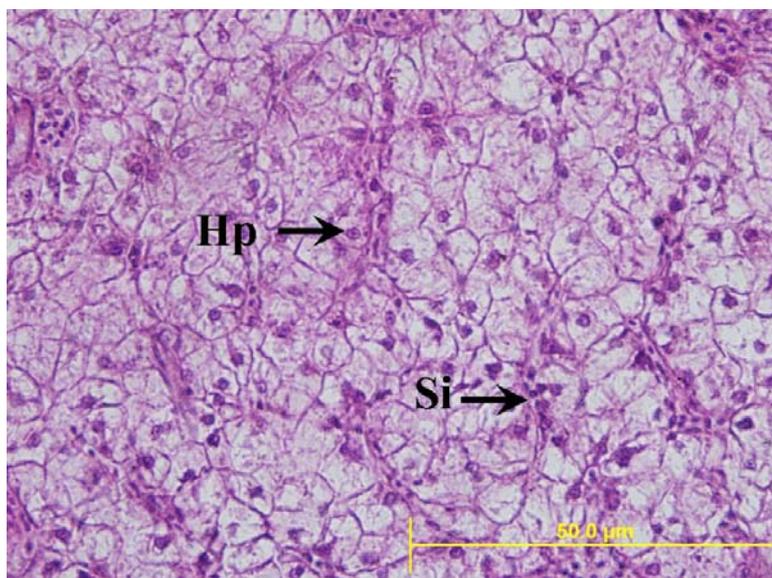
ภาพที่ 22 เนื้อเยื่อเหงือกของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 100 ppm (H and E, 40×) (PL : Primary Lamellar, SdL : Secondary Lamellae, Epi : Epithelial Cell, Pi : Pillar Cells) เกิดการแยกตัวของเซลล์บุผิวเหงือกบริเวณเชคคั่นดารี ลามेलลี (De : Detachment) และการแบ่งเซลล์มากผิดปกติของเซลล์บุผิวบริเวณเชคคั่นดารี ลามेलลี (Hy : Hyperplasia)



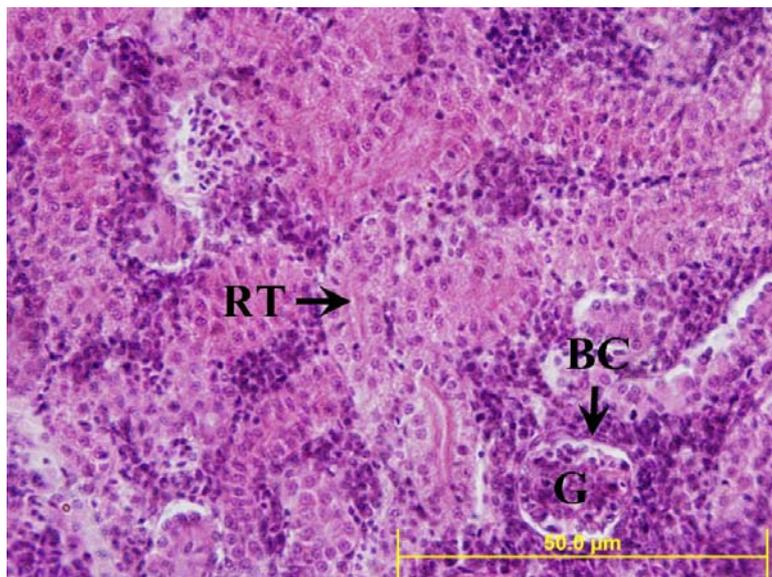
ภาพที่ 23 เนื้อเยื่อปกติของเหงือกปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm (H and E, 40×) (PL : Primary Lamellar, SdL : Secondary Lamellae, Epi : Epithelial Cell, Pi : Pillar Cells)



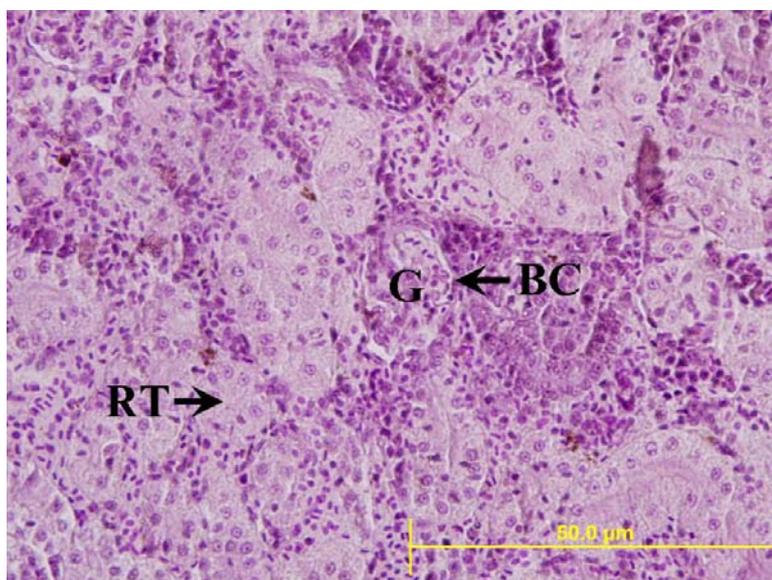
ภาพที่ 24 เนื้อเยื่อปกติของตับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm (H and E, 40×) (Hp : Hepatocyte)



ภาพที่ 25 เนื้อเยื่อปกติของตับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm (H and E, 40×) (Hp : Hepatocyte, Si : Sinusoid)



ภาพที่ 26 เนื้อเยื่อปกติของไตปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 0 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 0 ppm (H and E, 40×) (G : Glomerulus, BC : Bowman's Capsule, RT : Renal Tubule)



ภาพที่ 27 เนื้อเยื่อปกติของไตปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm และอาหารเสริมวิตามินอี 50 ppm (H and E, 40×) (G : Glomerulus, BC : Bowman's Capsule, RT : Renal Tubule)

## บทที่ 5

### อภิปรายผล สรุปผล และข้อเสนอแนะ

#### อภิปรายผล

จากการศึกษาวิตามินซีและอีที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเปลี่ยน ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์ประกอบเลือด และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกลำพันเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าในด้านการเจริญเติบโต วิตามินซีและอีที่เสริมในอาหารไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน กล่าวคือการให้วิตามินอีในระดับที่สูงขึ้นไม่มีส่วนช่วยให้ปลามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ถ้าหากปลาได้รับวิตามินซีน้อย เฉพาะระดับของวิตามินซีมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพัน โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีทุกระดับมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่ม น้ำหนักที่เพิ่มต่อวันและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี แสดงให้เห็นว่าระดับของวิตามินซีมีผลต่อการเมทาบอลิซึมของร่างกาย โดยปลาขาดวิตามินซีมีการเจริญเติบโตต่ำรวมทั้งอัตราการแลกเปลี่ยนสูง ซึ่งเกิดขึ้นจากการขาดวิตามินซีมีผลให้การสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในตัวปลาลดลง เนื่องจากวิตามินซีมีส่วนสำคัญต่อการสร้างพันธะภายในเส้นใยคอลลาเจน โดยทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์โพรลิดไฮโดรไซเลส ในการผลิตไฮดรอกซีโพรลีน เพื่อให้เส้นใยคอลลาเจนสมบูรณ์ ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง เมื่อปลาสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้น้อยลงจึงทำให้โครงสร้างของอวัยวะต่างๆ มีพัฒนาการผิดปกติ รวมทั้งโปรตีนคอลลาเจนยังเป็น โครงสร้างที่ค้ำจุนร่างกายเมื่อปลาสร้างคอลลาเจนและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้น้อยลงจึงมีการเจริญเติบโตช้าลง (Garrett and Grisham, 1999 : 176 ; Halver and Hardy, 2002 : 99-107) อีกทั้งวิตามินซียังมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างฮอร์โมนนอร์เอพิเนฟริน (Norepinephrine Hormone) โดยเป็นฮอร์โมนที่จะเปลี่ยนต่อไปเป็นฮอร์โมนเอพิเนฟริน (Epinephrine Hormone) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการเมทาบอลิซึมของร่างกาย (Caballero, Allen and Prentice, 2007 : 171) รวมทั้งวิตามินซียังเป็นโคแฟกเตอร์ในการสังเคราะห์คาร์นิทีนที่ทำหน้าที่นำกรดไขมันเข้าสู่ไมโทคอนเดรียภายในเซลล์ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเบตาออกซิเดชันของไขมัน (Baker, ClareMcCormick and Robergs, 2010 : 10) สอดคล้องกับการทดลองในปลาชนิดอื่น ๆ ได้แก่ การศึกษาการเสริมวิตามินซีในรูปแบบแอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต-แมกนีเซียม (Ascorbyl-2-Monophosphate-Magnesium) ที่ระดับ 0, 30, 60 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ในปลากะพงขาว (*Seabass, Lates calcarifer*) อายุ 1.5 เดือน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีน้ำหนักที่เพิ่มน้อย และอัตราการเปลี่ยนอาหาร

เป็นเนื้อสูงแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี (Phromkunthong, Boonyaratpalin and Storch. 1997 : 228-229) ส่วนการศึกษาเสริมวิตามินซีในรูปแอสคอร์บิล โพลีฟอสเฟตที่ระดับ 0, 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลากระพงแดงน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 9 กรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า อัตราการเปลี่ยนเป็นเนื้อและอัตราการกินอาหารในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าสูง และประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนมีค่าต่ำ แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี (Henrique, Gomes, Gouillou-Coustans, Oliva-Teles and Davies. 1998 : 418-419) หรือ การเปรียบเทียบรูปแบบของวิตามินซีในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟต แอล-แอสคอร์บิล-2-ซัลเฟต และแอล-แอสคอร์บิล เอซิดที่ระดับ 0, 30, 50, 70, 90 และ 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลานิล (*Tilapia, Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) ขนาดเฉลี่ยเริ่มต้น 1.53 กรัม เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพของอาหาร ต่ำกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีทุกรูปแบบ (Shiau and Hsu. 1995 : 151) อีกทั้ง การศึกษาการเสริมวิตามินซีในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โมโนฟอสเฟตที่ระดับ 0, 40, 80, 160 และ 700 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลาปักเป้า (Tiger Puffer, *Takifugu rubripes*) ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 35 กรัม เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าต่ำ เมื่อเทียบกับปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีทุกระดับ (Eo and Lee. 2008 : 613) และ การศึกษาการเสริมวิตามินซีในรูปแอล-แอสคอร์บิล-2-โพลีฟอสเฟตที่ระดับ 0, 12.2, 23.8, 47.6, 89.7, 188.5 และ 489.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลากระพงญี่ปุ่น (Japanese Seabass, *Lateolabrax japonicus*) ขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย 6.26 กรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเมื่อสิ้นสุด การทดลอง และประสิทธิภาพของอาหารในปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี และปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 12.2 และ 23.8 0 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร มีค่าต่ำกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 47.6, 89.7, 188.5 และ 489.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร (Ai, Mai, Zhang, Xu, Duan, Tan and Liufu. 2004 : 493-495) เป็นต้น

นอกจากนี้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิใน ปลาคุกก่าพันธุ์กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีจะมีค่าสูงกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี กล่าวคือ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิจะมีค่าสูงเมื่อ ปลาได้รับอาหารที่เสริมวิตามินซี ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนในตัวปลาที่พบว่าจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของวิตามินซีเพิ่ม โดยปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี และปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50 ppm มีปริมาณโปรตีนในร่างกายน้อยที่สุด และปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 200 ppm มีปริมาณโปรตีนในร่างกายมากที่สุด แสดงว่าการเสริมวิตามินซีใน

อาหารที่ระดับ 50 ppm ไม่เพียงพอต่อความต้องการในด้านการสร้างโปรตีนของร่างกาย ทั้งนี้ นอกจากวิตามินซีจะมีหน้าที่ในปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของโปรตีน ซึ่งมีผลต่อการสร้างคอลลาเจน โดยเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญและเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีปริมาณมากในร่างกาย และวิตามินซียังมีหน้าที่ในการรีดิวซ์ฮีโมโกลบินและทองแดงในร่างกายสัตว์น้ำ โดยทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของ เอนไซม์ในกระบวนการสร้างโปรตีน (Caballero, Allen and Prentice. 2007 : 171-173) รวมถึงการขาดวิตามินซียังมีผลต่อกระบวนการเบต้า-ออกซิเดชันของไขมัน ทำให้ร่างกายเผาผลาญไขมันเพื่อมาใช้เป็นพลังงานได้น้อยลง (Caballero, Allen and Prentice. 2007 : 171-173 ; Baker, ClareMcCormick and Robergs. 2010 : 10) จึงเป็นเหตุให้ปลาที่ได้รับวิตามินซีในปริมาณน้อยหรือขาดวิตามินซีมีปริมาณโปรตีนในตัวลดลง เพราะต้องนำพลังงานจากโปรตีนมาใช้ในการดำรงชีวิต

สำหรับการเสริมวิตามินอีในอาหารพบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต รวมทั้งไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน สอดคล้องกับการศึกษาเสริมวิตามินอีที่ระดับ 0, 20, 40 และ 100 IU/กิโลกรัม แก่ปลาแซลมอน (*Coho Salmon, Oncorhynchus kisutch*) น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 385 กรัม เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าวิตามินอีที่เสริมในอาหารทุกระดับไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต โดยอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าไม่แตกต่างกันในปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอีทุกระดับ (Huang, Higgs, Balfry and Devlin. 2004 : 201-202) และการศึกษาในปลานิลน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.73 กรัม ที่ทดลองให้อาหารเสริมวิตามินอีที่ระดับ 20, 63, 108, 206, 474 และ 720 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 14 สัปดาห์พบว่าอาหารเสริมวิตามินอีทุกระดับไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต โดยน้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าไม่แตกต่างกันทุกกลุ่มทดลอง (Huang, Chang, Huang and Chen. 2003 : 267-268) และการทดลองในปลาคูกลำพันครั้งนี้ พบว่าการเสริมวิตามินอีในอาหารมีผลต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ กล่าวคือระดับของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นอย่างเพียงพอต่อความต้องการมีผลต่อการใช้โปรตีนเพื่อการสร้างเนื้อเยื่อ อีกทั้งเมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในตัวปลาก็พบว่าปริมาณมากขึ้นเมื่อระดับของวิตามินอีในอาหารมากขึ้น ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากวิตามินอีทำหน้าที่ป้องกันการเสียสภาพของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเมื่อในอาหารปลาปริมาณวิตามินอีน้อย ไขมันบางส่วนในอาหารจะเกิดการเสียสภาพจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้ปลาอาจได้รับไขมันจากอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการส่งผลให้พลังงานรวมที่ปลาจะได้รับน้อยลง ปลาจึงต้องเผาผลาญโปรตีนที่ได้รับไปใช้ในการสร้างพลังงานให้เพียงพอต่อการดำรงชีวิต และเหลือโปรตีนสำหรับใช้สะสมในร่างกายน้อยลง (Huang et al. 2003 : 267-268) สอดคล้องกับการศึกษาของวาง, ยูน และอึ้ง (Wang, Yuen and Ng. 2006 : 586-587) ที่ทดลองเสริมวิตามินอีที่ระดับ 0, 30, 60, 120 และ 240 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลานิลแดง (Red Hybrid

Tilapia, *Oreochromis* sp.) น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 6.00 กรัม เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าระดับของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นในอาหารทำให้ปริมาณโปรตีนในตัวปลาเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของฮังและคณะ (Huang et al. 2003 : 267-268) ซึ่งก็พบว่าระดับของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นในอาหารทำให้ปริมาณโปรตีนในตัวปลาเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

ในส่วนของไขมันในตัวปลาพบว่าวิตามินซีและอีที่เสริมในอาหารไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน แต่ระดับของวิตามินซีมีผลต่อไขมันในตัวปลา คือ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีมีไขมันในตัวปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี เนื่องจากการขาดวิตามินซีมีผลต่อกินอาหารของปลา โดยปลาจะกินอาหารน้อยลงส่งผลให้ไขมันในตัวปลาลดลงเนื่องจากปลานำไขมันที่ได้ไปใช้เพื่อสร้างพลังงานในการดำรงชีวิต (Wang et al. 2003 : 207-208) สำหรับถั่วและความชื้น พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีมีค่าถั่วและความชื้นน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี บ่งชี้ว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี ซึ่งก็เป็นไปในทางเดียวกับผลการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเรนโบว์เทราท์ (Rainbow Trout) ที่เสริมวิตามินอีและซีที่ระดับต่าง ๆ รวมทั้งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในอาหาร เป็นเวลา 42 วัน พบว่า ไขมันในตัวปลาของปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีมีค่าน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี และความชื้นในตัวปลาของกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี ส่วนถั่วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการได้รับและไม่ได้รับวิตามินซี (Trenzado, Morales and Higuera. 2008 : 293-302) สำหรับระดับของวิตามินอีในอาหารพบว่าไม่มีผลต่อค่าไขมัน ถั่ว และความชื้นของร่างกายปลา สอดคล้องกับในการศึกษาเสริมวิตามินอีในอาหารที่ระดับ 0, 25, 50, 100, 200 และ 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร แก่ปลาสเตอร์เจียนขาว (Beluga, *Huso huso* L.) น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 49.7 กรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าระดับของวิตามินอีไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลา ได้แก่โปรตีน ไขมัน ถั่ว และความชื้น (Amlashi, Falahatkar, Sattari and Tolouei Gilani. 2011 : 809-810) รวมทั้งการศึกษาในปลานิลที่ทดลองเสริมวิตามินอีในอาหารที่ระดับ 0, 40, 80, 120, 200 และ 300 IU/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 14 สัปดาห์ ซึ่งก็พบว่าระดับของวิตามินอีไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลาเช่นเดียวกัน (Huang and Huang. 2004 : 385)

นอกจากนี้ในปลาที่ขาดวิตามินซียังพบลักษณะภายนอกที่ผิดปกติ ได้แก่ ขนาดและรูปร่างเล็ก ตกเลือดบริเวณส่วนหัวและครีบหลัง หนวดकुดสั้น และส่วนของครีบหลังและครีบหางสีกร่อน สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเกะพงญี่ปุ่น (Ai et al. 2004 : 493-494) ปลาเกะพงขาว (Phromkunthong, Boonyaratpalin and Storch. 1997 : 228) และปลานิล (Shiau and Hsu. 1995 : 151) แต่ไม่พบอาการกระดูกคดงอทั้งสโคลิโอซิส (Scoliosis) และโลร์โดซิส (Lordosis) ตามที่มี

การศึกษาในปลาเรนโบว์เทราท์น้ำหนักเริ่มต้น 0.09 กรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (Falahatkar, Dabrowski and Arslan. 2011 : 4-5) และปลากะพงญี่ปุ่นน้ำหนักเริ่มต้น 6.26 กรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Ai et al. 2004 : 493-494) เนื่องจากปลาในกลุ่มแคทฟิช (Catfish) มีความต้องการวิตามินซีในระดับต่ำเพราะร่างกายใช้ออกซิเจนในการเมทาบอลิซึมน้อย จึงมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อย ปลาจึงมีความต้องการวิตามินซีน้อย ในการใช้กำจัดอนุมูลอิสระและนำมาใช้ในปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างกระดูกได้อย่างเพียงพอ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเทราท์และปลากะพง ที่ต้องการวิตามินซีในปริมาณที่มากกว่าเพราะร่างกายใช้ออกซิเจนในการเมทาบอลิซึมมาก จึงมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมาก ปลาจึงมีความต้องการวิตามินซีที่มากเพื่อใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระและในปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน ดังนั้นการขาดวิตามินซีของปลาคูกลำพันจึงไม่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างกระดูก ซึ่งเวลาในการทดลองอาจน้อยเกินไปจึงไม่พบอาการขาดวิตามินซีที่มีผลต่อโครงสร้างกระดูก (Lim and Lovell. 1978 : 1145-1146)

สำหรับผลของวิตามินซีและอีที่มีต่อองค์ประกอบเลือดพบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน ทั้งค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว โดยปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีและอีทุกระดับมีค่าฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกันแสดงว่าทั้งวิตามินซีและอีไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น สอดคล้องกับการศึกษาในปลาช่อนเมซอน (Pirarucu, *Arapaima gigas*) ที่ทดลองเสริมวิตามินซีและอีที่ระดับต่าง ๆ 500, 800 และ 1200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าระดับของวิตามินซีและอีไม่มีผลต่อค่าฮีมาโตคริต (Andrade, Ono, Menezes, Brasil, Roubach, Urbinati, Tavares-Dias, Marcon and Affonso. 2007 : 578-579) เช่นเดียวกับการศึกษาในปลาโกลเดน ซินเนอ ที่เสริมวิตามินซี 23, 43, 98, และ 222 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร และวิตามินอี 0 และ 38 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 17 สัปดาห์ ก็พบว่าทั้งวิตามินซีและอีไม่มีผลต่อค่าฮีมาโตคริต (Chen et al. 2004 : 561-562) แต่ในส่วน of ค่าฮีโมโกลบินของการทดลองครั้งนี้พบว่าวิตามินซีมีผลต่อค่าฮีโมโกลบิน คือปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีค่าฮีโมโกลบินต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี เนื่องจากวิตามินซีมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึมของธาตุเหล็ก โดย ทำให้เหล็กในรูปเฟอร์ริกที่เกาะกับโปรตีนทรานเฟอร์ริน ในพลาสมาหลุดออกเป็นอิสระเพื่อทำการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน (Na, Delanghe, Taes, Torck, Baeyens and Ouyang. 2006 : 319-320) และระดับของวิตามินซียังมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวคือปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีปริมาณเม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี เนื่องจากคุณสมบัติในการเป็นสารป้องกันอนุมูลอิสระ จึงมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวและป้องกันการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว (Halliwell. 2001 : 30-31 ; Kasvosve, Delanghe, Gomo,

Gangaidzo, Khumalo, Langlois, Moyo, Saungweme, Mvundura, Boelaert and Gordeuk. 2002 : 322) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลานวลจันทร์น้ำจืด (*Calta, Catla catla*) โดยทดลองเสริมวิตามินซีที่ระดับ 50, 250, 500 และ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 45 วัน พบว่าการเสริมวิตามินซีในอาหารช่วยให้ค่าฮีโมโกลบินและปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงขึ้น (Vani, Saharan, Mukherjee, Ranjan, Kumar and Brahmchari. 2011 : 18-19) เช่นเดียวกับการศึกษาอาหารเสริมวิตามินซีและโปรไบโอติก แก่ปลาชี่สกเทศ (*Indian Major Carp, Labeo rohita*) เป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีมีปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มมากขึ้น (Nayak, Swain and Mukherjee. 2007 : 894-895) สำหรับวิตามินอี พบว่ามีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดง โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณเม็ดเลือดแดงน้อยกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินอี เนื่องจากวิตามินอีมีคุณสมบัติในการป้องกันอนุมูลอิสระซึ่งจะไปออกซิไดส์โครงสร้างของฟอสโฟลิปิดบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของวิตามินที่กล่าวว่าวิตามินอีช่วยในการยืดอายุของเม็ดเลือดแดงโดยช่วยป้องกันการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid Peroxidation) ของเยื่อหุ้มเซลล์ และยังช่วยเพิ่มปริมาณของเม็ดเลือดแดงในร่างกาย (Peuchant, Beauvieux, Dubourg, Thomas, Perromat, Aparicio, Clerc and Combe. 1997 : 316-319 ; Galli, Varga, Balla, Ferraro, Canestrari, Floridi, Kakuk and Buoncristiani. 2001 : 152-153)

ในการศึกษาผลของปริมาณวิตามินซีและอีที่มีในตับและไตส่วนหน้า พบว่า การเสริมวิตามินซีและอีในอาหารมีปฏิสัมพันธ์ในเชิงลบต่อกัน กล่าวคือเมื่อปลาได้รับอาหารเสริมวิตามินอีในระดับที่สูงขึ้น จะมีปริมาณวิตามินซีในตับลดลง ปฏิสัมพันธ์ในลักษณะดังกล่าวอาจเกิดขึ้นจากการได้รับวิตามินอีสูงขึ้น จะทำให้มีการสะสมวิตามินอีในตับปลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อวิตามินอีเข้าสู่ร่างกายจะมีลิโปโปรตีนเป็นตัวพาวิตามินอีเข้าสู่เซลล์เพื่อสะสมที่ไมโครโซม (Microsome) (Thakur and Srivastava. 1996 : 1776-1777) หากปลาได้รับวิตามินอีมากไมโครโซมที่เก็บสะสมวิตามินอีในเซลล์จะมีปริมาณมาก (Jensen, Lauridsen and Bertelsen. 1998 : 63-66) ในขณะที่ขนาดของเซลล์ตับยังมีปริมาตรเท่าเดิมจึงส่งผลให้ปริมาตรไซโตพลาซึมของเซลล์ลดลง เมื่อปริมาตรของไซโตพลาซึมลดลง ปริมาณวิตามินซีที่สะสมในไซโตพลาซึมจึงลดลง (Harrison and May. 2009 : 720) ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีที่มีในไตส่วนหน้า และปริมาณวิตามินอีที่มีในตับพบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน ซึ่งพบว่าระดับของวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นในอาหารมีผลให้ปริมาณวิตามินซีที่ไตส่วนหน้าเพิ่มขึ้นด้วยเพราะวิตามินซีมีหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ในการเปลี่ยนจากโดปามีน (Dopamine) ไปเป็นเอนไซม์นอร์เอพิเนฟรินซึ่งสร้างบริเวณไตส่วนหน้าของปลา เช่นเดียวกับที่พบในปลาชนิดอื่น ได้แก่ ปลากดอเมริกัน (Li, Johnson and Robinson. 1993 : 308-309) ปลา

จวดเหลือง (Yellow Croaker, *Pseudosciaena crocea*) (Ai, Mai, Tan, Xu, Zhang, Ma and Liufu. 2006 : 331) ปลาเรนโบว์เทราท์ (Verlhac, Gabaudan, Obach, Schiiep and Hole. 1996 : 127-128) และปลานวลจันทร์เทศ (Hamilton, *Cirrhinus mrigala*) (Sobhana, Mohan and Shankar. 2002 : 228-229) อีกทั้งระดับของวิตามินอีที่เพิ่มขึ้นในอาหารก็จะมีปริมาณของวิตามินอีในตับเพิ่มขึ้น สอดคล้องการศึกษาในปลาชนิดอื่น ได้แก่ ปลาโกลเดน ซินเนอ (Chen et al., 2004 : 560-561) ปลาแซลมอน (Huang, Higgs, Balfry and Devlin. 2004 : 201-202) และปลานิล (Lim, Yildirim-Aksoy, Li, Welker and Klesius. 2009 : 78-79 ; Huang and Huang. 2004 : 385-386)

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อเหงือก ตับ และไต ของปลาคูกลำพันพบเฉพาะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกเฉพาะในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี คือ การแยกตัวของเซลล์บุผิวเหงือกบริเวณเซคคันดารี ลามेलลีเนื่องจากการขาดวิตามินซีที่เป็นองค์ประกอบร่วมของเอนไซม์ที่ใช้สร้างไฮดรอกซีโปรตีน และไฮดรอกซีไลซีน ซึ่งมีผลต่อการสร้างคอลลาเจน การขาดวิตามินซีทำให้คอลลาเจนที่สร้างได้ไม่แข็งแรง เป็นเหตุให้การยึดตัวของเซลล์บุผิวกับเซลล์ฟิลลารีไม่แน่นหนา จึงมีการสร้างเซลล์บุผิวมากผิดปกติ เพื่อป้องกันหลุดออกของเซลล์ในบริเวณดังกล่าว (Boonyaratpalin and Phromkunthong. 2001 : 132) สอดคล้องกับการศึกษาในปลาออสการ์ (Oscar, *Astronotus ocellatus*) (Fracalossi, Allen, Nichols and Oftedal. 1998 : 1747-1749) ปลาคอดอเมริกัน (Lim and Lovell. 1978 : 1142-1143) ปลาคูกบักอูย (*Clarias macrocephalus* (Gunther) × *Clarias gariepinus* (Burchell)) (Boonyaratpalin and Phromkunthong. 2001 : 129) ปลาเก๋า (Grouper, *Epinephelus malabaricus*) (Phromkunthong, Storch, Supamattaya and Boonyaratpalin. 1995 : 506-508) และปลาคดเหลือง (สุภญา ศิริรัฐนิคม และ วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2541 : 67-68) ส่วนเนื้อเยื่อตับและไตไม่พบพยาธิสภาพ สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเทอบัท (Turbot, *Scophthalmus maximus* L.) ที่ทดลองเป็นเวลา 127 วัน และให้เหตุผลว่าอาจเพราะในวัตถุดิบอาหารมีวิตามินเจีปนซึ่งเพียงพอจะทำให้ไม่พบพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อตับและไต (Roberts, Davies and Pulsford. 1995 : 34-35) แต่ขัดแย้งกับผลการศึกษาในปลาออสการ์ (Fracalossi, Allen, Nichols and Oftedal. 1998 : 1747-1749) ปลากะพงแดง (Alexis, Karanikolas and Richards. 1997 : 212-215) ปลาคอดอเมริกัน (Lim and Lovell. 1978 : 1142-1143 ; EL Nagggar and Lovell. 1991 : 1624-1625) ปลาคูกบักอูย (Boonyaratpalin and Phromkunthong. 2001 : 129) ปลาเก๋า (Phromkunthong, Storch, Supamattaya and Boonyaratpalin. 1995 : 506-508) และปลาคดเหลือง (สุภญา ศิริรัฐนิคมและ วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2541 : 67-68) โดยพบพยาธิสภาพที่เนื้อเยื่อตับและไต ได้แก่ การตายของเซลล์ เซลล์บุผิวต่าง ๆ เสื่อมสภาพ ขอบเขตเซลล์ไม่ชัดเจน เนื้อเยื่อตับพบว่ามีสารสะสมของไขมันมาก เกิดการสะสมของไขมัน (Lipid Droplets, Steatosis) เนื้อเยื่อไตพบ การเสื่อมสลาย

ของโกลเมอรูลัสโดยเบสเม้นต์ แมมเบรน (Basement Membrane) มีรูปร่างไม่ชัดเจน จากการทดลองในปลาคุณำพันเนื้อเยื่อตับไม่พบพยาธิสภาพ เพราะแม้วิตามินซีจะมีผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของไขมัน โดยทำหน้าที่เป็นสารริคิวิสต์ตัวแรกในการสังเคราะห์คาร์นิทีน ซึ่งเป็นสารที่เป็นตัวกลางในการขนส่งกรดไขมันเพื่อเข้าสู่กระบวนการเบตา-ออกซิเดชันภายในไมโทคอนเดรีย แต่เมื่อคาร์นิทีนขาดอิเล็กทรอนิกส์ในสภาวะที่ไม่มีวิตามินซีกลูตาไทโอนจะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่คาร์นิทีน ทำให้การเมทาบอลิซึมของไขมันยังดำเนินต่อไปได้ (Kalaiselvi and Panneerselvam. 1998 : 580 ; Rebouche. 1991 : 1147-1150) และการที่ไม่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ และไตในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอี เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีในอาหารพบว่าสูตรที่ไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณวิตามินอีในอาหารอยู่ในช่วง 22.00-46.33 ppm โดยปนเปื้อนจากวัตถุดิบอาหารที่ใช้คือ ปลาป่นมีปริมาณวิตามินอี 9.8 ppm และกากถั่วเหลืองมีปริมาณวิตามินอี 2.5 ppm (Hertrampf and Piedad-Pascual. 2000 : 180-483) ซึ่งทำให้ปลาคูคุณำพันที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอีไม่แสดงอาการผิดปกติและพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อ

## สรุปผล

การศึกษาวิตามินซีและอีที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพอาหาร การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา องค์ประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูคุณำพันเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบดังนี้

1. การเสริมวิตามินซีในอาหารที่ระดับ 50-200 ppm มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาคูคุณำพัน โดยปลาจะมีการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพของการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิเพิ่มมากขึ้น ส่วนการเสริมวิตามินอีในอาหารที่ระดับ 50 ppm ช่วยทำให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิมากขึ้น

2. การเสริมวิตามินซีในอาหารที่ระดับ 200 ppm ทำให้ปลามีค่าโปรตีนในร่างกายสูงที่สุด และการเสริมวิตามินอีในอาหารที่ระดับ 50 ppm ทำให้ปลามีค่าโปรตีนในร่างกายสูงที่สุด ส่วนค่าไขมันในร่างกายพบว่าการเสริมวิตามินซีที่ระดับ 50-200 ppm ปลาจะมีค่าไขมันในร่างกายมาก

3. การเสริมวิตามินซีในอาหารที่ระดับ 50-200 ppm ทำให้ปลามีค่าฮีโมโกลบินสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซี และวิตามินซีในอาหารที่ระดับ 200 ppm ปลาที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมากกว่ากลุ่มอื่น ส่วนวิตามินอีในอาหารที่ระดับ 50-100 ppm ปลาที่มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินอี

4. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีที่มีในตับพบว่า วิตามินซีและวิตามินอีมีปฏิสัมพันธ์ต่อกัน โดยเมื่อระดับของวิตามินอีในอาหารเพิ่มขึ้นปริมาณของวิตามินซีในตับจะมีแนวโน้มลดลง ส่วน

ปริมาณของวิตามินอีในตับและปริมาณของวิตามินซีในไตมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับของวิตามินในอาหารเพิ่มขึ้น

5. การศึกษาพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกที่บริเวณเซคคันดารีลามลลี ในกลุ่มปลาที่ขาดวิตามินซี โดยเซลล์บุผิวเหงือกมีการแยกตัว และเกิดการแบ่งเซลล์มากผิดปกติ ส่วนเนื้อเยื่อตับและไตไม่พบความผิดปกติ

### ข้อเสนอแนะ

ในส่วนของการศึกษาพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อจะพบความผิดปกติเฉพาะเนื้อเยื่อเหงือกในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีแต่ไม่พบความผิดปกติในปลากลุ่มที่ขาดวิตามินอีอาจเนื่องจากระยะเวลาในการทดลองน้อยกว่าที่ร่างกายจะแสดงอาการผิดปกติเนื่องจากการขาดวิตามินอี อีกทั้งอาหารที่ใช้ทดลองอาจมีวัตถุดิบอาหารที่มีวิตามินอีปนเปื้อนในอาหารทำให้ปลา ยังคงได้รับวิตามินอีจากวัตถุดิบอาหารอยู่จึงไม่แสดงอาการผิดปกติ

## บรรณานุกรม

- กฤษณะ เรืองคล้าย, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, พันชสิทธิ์ โชคสวัสดิ์กร และอานูช คีรีรัฐนิคม. (2551). กัพพะวิทยาของปลาอุกดำพัน. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก [http://www.bio.sci.tsu.ac.th/th/personal/academic\\_files/200808190432193800.doc](http://www.bio.sci.tsu.ac.th/th/personal/academic_files/200808190432193800.doc).
- เจษฎา อีสหะ. (ม.ป.ป.). อาหารและการให้สัตว์น้ำ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก <http://courseware.rmutl.ac.th/courses/108/unit602.html>.
- ชุตินา ตันตikitติ. (2549). เอกสารคำสอนวิชาอาหารสัตว์น้ำขั้นสูง. สงขลา : ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นฤมล อัสวเกษมณี. (2550). อาหารและการให้อาหารปลา. กรุงเทพฯ : ภาพพิมพ์.
- พันชสิทธิ์ โชคสวัสดิ์กร, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานูช คีรีรัฐนิคม. (2551). ผลของระดับความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาอุกดำพันระยะปลาน้ำในบ่อคอนกรีต. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ. สืบค้นเมื่อ 6 มีนาคม 2552, จาก [http://www.bio.sci.tsu.ac.th/th/personal/academic\\_files/200808190348291390.doc](http://www.bio.sci.tsu.ac.th/th/personal/academic_files/200808190348291390.doc).
- มงคล ว่องสมบัติ. (2548). การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลาอุก. กรุงเทพฯ : อักษรสยามการพิมพ์.
- ศราวุธ เจ๊ะโสะ, สุวิมล ลิ่หิรัญวงศ์และพรพนม พรหมแก้ว. (2538). “ชีววิทยาบางประการของปลาอุกดำพัน,” ในรายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2538, (หน้า 329-348). วันที่ 18-20 กันยายน 2538 ณ ห้องประชุมใหญ่ กรมประมง และสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ : กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ศิริวรรณ สุทธจิตต์. (2550). วิตามิน. กรุงเทพฯ : The Knowledge Center.
- สมทรง เลขะกุล. (2543). ชีวเคมีของวิตามิน. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ : ศุภนิชการพิมพ์.
- สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2548). รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการจัดทำแผนแม่บทการพัฒนาบ่อน้ำทะเลสาบสงขลา. สงขลา : ห้างหุ้นส่วนสามัญนิโอ พ้อยท์.
- สุภฎา คีรีรัฐนิคมและวุฒิพร พรหมขุนทอง. (2541). “ความต้องการวิตามินละลายน้ำในปลา กดเหลือง (III) การศึกษารูปแบบของวิตามินซีที่ใช้ผสมในอาหาร,” วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (20), 59-73.

- อุดมชัย อากาศ และสุวรรณณี โฉมกุลประกิจ. (2529). “การเพาะพันธุ์ปลาอุกดำพันโดยวิธีผสมเทียม,” ใน รายงานประจำปี 2527-2530 ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด สุราษฎร์ธานี, (376-383).  
 สุราษฎร์ธานี : สถานีกรมประมงน้ำจืดจังหวัดสุราษฎร์ธานี กรมประมง.
- Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Zhang, W., Ma, H. and Liufu, Z. (2006). “Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*,” Aquaculture. (261), 327–336.
- Ai, Q., Mai, K., Zhang, C., Xu, W., Duan, Q., Tan, B. and Liufu, Z. (2004). “Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*,” Aquaculture. (242), 489–500.
- Alexis, M. N., Karanikolas, K. K. and Richards, R. H. (1997). “Pathological findings owing to the lack of ascorbic acid in cultured gilthead bream (*Sparus aurata* L.),” Aquaculture. (151), 209-218.
- Amlashi, A. S., Falahatkar, B., Sattari, M. and Tolouei Gilani, M.H. (2011). “Effect of dietary vitamin E on growth, muscle composition, hematological and immunological parameters of sub-yearling beluga *Huso huso* L.,” Fish & Shellfish Immunology. (30), 807-814.
- Andrade, J., Ono, E. A., Menezes, G. C., Brasil, E. M., Roubach, R., Urbinati, E. C., Tavares-Dias, M., Marcon, J. L. and Affonso, E. G. (2007). “Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters,” Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. (146), 576–580.
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis (15<sup>th</sup> ed). Washington D.C : The Association of Official Analytical Chemists.
- Arcy, M. S. (2007). Vitamin E. Retrieved March 18, 2009, from <http://www.whyweage.com/node/15>.
- Baker, J. S., ClareMcCormick, M. and Robergs, R. A. (2010). “Interaction among SkeletalMuscleMetabolic Energy Systems during Intense Exercise,” Journal of Nutrition and Metabolism. Article ID 905612. 2010, 1-13.
- Banhegyi, G., Braun, L., Csala, M., Puskas, F. and Mandl, J. (1997). “Ascorbate Metabolism and its Regulation in Animals,” Free Radical Biology and Medicine. (23), 798-803.

- Boonyaratpalin, M. and Phromkunthong, W. (2001). "Bioavailability of ascorbyl phosphate calcium (APCa) in hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* (Gunther) × *Clarias gariepinus* (Burchell)) feed," Aquaculture. (32), 126-134.
- Caballero, B., Allen, L. and Prentice, A. (2007). Encyclopedia of Human Nutrition. Kidlington : ELSEVIER Academic press.
- Chan, S. W. and Reade, P. C. (1996). "Determination of the L-ascorbic acid requirements in Wistar osteogenic disorder Shionogi rats for prolonged carcinogenesis experiments," Laboratory Animals. (30), 337-346.
- Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K. and Lee, K.J. (2004). "Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*)," Aquaculture. (242), 553–569.
- Chessadapa, N., Phromkunthong, W. and Kiriratnikom, S. (2009). "Effect of dietary protein levels on growth, feed conversion, survival, protein efficiency ratio and apparent net protein utilization in Nieuhofii's waiking catfish (*Clarias nieuhofii* Valenciennes, 1840) fingerlings," in The 35<sup>th</sup> congress on science and technology of thailand (STT 35) "Science and technology for a better future". (pp. 240). October 15-17, 2009 The Tide Resort, Chonburi, Thailand. Chonburi : Burapha University.
- Collier, H. B. (1944). "The Standardization of blood hemoglobin determinations," Canadian Medical Association Journal. (50), 550-552.
- Conrad, M. and Umbreit, J. (2000). "Iron absorption and transport-An update," American journal of hematology. (64), 287-298.
- EL Naggat, G. and Lovell, R. T. (1991). "L-Ascorbyl-2-Monophosphate has Equal Antiscorbutic Activity as L-Ascorbic Acid but L-Ascorbyl-2-Sulfate is Inferior to L-Ascorbic Acid for Channel Catfish," The Journal of Nutrition. (121), 1622-1626.
- Eo, J. and Lee, K. (2008). "Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*," Fish & Shellfish Immunology. (25), 611–616.

- Falahatkar, B., Dabrowski, K. and Arslan, M. (2011). "Ascorbic acid turnover in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* : Is there a vitamin enrichment effect during embryonic period on the juvenile fish "sensitivity" to deficiency," Aquaculture. 320 (1-2), 99-105.
- Fracalossi, D., Allen, M., Nichols, D. and Ofedal, O. (1998). "Oscars, *Astronotus ocellatus*, Have a Dietary Requirement for Vitamin C," American Society for Nutritional Sciences. (128), 1745-1751.
- Galli, F., Varga, Z., Balla, J., Ferraro, B., Canestrari, F., Floridi, A., Kakuk, G. and Buoncristiani, U. (2001). "Vitamin E, lipid profile, and peroxidation in hemodialysis patients," Kidney International. (59), 148-154.
- Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E. M., Moraes, F. R. and Martins, M. L. (2007). "Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*," Aquaculture. (271), 39–46.
- Garrett, R. H. and Grisham, C. M. (1999). Biochemistry (2nd ed.). Fort Worth : Saunders College Pub / Pacific Grove, CA : Thomson/Brooks Cole.
- Halliwell, B. (2001). "Vitamin C and genomic stability," Mutation Research. (475), 29–35.
- Halver, J. E. and Hardy, R. W. (2002). Fish Nutrition. London : Academic Press.
- Hamre, K. and Lie, O. (1995). " $\alpha$ -Tocopherol levels in different organs of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Effect of smoltification, dietary levels of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E," Comp. Biochem. Physiol. (111A), 547-554.
- Harrison, F. E. and May, J. M. (2009). "Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2," Biology & Medicine. (46), 719–730.
- Henrique, M. M. F., Gomes, E. F., Gouillou-Coustans, M. F., Oliva-Teles, A. and Davies, S. J. (1998). "Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*," Aquaculture. (161), 415–426.
- Hertrampf, J. W. and Piedad-Pascual, F. (2000). Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Netherlands : Kluwer Academic Publishers.
- Huang, C., Chang, R., Huang, S. and Chen, W. (2003). "Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*," Comparative Biochemistry and Physiology Part B. (134), 265–270.

- Huang, C., Higgs, D. A., Balfry, S. K. and Devlin, R. H. (2004). "Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue lipid peroxidation, and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*," Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. (139), 199–204.
- Huang, C. and Huang, S. (2004). "Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*, fed oxidized oil," Aquaculture. (237), 381–389.
- Humason, G. L. (1967). Animal Tissue Techniques. San Francisco : W.H. Freeman and Company.
- Jensen, C., Lauridsen, C. and Bertelsen, G. (1998). "Dietary vitamin E : Quality and storage stability of pork and poultry," Trends in Food Science & Technology. (9), 62-72.
- Kakela, R., Hyvarinen, H. and Kakela, A. (1997). "Vitamins A<sub>1</sub> (Retinol), A<sub>2</sub> (3,4 Didehydroretinol) and E ( $\alpha$ -Tocopherol) in the Liver and Blubber of Lacustrine and Marine Ringed Seals (*Phoca hispida* sp.)," Elsevier Science Inc. (116), 27-33.
- Kalaiselvi, T. and Panneerselvam, C. (1998). "Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats," The Journal of Nutritional Biochemistry. (9), 575–581.
- Kasvosve, I., Delanghe, J., Gomo, Z., Gangaidzo, I., Khumalo, H., Langlois, M., Moyo, V., Saungweme, T., Mvundura, E., Boelaert, J. and Gordeuk, V. (2002). "Effect of transferrin polymorphism on the metabolism of vitamin C in Zimbabwean adults," American Society for Clinical Nutrition. (75), 321–325.
- Kiriratnikom, S., Ruangklay, K., Choksawatdikorn, P., Anuchart, P. and Kiriratnikom, A. (2007). "Effect of various forms of diet on growth performance and survival of *nieuhofii* catfish larvae (*Clarias nieuhofii*)," in 33<sup>rd</sup> Congress on Science and Technology of Thailand. Nakorn Si Thamarat : Walailak University. Retrieved March 6, 2011, from [http://www.scisoc.or.th/stt/33/sec\\_f/paper/stt33\\_F\\_F0007.pdf](http://www.scisoc.or.th/stt/33/sec_f/paper/stt33_F_F0007.pdf).
- Kohlmeier, M. (2003). Nutrient Metabolism. London : Academic Oress.
- 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), 303-312.

- Lim, C. and Lovell, A.T. (1978). "Pathology of the Vitamin C Deficiency Syndrome in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*)," The Journal of Nutrition. (108), 1137-1146.
- Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Li, M. H., Welker, T. L. and Klesius, P. H. (2009). "Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge," Aquaculture. (298), 76–82.
- Martins, M. L., Dias, M. T., Fujimoto, R. Y., Onaka, E. M. and Nomura, D. T. (2004). "Haematological alteration of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond," Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia. (56), 640-646.
- Murai, T., Andrews, J. W. and Bauernfeind, J. C. (1978). "Use of L-Ascorbic Acid, Ethocel Coated Ascorbic Acid and Ascorbate 2-Sulfate in Diets for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*," The Journal of Nutrition. (108), 1761-1766.
- Na, N., Delanghe, J. R., Taes, Y., Torck, M., Baeyens, W. and Ouyang, J. (2006). "Serum vitamin C concentration is influenced by haptoglobin polymorphism and iron status in Chinese," Clinica Chimica Acta. (365), 319 – 324.
- Nayak, S. K., Swain, P. and Mukherjee, S. C. (2007). "Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.)," Fish & Shellfish Immunology. (23), 892-896.
- Ortuno, J, Cuesta, A., Esteban, M. A. and Meseguer, J. (2001). "Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system," Veterinary Immunology and Immunopathology. (79), 167-180.
- Paul, B. N., Sarkar, S. and Mohanty, S. N. (2004). "Dietary vitamin E requirement of mrigal, *Cirrhinus mrigala* fry," Aquaculture (242), 529–536.
- Peuchant, E., Beauvieux, M. D., Dubourg, L., Thomas, M., Perromat, A., Aparicio, M., Clerc, M. and Combe, C. (1997). "Antioxidant effects of a supplemented very low protein diet in chronic renal failure," Biology & Medicine. (22), 313–320.
- Phromkunthong, W., Boonyaratpalin, M. and Storch, V. (1997). "Different concentrations of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as dietary sources of vitamin C for seabass, *Lates calcarifer*," Aquaculture. (151), 225-243.

- Phromkunthong, W., Storch, V., Supamattaya, K. and Boonyaratpalin, M. (1995). "Effects of ascorbic acid deficiency on the gill and liver histopathology of grouper, *Epinephelus malabaricus*," In Diseases in Asian Aquaculture II. (pp. 503-512). October 25-29, 1993 Fish Health Section, Asian Fisheries Society. Manila : Diseases in Asian Aquaculture.
- Poston, H. A., Combs, G. F. and Leibovitz, A. (1976). "Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) : gross, histological and biochemical deficiency signs," The Journal of Nutrition. (106), 892-904.
- Rebouche, C.J. (1991). "Ascorbic acid and carnitine biosynthesis," American Society for Clinical Nutrition. (54), 1147-1152.
- Roberts, M. L., Davies, S. J. and Pulsford, A. L. (1995). "The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.)," Fish & Shellfish Immunology. (5), 27-38.
- Sahoo, P. K. and Mukherjee, S. C. (2003). "Immunomodulation by dietary vitamin C in healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita*)," Comparative Immunology, Microbiology & Infections Diseases. (26), 65-76.
- Sau, S. K., Paul, B. N., Mohanta, K. N. and Mohanty, S. N. (2004). "Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry," Aquaculture. (240), 359-368.
- Shiau, S. and Hsu, T. (1995). "L-Ascorbyl-2-sulfate has equal antiscorbutic activity as L-ascorbyl-2-monophosphate for tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*," Aquaculture. (133), 147-157.
- Sobhana, K. S., Mohan, C. V. and Shankar, K. M. (2002). "Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*," Aquaculture. (207), 225-238.
- Soderberg, T. (2010). Organic Chemistry With a Biological Emphasis Volume II: Chapters 10-17. Morris : University of Minnesota.
- Thakur, M. and Srivastava, U. (1996). "Vitamin E metabolism and its application," Nutrition Research. (16), 1767-1809.

- Trenzado, C. E., Morales, A. E. and Higuera, M. (2008). "Physiological changes in rainbow trout held under crowded conditions and fed diets with different levels of vitamins E and C and highly unsaturated fatty acids (HUFA)," Aquaculture. (277), 293–302.
- Valenciennes, A. (1840). *Clarias nieuhofii*. Retrieved March 6, 2009, from <http://www.fishbase.org/summary/speciessummary.php?id=23346>.
- Vani, T., Saharan, N., Mukherjee, S. C., Ranjan, R., Kumar, R. and Brahmchari, R. K. (2011). "Deltamethrin induced alterations of hematological and biochemical parameters in fingerlings of *Catla catla* (Ham.) and their amelioration by dietary supplement of vitamin C," Pesticide Biochemistry and Physiology. (101), 16-20.
- Verde, G. (2006). Redoxreaction of Vitamin C. Retrieved March 18, 2009, from [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ascorbic\\_acid\\_redox\\_german\\_subt.pn](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ascorbic_acid_redox_german_subt.pn).
- Verlhac, V., Gabaudan, J., Obach, A., Schiiep, W. and Hole, R. (1996). "Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)," Aquaculture. (143), 123-133.
- Wang, X., Kim, K. W., Bai, S. C., Huh, M. D. and Cho, B. Y. (2003). "Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*)," Aquaculture. (215), 203-211.
- Wang, Y., Yuen, K. and Ng, W. (2006). "Deposition of tocotrienols and tocopherols in the tissues of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., fed a tocotrienol-rich fraction extracted from crude palm oil and its effect on lipid peroxidation," Aquaculture. (253), 583–591.

## ภาคผนวก

### การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีการของ AOAC. 1990 : 69-79)

1. นำกระตังเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดชั่งโดยละเอียด
3. ชั่งตัวอย่างใส่กระตังประมาณ 5 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักอย่างละเอียด
4. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง
6. ทำซ้ำตามข้อ 1-5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของความชื้น คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นด้วยสมการ

$$\% \text{ความชื้น} = \left( \frac{a - b}{w} \right) \times 100$$

เมื่อ a แทน น้ำหนักของอาหารก่อนอบแห้ง  
 b แทน น้ำหนักของอาหารหลังอบแห้ง  
 w แทน น้ำหนักของอาหารก่อนอบ

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามวิธีการของ AOAC. 1990 : 69-79)

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ
  2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว
  3. นำเข้าโถดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างเย็นดีแล้ว นำออกชั่งทันที
- คำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้าด้วยสมการ

$$\% \text{เถ้า} = \left( \frac{b - a}{w} \right) \times 100$$

เมื่อ a แทน น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ  
 b แทน น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของเถ้าภายหลังการเผา  
 w แทน น้ำหนักของอาหารก่อนเผา

การวิเคราะห์หาโปรตีน (ตามวิธีการของ AOAC, 1990 : 69-79)

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) เข้มข้น 93 - 98%
2. สารเร่งรวม (Catalyst Mixture) : ซังคอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4$ ) 7 กรัม กับโปแตสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ ) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45% (NaOH) : โดยละลาย 450 กรัมของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ลงในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร
4. สารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล : ละลายกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
5. กรดบอริก ( $H_3BO_3$ ) 4% : ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริกลงไป 4 กรัม ต้มจนละลายหมดทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
6. อินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง เมทิลเรด และเมทิลีนบลู : ละลายเมทิลเรด 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทิลีนบลู 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน
7. เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (Methyl Orange Indicator) : ละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
8. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $Na_2CO_3$ ) 0.1 นอร์มอล : อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 - 270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซังสารมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

#### วิธีการ

##### ขั้นตอนการย่อย (Digestion)

1. ซังตัวอย่างอาหารให้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม โดยซังด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากไนโตรเจนแล้วใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน
2. เติมสารเร่งรวม 3 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาย่อย
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร
4. นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนใส ทิ้งไว้ให้เย็น

### ขั้นตอนการกลั่น (Distillation)

1. เมื่อสารละลายเย็นดีแล้ว เติมน้ำกลั่นลงไปให้ได้ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
2. ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริก 40 มิลลิลิตรอยู่ โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควมแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริก เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในขวดแก้ววิเคราะห์ช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ
3. ใส่อินดิเคเตอร์ ในกรดบอริก 2 - 3 หยด
4. ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมาแล้วทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น

### ขั้นตอนการไตเตรท (Titration)

1. นำไปไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) จนถึงจุดยุติ (End Point) โดยใช้อินดิเคเตอร์รวม สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน
2. บันทึกปริมาตรของกรดเกลือเพื่อนำไปคำนวณการคำนวณ

$$\% \text{โปรตีน} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

- เมื่อ
- $V_1$  แทน ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง
  - $V_2$  แทน ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ
  - $N$  แทน ความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล
  - $W$  แทน น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

### การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2 - 3 หยด ทำการไตเตรทด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

- เมื่อ
- $N_1$  แทน ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า
  - $N_2$  แทน ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ
  - $V_1$  แทน ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า
  - $V_2$  แทน ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

การวิเคราะห์ไขมัน (ตามวิธีการของ AOAC. 1990 : 69-79)

สารเคมี

ปิโตรเลียม อีเทอร์ (Petroleum Ether)

วิธีการ

1. อบอุ่นสกัดไขมัน (Cup) ที่มีลูกแก้ว 2-3 เม็ด และตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อบจนแห้งแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วให้ได้น้ำหนักคงที่
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรองประมาณ 0.3-0.5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในไส้กรองสารที่เตรียมไว้นำไปใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน
4. นำถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วที่ชั่งไว้แล้วเติมปิโตรเลียม อีเทอร์ 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่องสกัดไขมัน
5. เปิดเครื่องสกัดไขมันปรับอุณหภูมิที่เตาให้ได้ 1.5 เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์วให้เครื่องทำงาน
6. ทำการสกัดเป็นเวลา 18 ชั่วโมง
7. ปิดเครื่อง นำไส้กรองสารออกจากเครื่อง และนำไปอบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส โดยอบข้ามคืน
8. นำกระดาษห่อตัวอย่างมาใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนักการคำนวณ

$$\text{ไขมัน (\%)} = \left( \frac{W_3 - W_1}{W_2} \right) \times 100$$

เมื่อ  $W_1$  แทน น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้ว

$W_2$  แทน น้ำหนักตัวอย่าง

$W_3$  แทน น้ำหนักถ้วยสกัดไขมันพร้อมลูกแก้วและตัวอย่างหลังการอบ

การวิเคราะห์ห่อองค์ประกอบเลือด

การหาค่าฮีมาโตคริต (ตามวิธีการของ Collier. 1944 : 550-552)

1. นำเลือดที่เจาะได้ใหม่ ๆ ใส่ลงในหลอดเล็ก ๆ สำหรับหาค่าฮีมาโตคริต (Microhaematocrit Capillary Tube) ประมาณครึ่งหลอด อุดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน
2. ปั่นด้วยฮีมาโตคริตเซนตริฟิวจ์ (Haematocrit Centrifuge) ที่แรงเหวี่ยง 10,000-15,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5-10 นาที

3. วัดหาอัตราส่วนของปริมาตรเม็ดเลือดกับปริมาตรเลือดทั้งหมด นำมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต จากสูตร %ฮีมาโตคริต = ปริมาตรของเม็ดเลือดอัดแน่น (มิลลิลิตร)  $\times$  100 / ปริมาตรเลือดทั้งหมด (มิลลิลิตร)

**การหาค่าฮีโมโกลบิน (ตามวิธีการของ Collier. 1944 : 550-552)**

#### สารเคมี

สารละลายเดรบกิน (Drabkin's Solution) : เตรียมโดยละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium Bicarbonate,  $\text{NaHCO}_3$ ) 1 กรัม โพแทสเซียมไซยาไนด์ (Potassium Cyanide, KCN) 0.05 กรัม และโพแทสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ (Potassium Ferricyanide,  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 ลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดทึบแสง มีอายุการใช้งาน 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง

#### วิธีการ

1. ใช้ไมโครปิเปตขนาด 20 ไมโครลิตร ดูดเลือดที่เจาะได้ใหม่ ๆ มาผสมรวมกับสารละลายเดรบกิน 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดีแล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 20 นาที
2. นำส่วนใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
3. ค่าที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับค่าฮีโมโกลบินมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้สารละลายเดรบกินเป็นเบงค์
4. เตรียมฮีโมโกลบินมาตรฐาน (Standard Haemoglobin) ที่มีความเข้มข้น 0, 4.5, 9 และ 18 กรัม/เดซิลิตร (g/dl) นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
5. นำค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินมาตรฐาน และค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน โดยให้ค่าความเข้มข้นอยู่ในแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแกน Y แล้วหาสมการสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linear Regression) เพื่อใช้คำนวณค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดจากการดูดกลืนแสง

**การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว (Blood Cell Count) (ตามวิธีการของ Martins, Dias, Fujimoto, Onaka, and Nomura. 2004 : 640-646)**

การนับเม็ดเลือดในตัวอย่างได้ดัดแปลงวิธีการนับเม็ดเลือดในคนและสัตว์บกอื่น ๆ มาใช้ซึ่งจะใช้ RBC-Diluting Pipette ในการเจือจาง ไม่ว่าจะนับเม็ดเลือดแดงหรือเม็ดเลือดขาวก็ตาม มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ คือ

1. ใช้อาร์บีซี-ไดลูติงปิเปต (RBC-Diluting Pipette) ดูดเลือด (ที่เจาะใหม่ ๆ) ให้ถึงขีด 0.5 ถ้าเกินขีด 0.5 ให้ปรับโดยกระดากทีละชุกย่อยๆ ชับออกอย่างระมัดระวัง แล้วเช็ดปลายปิเปตให้สะอาด

2. ใช้ปิเปตอันเดมคูดสีย้อม (Yogoyama's Fluid) จนกระทั่งถึงขีด 101 ตรงปลายปิเปต
3. ใช้นิ้วชี้ปิดปลายปิเปตแล้วถอดสายยาง จากนั้นใช้หัวแม่มือกับนิ้วชี้ปิดปลายปิเปตทั้งสองข้างเข้าไปมาในแนวนอน 2-3 นาที
4. หยดของเหลวในปิเปตทิ้ง 3-4 หยด เพราะของเหลวส่วนนี้อยู่ในก้านไม่ได้ถูกนำไปผสมกับเลือดในกระเปาะของปิเปต
5. หยดของเหลวต่อไปลงในร่องของฮีมาไซโตมิเตอร์ ที่มีกระจกปิดสไลด์ปิดอยู่เรียบร้อยแล้ว ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ
6. วางฮีมาไซโตมิเตอร์ ลงบนพื้นโต๊ะ 2-3 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดลงไปเรียงบนพื้นสไลด์ นับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10X-40X
7. จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ในช่องเล็กรวมกัน 5 ช่อง  $\times 10^4$  และจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ในช่องใหญ่  $\times 2,000$  คือค่าของจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

**การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี** (ตามวิธีการของ Chan and Reade, 1996 : 339 ; Boonyaratpalin and Phromkunthong, 2001 : 127)

#### สารเคมี

1. สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric Acid,  $\text{HPO}_3$ ) 5% กรดอะซิติก (Glacial Acetic Acid,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 10% : เตรียมโดยชั่งกรดเมตาฟอสฟอริก 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสารให้เป็น 1 ลิตร เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น และควรเตรียมใหม่ทุกสัปดาห์
2. สารละลาย 2,4-ไดไนโตรฟีนีลไฮดรารซีน (2,4-Dinitrophenylhydrazine,  $(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NHNH}_2$ ) : เตรียมโดยชั่ง 2,4-ไดไนโตรฟีนีลไฮดรารซีน 2 กรัม ละลายลงในกรดซัลฟูริก (Sulfulic Acid,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 9 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมไทโอยูเรีย (Thiourea,  $\text{NH}_2\text{CSNH}_2$ ) 4 กรัม ทำการกรองสารที่เตรียมได้ด้วยกระดาษกรอง เก็บรักษาในตู้เย็น สารนี้จะต้องปราศจากตะกอนเมื่อใช้
3. ผงถ่านหินผ่านการล้างกรด : เตรียมโดยชั่ง โนริท (Norit) หรือผงถ่านหิน (Activated Charcoal) 200 กรัม ใส่ลงบีกเกอร์ เติมสารละลายกรดเกลือ (Hydrochloric Acid,  $\text{HCl}$ ) 10% ปริมาตร 1 ลิตร นำไปต้มจนเดือด กรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ ล้างผงถ่านหินที่กรองได้ด้วยน้ำ 1 ลิตรและกรองอีกครั้ง จากนั้นนำไปทำการระเหยน้ำออกโดยอบในเตาอบอุณหภูมิ 110-120 องศาเซลเซียส
4. กรดซัลฟูริก 85% เตรียมโดยตวงกรดซัลฟูริกเข้มข้น (ความถ่วงจำเพาะ 1.84) ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ละลายลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

### วิธีการวิเคราะห์

1. บดตัวอย่างเนื้อเยื่อในสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5% - กรดอะซิติก 10% โดยที่ ปริมาตรของสารที่ใช้จะต้องเตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของวิตามินซีอยู่ในช่วง 1-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. เติมผงถ่านหินที่ผ่านการล้างด้วยกรดแล้ว 1 กรัม/ตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน อย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

3. ดูดสารที่กรองได้จากข้อ 2 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด

4. เติมสารละลาย 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดร่าซีน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่เป็นตัวอย่าง โดยหลอดที่ทำเป็นแบงก์ (Blank) ไม่ต้องเติมสาร

5. นำหลอดแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำ หลอดทดลองทั้งหมดลงแช่ในอ่างน้ำแข็ง

6. ในขณะที่แช่หลอดทดลองฝนอ่างน้ำแข็ง เติมกรดซัลฟูริก 85% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่ ละหดยอย่างช้า ๆ เพื่อมิให้อุณหภูมิของสารในหลอดทดลองสูงขึ้นเนื่องจากการเติมกรดที่เร็วเกินไป (การหยดกรด 5 มิลลิลิตรควรใช้เวลานานประมาณ 1 นาที)

7. หลอดที่เป็นแบงก์เติมสารละลาย 2,4-ไดไนโตรฟีนิลไฮดร่าซีน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

8. เขย่าหลอดทุกหลอดในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นนำหลอดทั้งหมดออกมาตั้งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

### การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard Curve)

ละลายแอล-แอสคอร์บิก แอสิด 25 มิลลิกรัม ลงในสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5% - กรดอะซิติก 10% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำสารละลายนี้มา 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย กรดเมตาฟอสฟอริก 5% - กรดอะซิติก 10% จนมีปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร (สารละลายนี้จะมี ความเข้มข้นของวิตามินซี 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จากนั้นทำการออกซิไดส์ด้วยผงถ่านหินที่ผ่าน การล้างกรดแล้ว และเจือจางเป็นชุดของสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 1-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรก่อนนำไปผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกันกับตัวอย่าง

**การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี** (Kakela, Hyvarinen and Kakela. 1997 : 28 ; Ortuno et al., 2001 : 170)

### สารเคมี

1. ไคเอทิล อีเทอร์

2. แอบโซลูท แอลกอฮอล์ (Absolute Alcohol)

3. 50% โพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide) ละลายในแอมโซลูท แอลกอฮอล์

4. เฮกเซน

#### วิธีการวิเคราะห์

1. บดตัวอย่างเนื้อเยื่อในแอมโซลูท แอลกอฮอล์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างมาซาปอนนิไฟด์ (Saponified) ด้วย 50% โพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที

2. แยกสารละลายตัวอย่างในกรวยแยก (Separatory Funnel) โดยเติมไดเอทิล อีเทอร์ 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

3. เติมน้ำกลั่นลงในกรวยแยกจนกระทั่งสารละลายเกิดการแยกชั้น แล้วไซสารละลายส่วนล่างทิ้ง

4. ล้างสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 5-7 ครั้ง

5. นำสารละลายตัวอย่างมาระเหยด้วยก๊าซไนโตรเจนจนเหลือประมาณ 1-2 หยด

6. นำสารละลายตัวอย่างมาจุดลงบนแผ่น TLC แล้วจึงนำไปแยกวิตามินอีทั้งหมด โดยใช้ อีเทอร์และเฮกเซน (Hexane) ในอัตราส่วน 1 : 4 เป็นเฟสเคลื่อนที่

7. จุดแถบวิตามินอีที่ตรงกับแถบแอลฟา-โทโคเฟอร์อลมาตรฐานออกมალะลายในไดเอทิล อีเทอร์ แล้วนำไปตรวจวัดปริมาณด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 295 นาโนเมตร

8. คำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างเทียบกับกราฟแอลฟา-โทโคเฟอร์อล อะซิเตดมาตรฐาน

#### วิธีการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลา (Humason, 1979 : 3-167)

##### สารเคมี

##### การเตรียมน้ำยาดองเนื้อเยื่อและสีย้อม

1. น้ำยานูแอง (Bouin's Fluid)

Saturated Aqueous Picric Acid 100 มิลลิลิตร

100% ฟอรัมาลิน 900 มิลลิลิตร

กรดอะซิติก 5 มิลลิลิตร

2. สีย้อมฮีมาทอกซิดิน (Haematoxylin) เตรียมโดยใช้

ฮีมาทอกซิดิน (Haematoxilin Crystal) 4 กรัม

โซเดียมไอโอเดต (Sodium Iodate) 0.8 กรัม

อลูมิเนียม (Potassium Aluminium Sulfate, Alum) 100 กรัม

กรดซิตริก (Citric Acid)	4	กรัม
คลอรัลไฮเดรท (Chloral Hydrate)	200	กรัม
น้ำกลั่น	2,000	มิลลิลิตร

ละลายอลัมลงในน้ำกลั่น เติมสีมาทอกซิลินผสมจนกระทั่งละลายหมด จึงเติมโซเดียมไฮโอเดทผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซิตริกและคลอรัลไฮเดรทผสมจนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกันทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ก่อนนำมาใช้งาน

### 3. สีย้อมอีโอซิน (Eosin) เตรียม โดยใช้

อีโอซิน (Eosin Y.CI 45380)	1	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์	1,000	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น	5	มิลลิลิตร

### การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ

1. สลับปลาด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู (Clove Oil)
2. ใช้กรรไกรผ่าตัดเปิดช่องท้องและแผ่นปิดเหงือกของปลาออก ตัดเหงือก ตับ และไตเพื่อนำมาคองในน้ำยาบูแองทันที เก็บรักษาตัวอย่างในน้ำยาบูแองเป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงเปลี่ยนจากน้ำยาบูแองเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

### ขั้นตอนการคิ่งน้ำออก (Dehydration) และการฝังเนื้อเยื่อ (Embedding)

1. ตัดแต่งตัวอย่าง (Trim) ที่ผ่านการคองแล้วให้มีขนาดพอเหมาะเพื่อสะดวกต่อการฝัง และนำไปตัด (Section)

2. นำตัวอย่างไปผ่านขั้นตอนการคิ่งน้ำออกจากตัวอย่าง ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
2	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
3	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
4	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
5	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
6	แอบโซลูท แอลกอฮอล์ (Absolute Alcohol)	1
7	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์ (Isopropyl Alcohol)	1
8	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์	1
9	ไซลีน (Xylene)	1
10	ไซลีน	1

- 11 พาราพลาสติก (Paraplast) 1
- 12 พาราพลาสติก 1
3. นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนที่ 2 ไปฝังด้วยพาราพลาสติก จากนั้นนำบล็อก (Block) ไปแช่ตู้เย็นเพื่อง่ายต่อการนำไปตัดต่อไป
4. ตัดแต่งตัวอย่างที่มีอยู่ในบล็อกให้มีขนาดพอดีกับขนาดสไลด์ และแผ่นปิดสไลด์ จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ ให้มีความหนาประมาณ 5-7 ไมครอน นำไปลอยในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส
5. ใช้แผ่นสไลด์ซ้อนตัวอย่าง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน เพื่อให้ตัวอย่างยึดติดแผ่นสไลด์ได้ดี

6. นำสไลด์ไปผ่านขบวนการย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน โดยมีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	ไซลีน	2
2	ไซลีน	2
3	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์	1
4	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์	1
5	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
6	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
7	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
8	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
9	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
10	น้ำกลั่น	1
11	ฮีมาทอกซิลิน	6
12	น้ำประปา	1
13	แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
14	อีโอซิน	2
15	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
16	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
17	แอบโซลูท แอลกอฮอล์	2
18	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์	2
19	ไอโซโพรพิล แอลกอฮอล์	2

20 ไชลิน 2

21 ไชลิน 2

7. ปิดผนึกเป็นสไลด์ถาวรโดยใช้น้ำยาเปอร์เมาท์ (Permount) หยดลงบนแผ่นเนื้อเยื่อ แล้ว  
ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปศึกษาพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์

## ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ-ชื่อสกุล	นางสาววันวิภา หนูมา
วัน เดือน ปีเกิด	31 ธันวาคม 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	8/61 หมู่ที่ 3 ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมืองสงขลา จังหวัดสงขลา รหัสไปรษณีย์ 90000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2551	หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา
พ.ศ. 2554	หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา

### ผลงานทางวิชาการ

Nooma, W., Malee, F. and Kiriratnikom, S. (2009). "Study on histology of the integument and respiratory system of Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhofii*)," in The 35<sup>th</sup> congress on science and technology of thailand (STT 35) "Science and technology for a better future," (pp. 240). October 15-17, 2009 The Tide Resort, Chonburi, Thailand. Chonburi : Burapha University.

วันวิภา หนูมา และสุภฎา คีรีรัฐนิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต, อัตราแลกเปลี่ยน, การรอดตาย, องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และ การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)," ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ "มหาวิทยาลัยบูรพา 2554". (ซีดีรอม). วันที่ 6-7 กรกฎาคม 2554 ณ อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา.

วันวิภา หนูมา และสุภฎา คีรีรัฐนิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อองค์ประกอบเลือดของปลาคูกลำพัน," ใน การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 6 "เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ". (หน้า 102 - 103). วันที่ 1-3 ธันวาคม 2554 ณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่. เชียงใหม่ : คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.