สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ระดับการประเมินคุณภาพ

☐ ดีเยี่ยม ☑ ดีมาก

☐ ดี ☐ ปานกลาง

การเพิ่มคุณภาพของเนื้อและไข่ปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell.) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีเขียว (ไก)

ณรงค์กิ่งเพชร เปาป่า

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

ชื่อเรื่อง

การเพิ่มคุณภาพของเนื้อและไข่ปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell.)
ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีเขียว (ไก)

โดย

ณรงค์กิ่งเพชร เปาป่า

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา .....
(ว่าที่ร้อยตรี ดร.จงกล พรมยะ)
วันที่ 1 เดือน เม.ย. พ.ศ. 53

กรรมการที่ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ)
วันที่ 1 เดือน เม.ย. พ.ศ. 53

กรรมการที่ปรึกษา .....
(อาจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์)
วันที่ 1 เดือน เม.ย. พ.ศ. 53

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
วันที่ 1 เดือน เม.ย. พ.ศ. 53

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เทพ พงษ์พานิช)
ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา
วันที่ 2 เดือน เม.ย. พ.ศ. 53

ชื่อเรื่อง	การเพิ่มคุณภาพของเนื้อและไข่ปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell.) ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสีเขียว (ไก)
ชื่อผู้เขียน	นายณรงค์กิ่งเพชร เปาป่า
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ว่าที่ร้อยตรี ดร.จงกล พรมยะ

บทคัดย่อ

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลของสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโต การเจริญพันธุ์ อัตราการรอดตาย ปริมาณคาโรตินอยด์ และการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาดุกรัสเซีย โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ให้ชุดการทดลองที่ 1 ได้รับอาหารไม่ผสมสาหร่ายไก ส่วนปลาในชุดการทดลองที่ 2 ถึง 4 ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ระยะเวลาในการเลี้ยง 180 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 8.005 ± 0.002 8.005 ± 0.001, 8.005 ± 0.001 และ 8.007 ± 0.006 กรัม/ตัว ในกระชังขนาด 1 x 2 x 1 ตารางเมตร ปล่อย 100 ตัว/กระชัง (50 ตัว/ตารางเมตร) ปรับอาหารและเก็บข้อมูลเปรียบเทียบน้ำหนักของปลา คุณภาพน้ำทุก 30 วัน วิเคราะห์ปริมาณคาโรตินอยด์ และการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันก่อนและหลังการทดลอง จากการศึกษา พบว่าปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโต สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศเมีย และปริมาณคาโรตินอยด์ สูงกว่าปลาในชุดการทดลองอื่นๆ ส่วนอัตราการรอดตาย สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศผู้ และต้นทุนการผลิต ไม่มีความแตกต่างกัน ด้านการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันโรคพบว่า เม็ดเลือดแดงรวม เกล็ดเลือด และไลโซไซม์ จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม และค่าฮีมาโตคริต ในหน่วยการทดลองที่เสริมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ จากการศึกษาสรุปได้ว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโต สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ การตอบสนองระบบภูมิคุ้มกัน และปริมาณคาโรตินอยด์ เพิ่มขึ้นดีกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

Title Increasing Flesh and Egg Qualities of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell.) Fed on Green Alga (KAI)

Author Mr. Narongkingphet Paopa

Degree of Master of Science in Fisheries Technology

Advisory Committee Chairperson Acting Second Lieutenant Dr. Jongkol Promya

ABSTRACT

The purpose of this research was to test the efficiency of green algae (KAI) on the growth, Gonado Somatic Index (GSI), survival, total carotenoids and immune response of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell.). Four experiments with 3 replications each were set up. Fish in treatment 1 were fed with a basal diet without green algae (KAI) supplementation whereas, fish in treatments 2, 3 and 4 were fed with basal diet supplemented with 1, 3 and 5% respectively of KAI. In a 180 day experiment, African Sharptooth Catfish with initial weights of 8.005 ± 0.002, 8.005 ± 0.001, 8.005 ± 0.001 and 8.007 ± 0.006 g/individual, were raised in 1 x 2 x 1 m cage in earthen pond where 100 fish/nets (50fish/m^2) were stocked. Every 30 days, fish were randomly sampled and weighed for feeding adjustment. Results showed that catfish fed with 5% KAI supplementary diet provided the best growth, GSI and highest carotenoids although survival, GSI and production cost showed no significant difference. Red blood cell count together with thombocytes and serum lysozyme, were not also significantly different. But catfish which received 5% *Cladophora* sp. supplementation, showed the best record of white blood cell count and hematocrit. In summary, 5% KAI tended to improve performances in growth, GSI, immune response and total carotenoids over other supplementary diet levels of green algae (KAI) for African Sharptooth Catfish.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ว่าที่ร้อยตรี ดร. จงกล พรมยะ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุ และอาจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์ กรรมการที่ปรึกษา ผู้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน และให้คำแนะนำ กับปัญหาและอุปสรรคต่างๆ สำหรับการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด ทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชนกันต์ จิตมนัส อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำและสอนเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันในปลา

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่ในการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณบุคลากรทุกท่านในคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำที่ให้ความช่วยเหลือทุกๆ ด้าน

และสุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อราชันย์ คุณแม่บานชื่น เปาป่า และญาติพี่น้องที่คอยให้กำลังใจมาโดยตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ว่าที่ร้อยตรีณรงค์กิ่งเพชร เปาป่า

เมษายน 2553

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ขอบเขตของการศึกษา	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
ชีววิทยาปลาดุกรัสเซีย	3
ชีววิทยาของสาหร่ายสีเขียว (ไก)	9
ชนิดและโครงสร้างของคาโรตินอยด์	10
แหล่งของคาโรตินอยด์	11
ระบบภูมิคุ้มกัน	12
องค์ประกอบของเลือดปลา	13
คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาดุกรัสเซีย	22
การประเมินผลทางเศรษฐกิจของปลาดุก	23
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการศึกษา	25
อุปกรณ์	25
วิธีการศึกษา	25
การวิเคราะห์ข้อมูล	33
สถานที่ทำการทดลอง	33
ระยะเวลาทำการทดลอง	33

หน้า

บทที่ 4 ผลการศึกษา 34

ศึกษาการใช้สาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และสัมประสิทธิ์ การเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) ของปลาดุกรัสเซีย 34

ศึกษาปริมาณ Total carotenoids ในเนื้อของปลาดุกรัสเซีย 44

ศึกษาการประเมินภูมิคุ้มกันโรค 46

ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่าเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย 50

ศึกษาการประเมินผลทางเศรษฐกิจในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย 51

บทที่ 5 อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 53

อภิปรายผลการศึกษา 53

สรุปการศึกษา 57

ข้อเสนอแนะ 58

บรรณานุกรม 59

ภาคผนวก 63

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง 64

ภาคผนวก ข การสกัดคาโรตินอยด์จากเนื้อปลาดุกรัสเซีย 76

ภาคผนวก ค การเตรียมสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด 79

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 82

ภาคผนวก จ ประวัติผู้วิจัย 90

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน และปลาดุกยักษ์มีลักษณะที่แตกต่างกัน	6
2	พารามิเตอร์ และวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหาร	28
3	Proximate composition (% Mean ± Std.Deviation) ของสูตรอาหารที่ใช้ทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย	29
4	พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์คุณภาพของน้ำ	33
5	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน (กรัม/ตัว)	42
6	การวิเคราะห์ประสิทธิภาพผลผลิตของปลา	43
7	คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียต่อน้ำหนัก 100 กรัม	44
8	ความเข้มข้นคาโรตินอยด์ (ไมโครกรัม/เนื้อปลา 1 กรัม)	45
9	องค์ประกอบเลือด และค่าร้อยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาวในปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกในระดับที่ต่างกัน	48
10	คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกในระดับที่ต่างกัน	51
11	การประเมินผลผลิตของปลา	52

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	สาหร่ายสีเขียวไก	9
2	สูตรโครงสร้างของคาโรทีน (Carotene)	11
3	เม็ดเลือดแดง	15
4	เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte)	16
5	เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (monocyte)	17
6	เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil)	18
7	เม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิล (Basophile)	19
8	เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล (Eosinophil)	20
9	เกล็ดเลือด (Platelet หรือ Thrombocyte)	21
10	อาหารปลาทดลอง	26
11	กระชังเลี้ยงปลาทดลอง	27
12	ปลาเริ่มทำการทดลอง	27
13	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกรัสเซียในการทดลองโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (กรัม/ตัว)	34
14	น้ำหนักที่เพิ่มในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (กรัม/ตัว)	35
15	อัตราการเจริญเติบโตในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (กรัม /ตัว/ วัน)	36
16	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่าย ไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์/วัน)	37
17	ความยาวในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (เซนติเมตร)	37
18	อัตราการรอดในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	38
19	อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้ สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (หน่วย)	39

		หน้า
20	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	40
21	สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศเมียในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	41
22	สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศผู้ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกทีระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	42
23	ลักษณะสีเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน	45
24	ปริมาณคาโรตินอยด์ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (ไมโครกรัม/ กรัม)	46
25	ฮีมาโตคริตในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	47
26	เม็ดเลือดแดงในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	49
27	เม็ดเลือดขาวในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)	49
28	ไลโซไซม์ ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (หน่วย/นาที)	50

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและปัญหา

ปลาที่มีสีเข้มสดไม่ว่าจะเป็นปลาสวยงาม หรือปลาเพื่อบริโภค ซึ่งได้รับความนิยมและสามารถจำหน่ายได้ราคาสูงขึ้น สีสันของปลาเกิดจากการสะสมของรงควัตถุ (pigment) พวกคาโรตินอยด์ (carotenoids) ซึ่งปลาไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ แต่ปลาสามารถได้รับคาโรตินอยด์ที่ผสมในอาหาร และปลาสามารถสะสมเม็ดสีไว้ในตัวปลาเอง หรืออาจเปลี่ยนคาโรตินอยด์เป็นสารสีรูปอื่นได้ (Fox, 1957) ดังนั้นจึงมีการผลิตอาหารที่มีส่วนผสมของคาโรตินอยด์เพื่อเร่งสีของปลาให้เข้มขึ้น สามารถจำหน่ายได้ในราคาสูง เช่น ปลาทอง ปลาคาร์ป ปลาหมอสี เป็นต้น ส่วนปลาเพื่อบริโภคนิยมเร่งสี เช่น เนื้อปลาแซลมอน และปลาเทร้าต์ เพื่อให้สีสันน่ารับประทานมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม การใช้คาโรตินอยด์สังเคราะห์ผสมในอาหารปลา จะทำให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงต้องประสบกับปัญหาต้นทุนที่สูงเพราะคาโรตินอยด์สังเคราะห์มีราคาค่อนข้างแพง ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการนำเอารงควัตถุคาโรตินอยด์จากแหล่งธรรมชาติทั้งพืชและสัตว์มาใช้ทดแทน เช่น สาหร่ายสไปรูไลนา ดอกดาวเรือง แครอท กุ้ง และปู เป็นต้น

สาหร่ายไกก็เป็นสาหร่ายอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว (Green algae) สาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณของคาโรตินอยด์ประมาณ 339.68 ไมโครกรัม จากสาหร่ายในปริมาณ 1 กรัม (ยุวดี, 2546) ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไก ในรูปน้ำหนักแห้งโดยมีโปรตีน 19.9 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.63 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 30.8 เปอร์เซ็นต์ระดับความชื้น 6.61 เปอร์เซ็นต์เยื่อใย 21.5 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 16.9 เปอร์เซ็นต์ จากสาหร่ายในปริมาณ 100 กรัม (ยุวดี, 2550)

จากปริมาณของคาโรตินอยด์ และคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไก ดังกล่าว ผู้วิจัยมีความสนใจในการทดลองเสริมสาหร่ายไก เพื่อพัฒนาคุณภาพของเนื้อปลาดุกรัสเซีย โดยนำสาหร่ายไกมาทดแทนโปรตีนจาก ปลาป่น และคาโรตินอยด์สังเคราะห์ ที่ราคาสูงการศึกษาถึงปริมาณคาโรตินอยด์ในเนื้อ และไข่ปลาดุกว่ามีมากน้อยเพียงใด รวมทั้งการศึกษาความดกของไข่ปลาดุก ซึ่งในการเลี้ยงปลาให้มีคุณภาพดี จำเป็นจะต้องมีการพัฒนาสูตรอาหาร ให้มีความเหมาะสมกับความต้องการของชนิดและสายพันธุ์ของปลา ซึ่งนอกจากจะเป็นการลดต้นทุนในการผลิตแล้ว ยังเป็นการสร้างแหล่งโภชนาการที่ให้คาโรตินอยด์ ทำให้เนื้อปลามีสีเหลือง และเป็นสาร

ตั้งต้นของวิตามินเอ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และจะเป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในตลาดอีกด้วย (Fox, 1957)

วัตถุประสงค์การศึกษา

1. ศึกษาการใช้สาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย เพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโต อัตราการรอด และสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) ของปลาดุกรัสเซีย
2. ศึกษาปริมาณ Total carotenoids ในเนื้อปลาดุกรัสเซีย
3. ศึกษาการประเมินภูมิคุ้มกันโรค
4. ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย
5. ศึกษาการประเมินผลทางเศรษฐกิจ ในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นแนวทางในการประกอบอาชีพของเกษตรกร ที่ผลิตปลาให้มีเนื้อลักษณะเป็นสีเหลือง
2. เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลทางวิชาการ ในการส่งเสริมความรู้แก่เกษตรกร สถาบันการศึกษาและ บุคคลที่มีความสนใจ

ขอบเขตของการศึกษา

ใช้สาหร่ายสีเขียว (ไก) ผสมในสูตรอาหารปลาที่แตกต่างกันคือ 0, 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ของสาหร่ายไก (น้ำหนักแห้ง) โดยปลาทำการทดลองมีอายุประมาณ 30 วัน และนำปลาดุกลงเลี้ยงในกระชังขนาด 1 x 2 x 1 ตารางเมตร ปล่อยในอัตรา 50 ตัว/ตารางเมตร (วิเศษ, ม.ป.ป.) ปรับให้เคยชินกับอาหารสูตรควบคุม (control) ประมาณ 7 วัน และหลังจากนั้นเริ่มทำการทดลองให้อาหารผสมสาหร่ายตามสูตรที่เตรียมไว้ ทำการปรับอาหาร และเก็บข้อมูลเปรียบเทียบน้ำหนักของปลาทุกๆ 30 วัน จนครบ 180 วัน และทำการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพของน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ไนเตรต-ไนโตรเจน (NO_3-N) และออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (PO_4-P) เป็นต้น และทำการ

วิเคราะห์การเจริญพันธุ์ ปริมาณคาโรตินอยด์ และภูมิคุ้มกัน ก่อนและหลังของการทดลอง (อุทัยรัตน์p, 2531; Foss *et al*., 1984; 2004; Chen *et al*., 1998 และ นภดล, 2549)

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ชีววิทยาปลาดุกรัสเซีย

ปลาดุกรัสเซีย (African Sharp tooth Catfish) มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกากลาง (วิเศษ, ม.ป.ป.) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias gariepinus* (Burchell) ปลาดุกยักษ์สามารถมีอายุยืนถึงประมาณ 50 ปี ชาวรัสเซียนำมาแพร่พันธุ์ในประเทศลาวคนไทยนำจากประเทศลาว เข้ามาในประเทศไทย แต่การขยายพันธุ์ ประเทศไทยจะขยายพันธุ์ได้ดีกว่า การเจริญเติบโตในเขตร้อน จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในเขตหนาว แต่การเพาะพันธุ์ปลาในประเทศร้อน เช่น ประเทศไทยนั้นฤดูหนาวจะเพาะพันธุ์ได้ดีกว่าฤดูร้อน แต่การเจริญเติบโตจะสู้ฤดูร้อนไม่ได้ (บราลี, 2533) ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงในประเทศไทย มีขนาดของลำตัว และน้ำหนักมากกว่าปลาดุกไทยมาก เพียง 5 เดือน จะมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 800 - 1,000 กรัมต่อตัว การกินอาหารค่อนข้างตะกละ กินอาหารแทบทุกชนิด มีการเคลื่อนไหวช้าจึงทำให้โตเร็ว เพราะเสียพลังงานในการเคลื่อนไหวน้อย ทนต่อสภาพน้ำได้ดี (สุภาพร, 2538)

ปลาดุกรัสเซียเป็นปลาที่ชอบอยู่อย่างสงบนิ่ง เวลาหิวจึงจะว่ายพล่าน ยามได้กินแล้วเมื่ออิ่มจะนอน ชอบว่ายน้ำตอนกลางคืน สามารถฝึกนิสัยในการกินอาหารให้เป็นเวลาได้ ชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สามารถจับมาเล่นได้ เวลาลูบหลังจะอยู่นิ่งๆ ให้ลูบเล่น แต่ไม่ชอบเสียงดัง ตกใจง่าย การให้อาหารเมื่อถึงเวลาปลาชินแล้วจะมาหาผู้ให้ จะรวมกันเป็นกลุ่ม สามารถกินอาหารจากมือได้ ไม่เหมือนปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน หรือปลาดุกบิ๊กอุย ยามตกใจก็จะไม่คายอาหาร ปลาดุกยักษ์นั้นดวงตาโตดูซื่อและเชื่อง ไม่ชอบขุดดินเป็นโพรง ไม่ชอบขุดดินหนี ไม่หนีจากบ่อ เลี้ยงง่ายกว่าปลาดุกชนิดอื่น ปลาดุกยักษ์จะกัดกัน ทำร้ายกัน ถ้าจับแยกจากบ่อเดิมจำนวนน้อยๆ มาขังไว้ในที่แคบไว้ประมาณ 2-3 ตัว หรือ 5-6 ตัว แต่ถ้าขังจำนวนมากๆ ในที่แคบหรือที่กว้างก็จะไม่ค่อยกัดกัน เพราะอยู่รวมกลุ่มกันได้ ปลาดุกยักษ์อยู่ได้ทั้งน้ำตื้น น้ำลึก น้ำไหล และน้ำนิ่ง แม้แต่ในน้ำครำก็สามารถอยู่ได้ (บราลี, 2533)

ส่วนหัวของปลาดุกรัสเซียจะมีลักษณะแบนใหญ่ มีรอยหยักตรงท้ายทอยคล้ายปลาดุกด้าน โดยรอยหยักมี 3 รอย แต่หยักลึก และใหญ่กว่า ด้านบนระหว่างตาทั้งสองมีรอยบุ๋มลึกเป็นทาง ลำตัวด้านบนสีเทาอมดำ มีลายหินอ่อนสีน้ำตาลกระจายอยู่ทั่วไป ถ้าหากเลี้ยงไว้ในที่ร่ม ลำตัวจะมีสีออกสีเหลือง ใต้ท้องสีขาว หางมีขนาดใหญ่ และดูลักษณะคล้ายกับปลาช่อน ตรงหางมีแถบสีขาวพาดขวาง ส่วนสีปากมีสีชมพู มีหนวด 8 เส้น เช่นเดียวกับปลาดุกไทย แต่หนวดจะหนาใหญ่

และยาวกว่า ลักษณะของเงี่ยงที่ครีบหูเรียบตรงโคนไม่มีตุ่มหยาบเหมือนเงี่ยงของปลาดุกไทย และปลายเงี่ยงจะติดอยู่กับครีบ ไม่แยกออกตอนปลาย และมีปลายแหลมอย่างปลาดุกไทย ปลาตัวผู้ที่โตเต็มที่ที่พร้อมจะผสมพันธุ์ จะมีสีแดงที่บนครีบ มีอวัยวะช่วยในการหายใจอยู่ภายในช่องเหงือก มีลักษณะคล้ายพุ่มไม้ เรียกว่า dendrite ทำให้สามารถที่จะอาศัยอยู่ในที่ที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำได้ โดยการขึ้นมาฮุบเอาอากาศที่ผิวน้ำ ชอบอาศัยในน้ำนิ่งมากกว่าน้ำไหล มีสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง 8.3 อุณหภูมิของน้ำตั้งแต่ 18-28 องศาเซลเซียส ปลาดุกชนิดนี้เป็นปลาที่กินสัตว์ และพืชเป็นอาหาร ตั้งแต่แพลงก์ตอนสัตว์ จนถึงปลาที่มีขนาดความยาวครึ่งหนึ่งของลำตัวมัน เวลาพบเหยื่อจะทำการโจมตีอย่างฉับพลันไม่ใช่การล่า ชอบคุ้ยกินอาหารอยู่ตามพื้นท้องน้ำที่เป็นโคลน ทราย หรือก้อนหิน (บราลี, 2533)

ปลาดุกที่เลี้ยงเพื่อการค้าในประเทศไทย มีอยู่หลายชนิดที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลายในยุคแรกๆ (ก่อนปีพ.ศ. 2529) คือปลาดุกด้าน หลังจากราคาตกมากในหลายปีนั้นเกษตรกรก็หันมาเลี้ยงปลาดุกอุยแทน แต่ปลาดุกอุยเจริญเติบโตช้า และมีปัญหาเรื่องโรคมาก แต่เนื้อมีรสชาติดีจึงขายได้ราคาดีกว่าปลาดุกชนิดอื่น จนกระทั่งปลายปี 2530 เกษตรได้นำปลาดุกยักษ์ (ปลาดุกเทศ หรือปลาดุกรัสเซีย) จากประเทศลาวมาผสมพันธุ์กับปลาดุกอุย ได้ปลาลูกผสมที่มีรสชาติคล้ายกับปลาดุกอุย เจริญเติบโตดีมาก และทนทานต่อโรค เกษตรกรจึงหันมาเลี้ยงปลาลูกผสม หรือเรียกกันว่าบิ๊กอุย ตั้งแต่นั้นมา ประมาณกันว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาดุกประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย มีเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเท่านั้นที่เลี้ยงปลาดุกยักษ์ ปลาดุกอุย หรือปลาดุกด้านแท้ (อุทัยรัตน์, 2544)

ตาราง 1 ปลาดุกอุย ปลาดุกด้าน และปลาดุกยักษ์มีลักษณะที่แตกต่างกัน

ลักษณะ	ปลาดุกอุย	ปลาดุกด้าน	ปลาดุกยักษ์
- กระดูกท้ายทอย	- โค้งมน	- แหลมเป็นหยัก 1 หยัก	- แหลมเป็นหยัก 3 - หยัก
- กระดูกกะโหลก	- เรียบลื่น	เรียบลื่น เช่นเดียวกับ	- ตะปุ่มตะป่ำ
- ครีบหู	- มีเงี่ยงคมมากก้าน ครีบแข็งยาว	ปลาดุกอุย	เงี่ยงไม่คม มีส่วนของก้านครีบอ่อนหุ้มถึงก้านครีบแข็ง
- สีลำตัว	- เหลืองหรือน้ำตาลปนดำ	-เทาหรือเทาดำ	- เทาหรือเทาอมเหลือง บางครั้งตกกระเหมือนลายหินอ่อน
- โคนครีบหาง	- ไม่มีแถบขาว	- ไม่มีแถบขาว	- มีแถบขาวเห็นได้ชัด
- สีท้อง	- สีขาวเหลืองจากอกถึงครีบท้อง	- สีขาวจากอกถึงครีบท้อง	- แถบขาวใต้ท้องยาวถึงโคนหาง

ที่มา: อุทัยรัตน์ (2544)

การเลี้ยงปลาดุกในบ่อซีเมนต์ควรมีการปรับสภาพน้ำในบ่อที่เลี้ยงให้มีสภาพเป็นกลาง หรือด่างเล็กน้อย แต่ต้องแน่ใจว่าบ่อซีเมนต์จะต้องหมดฤทธิ์ของปูน ระดับน้ำในบ่อปูนเมื่อเริ่มปล่อยลูกปลาขนาด 2-3 เซนติเมตร ควรมีระดับความลึกประมาณ 20-30 เซนติเมตร เมื่อลูกปลาเจริญเติบโตขึ้นค่อยๆ เพิ่มระดับประมาณ 5 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ ให้อาหารเม็ดประมาณ 3-7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลาโดยปล่อยปลาในอัตรา 50-100 ตัวต่อตารางเมตร ปลาจะเจริญเติบโตได้ขนาดประมาณ 100 - 200 กรัมต่อตัว ในระยะเวลาเลี้ยงประมาณ 90 วัน อัตราการรอดประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงโดยให้อาหารชนิดเม็ดสำเร็จรูป (กรมประมง, 2529)

อาหารมีผลต่อสัตว์น้ำมาก ถ้าอาหารมีส่วนผสมของปริมาณคาโรตินอยด์ในสูตรอาหารจะมีผลต่อสีของปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ ซึ่งมีความสำคัญต่อผู้บริโภค ดังนั้นในการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงจำเป็นต้องผลิตอาหารที่มีส่วนผสมของคาโรตินอยด์ เพื่อเร่งสีของสัตว์น้ำให้เข้มขึ้น ซึ่งจะทำให้สามารถจำหน่ายได้ในราคาที่สูงขึ้น และได้มีการศึกษาการใช้คาโรตินอยด์ผสมในอาหาร เพื่อเร่งสีปลามากมายดังจากการรายงานของงานวิจัยดังต่อไปนี้

การทดลองใช้สไปรูลินาสดเลี้ยงปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่มีอัตราการผสมแตกต่างกันพบว่าในหน่วยทดลองที่ได้รับส่วนผสมของ สไปรูลินาสด มีอัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินาสด ทำให้คุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณคาโรตินอยด์ (Total carotenoid) ในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามลำดับของสาหร่ายสไปรูลินาสดที่ผสมในอาหาร (จงกล และคณะ, 2549) และมีการทดลองใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Cladophora* sp. เลี้ยงปลาดุกรัสซีย ซึ่งใช้สาหร่าย *Spirulina platensis* ผสมในอาหารที่อัตรา 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Cladophora* sp. ใช้ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ในเนื้อปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงในสูตรอาหารผสมสาหร่าย *Cladophora* sp. มีปริมาณ carotenoids ในเนื้อปลาดุกมากกว่าอาหารที่ผสมสาหร่าย *Spirulina platensis* อัตรา 0, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (จงกล และคณะ, 2548)

มีการใช้แอสตาแซนทิน ทดลองเลี้ยงปลาหมอทะเล ซึ่งอัตราการใช้คือ 0, 50, 100 และ 150 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาที่สีของตัวปลาจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณแอสตาแซนทินที่ผสมลงในอาหาร (ทวี และคณะ, 2550) นอกจากนี้ ดาราวรรณ และคณะ (2547) รายงานว่า ความเข้มสีครีบของปลากระแหจะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของระดับแอสตาแซนทินในอาหารที่ระดับ 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ ก็เพียงพอสำหรับการเร่งสีปลากระแห

การทดลองใช้รงควัตถุคาโรตินอยด์ที่ได้จากแหล่งต่างๆ เร่งสีปลาแฟนซีคาร์ป จากการทดลองสรุปได้ว่า สาหร่ายเกลียวทองจัดเป็นสารเร่งที่ให้ผล ต่อความเข้มของสีปลาแฟนซี-คาร์ปที่ดีที่สุด และต้องการเร่งสีปลาให้เป็นสีแดงเข้ม ต้องใช้สาหร่ายเกลียวทองผงในปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารทั้งหมด โดยนำไปทดแทนโปรตีนในปลาป่น ระยะเวลาเลี้ยงอย่างน้อย 8 สัปดาห์ (วุฒิพร, 2527) มีการใช้สาหร่ายเกลียวทองสดเป็นส่วนประกอบของอาหารผสมสำหรับเลี้ยงปลาตะเพียนขาว และปลาดุกอุย จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า ปริมาณของสาหร่ายเกลียวทองที่ผสมลงไปในอาหาร และระยะเวลาการเลี้ยงจะเป็นปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนสีของเนื้อปลาดุกอุย ทั้งนี้เพราะปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมซึ่งมีปริมาณสาหร่ายเกลียวทองสด 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีการเปลี่ยนสีเนื้อตามระยะเวลาที่ใช้เลี้ยง โดยมีความเข้มข้นของสีเนื้อเพิ่มขึ้น ส่วนปลาที่ใช้เลี้ยงด้วยอาหารผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารซึ่งมีปริมาณสาหร่ายเกลียวทอง 0 เปอร์เซ็นต์ สีของเนื้อปลาเข้มขึ้นเล็กน้อย (บานชื่น, 2532)

การทดลองเลี้ยงปลาทองโดยให้อาหาร 3 ชนิด คืออาหารที่มีส่วนผสมของคาโรทินและลูทิน อาหารที่มีส่วนผสมของ แอสทาแซนทิน และอาหารที่ไม่มีส่วนผสมของคาโรตินอยด์ ผลของการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของคาโรทิน และลูทิน มีปริมาณคาโรติ

นอยด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีคาโรตินอยด์ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ (Hirao *et al*., 1962) และการทดลองใช้กลีบดอกดาวเรือง และสารให้สีที่สกัดจากเมล็ดแอนนัทโต (Annatto) เพื่อเป็นแหล่งคาโรตินอยด์โดยทดลองกับปลา 3 ชนิด คือ ปลาเทวดา (*Pterophyllum scalare*) ปลาออสการ์ (*Astronotus ocellatus*) และปลาเสือสุมาตรา (*Puntius tetrazona*) พบว่าปลาสุมาตรา ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกลีบดอกดาวเรือง ที่บริเวณลำตัว ครีบหลัง ครีบก้น และครีบหางจะมีสีแดงเข้มสดอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเมล็ดแอนนัทโต และอาหารที่ไม่ได้ใส่สารสี (วุฒิพร, 2527)

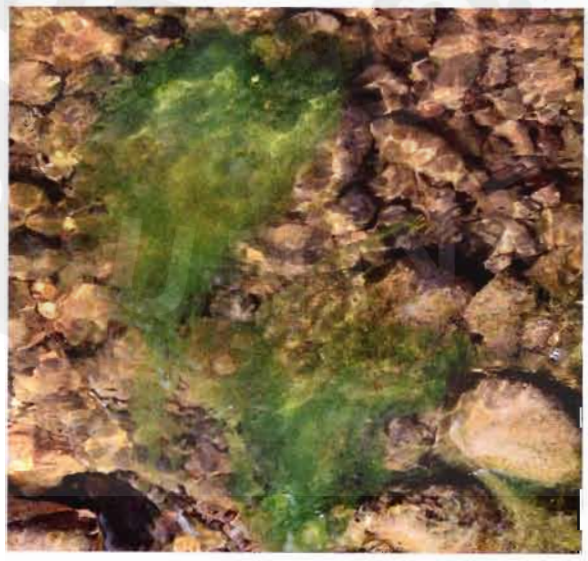
มีการใช้คาโรตินอยด์สังเคราะห์ ผสมในอาหารเลี้ยงปลาเรนโบ-เทร้า จากการทดลองพบว่า แอสตาแซนติน (astaxanthin) ส่วนใหญ่จะมี red carotenoids ซึ่งมีถึง 95.5 เปอร์เซ็นต์(Barbosa *et al*., 1999) และมีการเสริมเปลือกกุ้งป่นซึ่งเป็นแหล่ง esterified astaxanthin ในอาหารปลา red porgy ซึ่งใช้อาหาร 2 สูตรการทดลอง สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมโดยไม่ผสมเปลือกกุ้ง ส่วนในสูตรที่ 2 เสริมเปลือกกุ้งป่น 16 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้แทนปลาป่น โดยทดลองเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน คือ 60, 120, และ 180 วัน จากการทดลองพบว่า ในชุดการทดลองที่เลี้ยง 180 วัน จะมีสีผิวสีแดงกว่าในระยะเวลาเลี้ยง 60, 120 วัน และมีความแตกต่างกันกับในหน่วยควบคุม จากการทดลองครั้งนี้สรุปว่าสีของปลา red porgy จะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง และปริมาณอาหารที่ให้ (Kalinoski *et al*., 2007) และมีการทดลองการใช้คาร์โรตินอยด์ที่เสริมในอาหารต่อคุณภาพเนื้อของปลากดอเมริกันพบว่า อาหารที่เสริมคาร์โรตินอยด์มีสีเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม (Menghe *et al*., 2008)

ส่วนในด้านปริมาณความดกไข่ของปลาดุกรัสเซีย จากการทดลองเกี่ยวกับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของปลาดุกอุยซึ่งจากการทดลองพบว่า อวัยวะสืบพันธุ์ภายในของปลาดุกอุยเมื่ออายุ 15 วัน สามารถแยกเป็นรังไข่ และถุงอัณฑะ แต่แยกเพศจากอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกไม่ได้จะแยกเพศจากอวัยวะเพศทั้งภายใน และภายนอกตัวปลาได้เมื่อปลามีอายุ 3.5 เดือน เป็นต้นไป ปลาเริ่มมีความสมบูรณ์เมื่อมีอายุ 9 เดือนขึ้นไป มีค่าอัตราการเจริญพันธุ์ของปลาเพศเมียและเพศผู้ 1.02±0.10 เปอร์เซ็นต์ และ 0.94±0.09 เปอร์เซ็นต์ และเริ่มสามารถ ผสมเทียมปลาได้ แม้ว่าอยู่ในฤดูหนาวมีอัตราการรอดตายของลูกปลาต่ำ 12.3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อปลามีอายุ 12 เดือน ปลามีความสมบูรณ์สูงสุด ค่าอัตราความสมบูรณ์เพศของปลาเพศเมียและเพศผู้ 1.08±0.07 เปอร์เซ็นต์ และ 0.94±0.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการเพาะผสมเทียมปรากฏว่าอัตราการรอดตายของลูกปลาสูงถึง 68 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะอยู่ในช่วงฤดูร้อนซึ่งเป็นระยะต้นฤดูกาลการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ก็ตาม พบว่าค่า GSI ของปลาเพศผู้ไม่เปลี่ยนแปลงมากนักตลอดการทดลอง และพบว่าทั้งฤดูกาล และอายุของปลามีผลต่อค่า GSI ของปลาเพศเมีย (พรรณศรี, 2538) และมีการทดลอง

เกี่ยวกับ การส่งเสริมความสมบูรณ์เพศของปลาแรด และปลาดุกอุยด้วยอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง ซึ่งปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายเกลียวทอง 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน โดยนำปลาดุกอุยอัตราส่วนเพศ 1:1 จำนวน 40 ตัว เลี้ยงในกระชังขนาดกว้าง 2.5 เมตร ยาว 2.5 เมตร และลึก 1.5 เมตร ให้อาหารจนปลากินอิ่มวันละ 2 มื้อ ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ของปลาดุกอุย (GSI) ของปลาดุกอุยเพศเมีย มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 17.38 ± 2.44 เปอร์เซ็นต์ ในปลาดุกอุยเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารที่ผสมสาหร่ายในปริมาณอื่นๆ เมื่อนำปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายระดับต่างๆ มาเพาะพันธุ์โดยวิธีผสมเทียม พบว่า น้ำหนักไข่ทั้งหมด จำนวนไข่ทั้งหมด และจำนวนลูกปลาที่ฟักออกเป็นตัวในแต่ละหน่วยการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยอาหารที่มีสาหร่ายเกลียวทองผสมในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้น้ำหนักไข่ จำนวนไข่ และจำนวนลูกปลาที่ฟักออกเป็นตัวทั้งหมดมีน้ำหนักและจำนวนสูงสุด (ฐิติมา และคณะ, 2546)

ชีววิทยาของสาหร่ายสีเขียว (ไก)

สาหร่ายสีเขียว (ไก) จัดอยู่ใน Kingdom Protista, Division Chlorophyta, Class Chlophyceae, Order Cladophorales, Family Cladophoraceae, Genus *Cladophora* (กาญจนภาชน์, 2527) *Clodophora* sp.



ภาพ 1 สาหร่ายสีเขียวไก

เป็นสาหร่ายที่มีลักษณะเป็นเส้นสายที่แตกแขนง แต่การแตกแขนงจะไม่เป็นพุ่ม อาจแตกทีละ 1 แขนง หรือแบบ ไดโคโตมัส (Dichotomous branching) เซลล์ต่างๆ ที่มีไรซอยด์ยึดเกาะกับพื้น (ยุวดี, 2550) เซลล์เป็นรูปทรงกระบอกมีความยาวมากกว่ากว้าง มีตั้งแต่ 5-20 เท่าของความกว้าง ผนังเซลล์มี 3 ชั้น ชั้นในเป็นพวกเซลลูโลส ชั้นกลางเป็นสารพวกเพกติน และชั้นนอกสุดเป็นพวกไคติน คลอโรพลาสต์เป็นรูปตาข่าย มีไพรีนอยด์กระจายอยู่ทั่วไป นิวเครียสหลายอันอยู่ในไซโตพลาสต์ ซึ่งล้อมรอบด้วยคลอโรพลาสต์รูปตาข่าย สาหร่ายสีเขียว (ไก) มีปริมาณคาโรตินอยด์ประมาณ 339.68 ไมโครกรัม จากสาหร่ายแห้งปริมาณ 1 กรัม

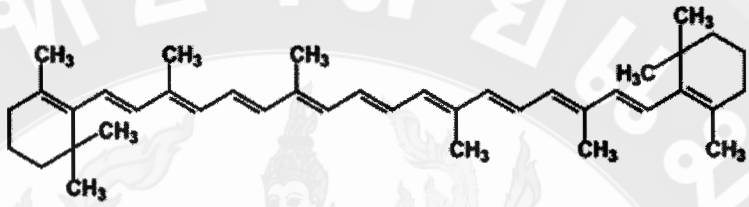
มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศโดยการสร้างแกมมีทเพศผู้ และเพศเมีย และไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ ทั้งแกมมีทมีการผสมกันแล้วซึ่งเรียกว่า โซโกท และสปอร์จะเกาะติดกับก้อนหินที่พื้นท้องน้ำ ดังนั้น เมื่อเส้นสายของสาหร่ายตายไปเนื่องจากน้ำขุ่นในฤดูฝน ซึ่งสาหร่ายไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ แต่ไซโกท และสปอร์ดังกล่าวที่เกาะอยู่กับก้อนหินที่พื้นท้องน้ำยังมีชีวิตอยู่เมื่อน้ำในลำน้ำใสขึ้นในช่วงฤดูแล้ง เซลล์สืบพันธุ์จะงอกออกเป็นเส้นสายใหม่ (ยุวดี, 2550) สาหร่ายไกเจริญได้ดีในแหล่งน้ำไหลที่มีน้ำไหลค่อนข้างเอื่อย กระแสน้ำมีผลให้เส้นสายของสาหร่ายไกยืดยาวออกไป แต่ถ้ากระแสน้ำแรงเกินไป เส้นสายของสาหร่ายไกอาจขาดได้ นอกจากนั้นยังต้องเจริญในแหล่งน้ำที่มีความใสพอควร จึงพบสาหร่ายชนิดนี้ในฤดูแล้ง คือฤดูหนาวโดยจะพบในเดือน ตุลาคมถึงเดือนธันวาคม

คาโรตินอยด์ เป็นสารที่พบทั่วไปทั้งในพืช และสัตว์ แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์คาโรตินอยด์เองได้ ดังนั้นจะต้องได้รับจากพืช หรือสัตว์ที่เป็นอาหารโดยตรง และสามารถเก็บเม็ดสีไว้ในตัวของมันเอง หรืออาจเปลี่ยนเป็นวัตถุรูปอื่นได้ (Fox, 1957) คาโรตินอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนต่อกันเป็นสายยาว คาโรตินอยด์ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในไขมัน (Fox and Vevers, 1960)

ชนิดและโครงสร้างของคาโรตินอยด์

Green berg (1968) รงควัตถุพวกคาโรตินอยด์ (carotenoids) จัดเป็นพวกเทราเทอร์พีน (Tetraterpenes) ซึ่งประกอบด้วยไอโซรีน (Isoprene) สี่หน่วยมาต่อกันเป็นสารประกอบของไฮโดรคาร์บอน ที่อิ่มตัวที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้งสองข้างมีคาร์บอนอะตอมต่อกันเป็นวง (Ring structure) มีตั้งแต่สีเหลือง สีส้ม และสีแดง และยังได้แบ่งคาโรตินอยด์ได้เป็นสองพวกใหญ่ๆ ตามโครงสร้างทางเคมีดังนี้

1. คาโรทีน (Carotene) โมเลกุลของคาโรทีนเป็นไฮโดรเจนคาร์บอน ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยว (Single bond) สลับกับพันธะคู่ (Double bonds) และปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้งสองข้างจะมีอะตอมของคาร์บอนเกาะกันเป็นวงเรียก ไอออนวันริง (Ionone ring)



ภาพ 2 สูตรโครงสร้างของคาโรทีน (Carotene)

2. แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) เกิดจากการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุล ของคาโรทีนแซนโทฟิลล์ ที่พบในปลาส่วนมากได้แก่ ทาราแซนทีน (Taraxanthin) ลูทีน(Lutein) ซีแซนทีน (Zeaxanthin) และแอสตาแซนทีน (Astaxanthin) ส่วนในสัตว์เปลือกแข็ง (Crustacean) แซนโทฟิลล์ที่พบมากที่สุดได้แก่ แอสตาแซนทีน (Astaxanthin) ซึ่งมีอยู่ในสัตว์เปลือกแข็งเกือบทุกชนิด แซนโทฟิลล์เป็นคาโรตินอยด์ที่มีบทบาทในการให้สีในสิ่งมีชีวิต

แหล่งของคาโรตินอยด์

Fox (1957) เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์คาโรตินอยด์ขึ้นเองได้ แต่จะเปลี่ยนแปลงจาก คาโรตินอยด์ในอาหารที่กินเข้าไป คาโรตินอยด์เหล่านี้จะสะสมอยู่ภายในร่างกาย เป็นผลทำให้เกิดสีขึ้นในส่วนต่างๆ ของร่างกาย คาโรตินอยด์จะปรากฏในสัตว์เกือบทุกชนิด ตั้งแต่ชั้นต่ำจนถึงสัตว์ชั้นสูง คาโรตินอยด์ที่มีอยู่ในปัจจุบันมีทั้งที่ได้จากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ขึ้น

1. Fox (1957) คาโรตินอยด์จากธรรมชาติ เป็นคาโรตินอยด์ที่พบได้ทั้งในพืช และสัตว์ทะเลหลายชนิด ได้มีการศึกษาแหล่งคาโรตินอยด์จากธรรมชาติมากมาย เช่นหยดไขมันของโคพิพอด (Copipod) และแคพเนียเพศผู้ Fox and Vever (1960) ในรังไข่ของหอยเชลล์ (Scallop) ไฮดราบางชนิด ฟองน้ำทะเล และเอกไคโนเดิร์ม (Echinoderm) ได้แก่ หอยเม่น ปลิงทะเล และปลาดาว นอกจากนี้ยังได้จากสาหร่ายสีเขียว Nakayama (1962) รายงานว่าคาโรตินอยด์ที่ได้จากสาหร่ายตรวจพบ beta-carotene ในปริมาณมากที่สุด

2. วุฒิพร (2527) คาโรตินอยด์สังเคราะห์ คือ สารสีซึ่งผ่านขบวนการสกัดจากพืชและสัตว์เพื่อทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งได้แบ่งคาโรตินอยด์สังเคราะห์ออกเป็น 3 ชนิด คือ

2.1. แคโรฟิลล์เยลโล (Carophyll yellow) ประกอบด้วย เอคาโรทีโนอิก–เอสเทอร์ 10 เปอร์เซ็นต์ สารตัวนี้สกัดจากหญ้าขน (Alfalfa) และผลไม้บางชนิดที่มีรสเปรี้ยว (Citrus fruits)

2.2. แคโรฟิลล์เรด (Carophyll red) ประกอบด้วย เอโปคาโรทีโนอิก–เอสเทอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ และแคนทาแซนทิน 5 เปอร์เซ็นต์ สารตัวนี้สกัดจากเห็ดชันเทอเรลลี (Chanteralle) กุ้ง และขนนกฟลามิงโก

2.3. แคโรฟิลล์ออเรนจ์ (Carophyll orange) ประกอบด้วย แคนทาแซนทิน 10 เปอร์เซ็นต์ แคโรฟิลล์มีขนาดอนุภาคเล็กมาก มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.15-0.4 มิลลิเมตร ทำให้สามารถผสมกับอาหารได้เป็นอย่างดี ในแคโรฟิลล์เรด หนัก 1 กรัม ประกอบด้วย 100,000 อณูของแคโรฟิลล์ ความถ่วงจำเพาะประมาณ 0.7 และแคโรฟิลล์ สังเคราะห์นี้จะคงตัวได้นาน ไม่เหมือนกับคาโรตินอยด์ในธรรมชาติซึ่งไม่คงตัว

ระบบภูมิคุ้มกัน

ภูมิคุ้มกันของปลามีลักษณะทั่วไปคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Sakai *et al*., 1999 และ Vadstein, 1997) Vadstein (1997) กล่าวว่า ภูมิคุ้มกันปลามีการพัฒนาที่ไม่ดี ส่วนใหญ่สุขภาพของปลาจะขึ้นอยู่กับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (nonspecific immunity) ซึ่งภูมิคุ้มกันชนิดนี้ไม่จำเป็นต้องได้รับแอนติเจน หรือเชื้อโรคก่อนที่จะเกิดการตอบสนอง ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะถือเป็นด่านแรกในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคต่างๆ และมีการตอบสนองอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรคหลากชนิด

ภูมิคุ้มกันสามารถแบ่งตามลักษณะการทำงานได้ 2 ชนิด คือ ภูมิคุ้มกันที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับเซลล์ (cell-mediated immunity) และภูมิคุ้มกันสารน้ำ (humoral immunity)

1. ภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ จะประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่จับกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytotic cell) ได้แก่ มาโครฟาจ (macrophage) และนิวโตรฟิล (neutrophil) Evans and Jaso-Friedmann (1992) กล่าวว่า ปลาสามารถผลิตเซลล์ที่เรียกว่า nonspecific cytotoxic cell (NCC) ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีความสามารถในการทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส หรือเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ปลายังสามารถผลิตเซลล์เม็ดเลือดขาวจำพวก T และ B lymphocytes ซึ่งเป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจน

2. ภูมิคุ้มกันที่เป็นของเหลวในน้ำเลือด หรือภูมิคุ้มกันสารน้ำ (humoral immunity) มีหลายชนิดเช่น

2.1. คอมพลีเมนต์ (complement) ทำหน้าที่ช่วยในการทำให้เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส ง่ายต่อการถูกทำลายโดยจะช่วยเสริมการทำงานการกลืนกินของเซลล์ (phagocytosis) ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า opsonization คอมพลีเมนต์ยังทำให้เกิดการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียอีกด้วย

2.2. ไลโซไซม์ (lysozyme; N-acetylmuramide glycanhydrolase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ทำลายผนังเซลล์แบคทีเรีย (Dalmo *et al*., 1997)

2.3. สารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จำพวก tranferrin และโปรตีน reactive (CRP) ที่อยู่ในซีรัม ทำหน้าที่กับคอมพลีเมนต์ในการช่วยเพิ่มความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม

2.4. ไซโตคายน์ (cytokine) เป็นกลุ่มของโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณในการกระตุ้น และยับยั้งการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ

องค์ประกอบของเลือดปลา

เลือดปลา (Blood) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งเป็นตังกลางในการลำเลียง (transport medium) ทำหน้าที่หลายอย่าง ได้แก่

1. ลำเลียงและการแลกเปลี่ยนสารต่างๆ รวมทั้ง chemical messenger
2. รักษาสมดุลต่างๆ ได้แก่
   - 2.1. รักษาสมดุลของอุณหภูมิ (thermoregulation)
   - 2.2. รักษาสมดุลกรดด่าง (acid-base balance)
   - 2.3. รักษาสมดุลปริมาณ electrolytes (electrolytes balance)
3. เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันโดยการเกิด phagocytosis และมี immune response
4. เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดเพื่อทำให้เลือดหยุดไหล และมีการซ่อมแซมแผลให้หาย

องค์ประกอบของเลือดปลา มีอยู่ 2 ส่วนได้แก่

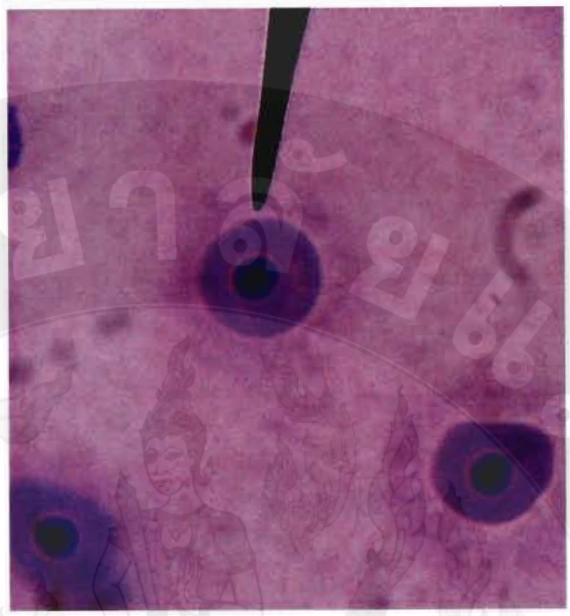
1.ส่วนที่เป็นของเหลว (liquid portion) ส่วนที่เรียกว่าน้ำเลือด (plasma) ประกอบด้วย plasma protein ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรโปรตีนชนิด albumin มากที่สุด และ globulin เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้ง fibrinogen สารสร้างเส้นใย fibrin ทำให้เลือดแข็งตัว (clot) และ Inorganic salts ในรูปของ โพแทสเซียม (K^+) โซเดียม (Na^+) แคลเซียม (Ca^+) แมกนีเซียม (Mg) และฟอสฟอรัส (P) และอื่นๆ อีกประมาณ 0.9 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร นอกจากนี้ในน้ำเลือดยังมี organic compound ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ glucose amino acid hormones vitamins metabolites urea และ weste products ต่างๆ รวมทั้ง insoluble compounds ที่ส่วนมากจับตัว อยู่กับโปรตีนชนิด albumin และ globulin เพื่อนำไปยังที่อื่นต่อไป

น้ำเลือดมีจุดเยือกแข็งต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส ในปลาน้ำจืดอยู่ที่ -0.5 ถึง -1.0 องศาเซลเซียส ในปลาทะเลกลุ่มของปลากระดูกอ่อนอาจถึง -2.17 องศาเซลเซียส

ในน้ำเลือดของปลามีสาร Protrombin ทำให้เลือดแข็งตัวเมื่อเกิดบาดแผลแต่มีปริมาณน้อยกว่าสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังชั้นสูงอื่นๆ แต่เลือดปลาก็ยังแข็งตัวได้เร็วกว่า เข้าใจว่าเกิดจากเอนไซม์ thrombokenase ที่พบในน้ำเลือดของปลา

2.ส่วนที่เป็นเซลล์ (formed element) ประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดต่างๆ และเกล็ดเลือด (blood platelets) ได้แก่

2.1 เม็ดเลือดแดง (red blood cell หรือ erythrocytes) ทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนเม็ดเลือดแดงของปลาจะมีลักษณะเป็นรูปวงรี (oval) มีนิวเครียสอยู่ที่ตรงกลางเซลล์ เมื่อโตเต็มที่ไม่มีนิวเครียส นอกจากไม่มีนิวเครียสแล้ว ยังไมมีไมโตคอนเครียจึงสร้างพลังงาน ATP โดยไม่ใช้ออกซิเจน และภายในถุงของของเซลล์เม็ดเลือดแดงประกอบด้วยสาร hemoglobin ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงมีเส้นใยที่เรียกว่า spec tin ซึ่งเป็น Intermediate filament ที่ช่วยรักษารูปร่างของเม็ดเลือดแดงให้มีลักษณะทรงกลมและเว้าทั้ง 2 ด้าน ถึงแม้เม็ดเลือดแดงจะทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนแต่ออกซิเจนมีปริมาณน้อยมาก ปริมาณของเม็ดเลือดแดงจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของตัวปลาและยังสัมพันธ์กับความเครียด (stress) และปัจจัยของสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แต่โดยทั่วไปเม็ดเลือดแดงของปลาจะอยู่ในช่วง 1.05-3.0 x 10^6 เซลล์/ ลบ.มม.



ภาพ 3 เม็ดเลือดแดง

2.2 เม็ดเลือดขาว (white blood cell หรือ leukocytes) ทำหน้าที่เกี่ยวกับการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและภูมิคุ้มกัน เซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีความแตกต่างกันออกไปจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

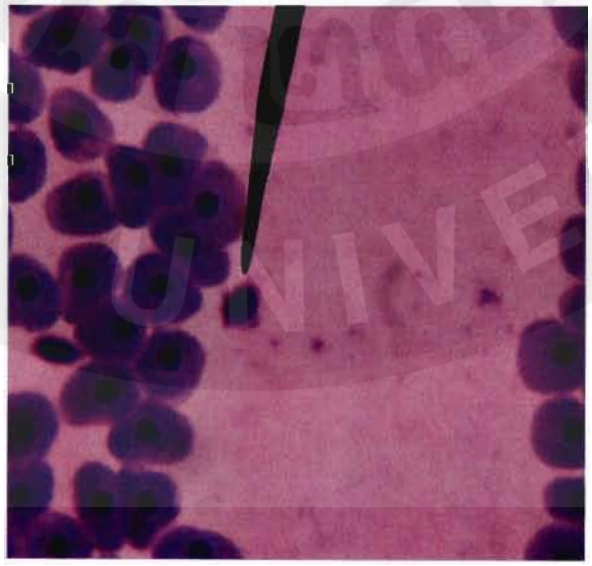
2.2.1 กลุ่มไม่มีกลานูลพิเศษ (agranulocytes) มีลักษณะที่สำคัญคือ มีนิวเครียส 1 พู (lobe) และมี lysosomal glanule ซึ่งเป็น glanule ปรกติที่พบใน cytoplasm และไม่มีกลานูลพิเศษ (specific granule) ที่มีขนาดใหญ่ใน cytoplasm aglanulocyte แบ่งเป็น 2 ชนิดได้แก่ Monocyte และ Lymphocyte ซึ่งได้แก่ B-lymphocyte และ T-lymphocyte

2.2.2 กลุ่มมีกลานูล (granulocytes) มีลักษณะที่สำคัญคือมีนิวเครียส ที่มีรูปรางหลายๆ แบบ จัดเป็นพวก polymoepho nuclear white blood cell (PMN) มีนิวเครียสจำนวนพู (lobe) มากกว่า 1 พู และมีรูปร่างไมแน่นอน ภายใน cytoplasm นอกจากมี lysomal glanule แล้วยังมี specific granule หรือกลานูลพิเศษ ซึ่งมีขนาดใหญ่มองเห็นได้ชัดเมื่อย้อมสี และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แบ่งออกได้ 3 ชนิด ได้แก่ Eosinophil Basophil และ Neutrophil

เม็ดเลือดขาวทั้ง 2 กลุ่มดังกล่าวสามารถแยกออกเป็น 5 ชนิด ดังนี้

1. เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte)

มีขนาดเล็กมี diameter ประมาณ 7-9 micrometer ในปลาพบอยู่ประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด ลักษณะสำคัญคือ เป็นเซลล์รูปร่างกลม มีนิวเคลียสกลม มีโครมาตินอัดแน่นทึบ ติดสีเข้ม เมื่อย้อมแล้วมีลักษณะติดสีม่วงเข้มทึบ cytoplasm มีปริมาตรน้อยกว่าเมื่อเทียบกับปริมาตรของนิวเคลียส ไม่มี specific granule พบแต่เพียง lysosomal granule เท่านั้น มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ พบว่าปลาที่ติดเชื้อและอยู่ในภาวะเครียดจะมีปริมาณ lymphocytes ต่ำ ถ้าพิจารณาจากต้นกำเนิด lymphocyte แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ T-lymphocyte (thymus-dependent lymphocyte) และ B-lymphocyte (bursa-dependent lymphocyte) T-lymphocyte (T-cell)เกิดจาก Stem cell ที่อยู่ภายในไขกระดูก (thymus gland) แล้วถูกชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น T-lymphocyte ซึ่งทำหน้าที่เป็น cellular immunity เพื่อ phogocytosis ทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในบริเวณเนื้อเยื่อต่างๆ B-lymphocyte (B-cell) เกิดจาก Undifferentiated cell ที่อยู่ในไขกระดูก (bone marrow) ในระยะตัวอ่อน ถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนแปลงไปเป็น B-lymphocyte ภายในไขกระดูกและทำหน้าที่สร้าง humeral immunity เมื่อ B-lymphocyte ไปสัมผัสกับ antigen ที่เป็นสิ่งแปลกปลอม ก็เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก B-lymphocyte ไปเป็น plasma cell ทำหน้าที่สร้าง antibody และ B-lymphocyte บางเซลล์เปลี่ยนแปลงไปเป็น memory cell ซึ่งทำให้มีการจดจำ antigen ครั้งแรก ซึ่งเมื่อได้รับ antigen อีกครั้งหนึ่งก็สามารถสร้าง antibody ได้อย่างรวดเร็ว



ภาพ 4 เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte)

2. เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (monocyte)

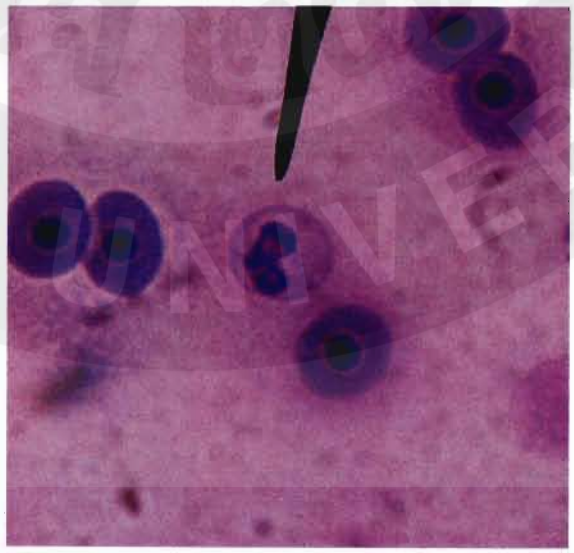
เป็นเม็ดเลือดขาว ในกลุ่มของ agranulocytes มีลักษณะเป็นเซลล์รูปกลมขนาดใหญ่ที่สุดและมีพื้นที่ของcytoplasm มากกว่า lymphocytesอาจพบกลานูลภายในcytoplasm มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12-20 micrometers และพบเป็นจำนวน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดส่วน ในกลุ่มปลา catfish พบ 1-8 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวชนิดนี้มีอายุอยู่ในกระแสโลหิตประมาณ 3 วัน ลักษณะที่สำคัญของ monocyte คือ มีนิวเครียสเป็นรูปไตหรือเกือกม้าจำนวน 1 lobe ภายในนิวเครียสมรโครมาตินที่กระจายอยู่ทั่วๆ ไปติดสีจางและไม่มีนิวคลีโอลัส ภายใน cytoplasm ไม่มี specific granule แต่มีเพียง lysosomal glanule ปรติเท่านั้น มี organelles ชนิดต่างๆ ได้แก่ mitochondria, golgi complex, SER, และ microtubule หน้าที่สำคัญของ monocyte คือ ทำหน้าที่ phagocytosis พวก micro organisms ต่างๆ และมีการเคลื่อนที่ออกจากเส้นเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น macrophage เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ส่วน monocyte ซึ่งอยู่บริเวณเนื้อเยื่อ กระดูกและมีการรวมกันเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ที่มีชื่อเรียก osteoclast ตามปกติ monocyte เมื่อเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ภายในบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีอายุยาวนานได้ประมาณ 72 วัน

ภาพ 5 เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (monocyte)

3. เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil หรือ polymorphonuclear cell or PMNS)

เป็นเซลล์รูปร่างกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12 – 15 micrometer และมีอายุอยู่ในกระแสเลือดประมาณ 1 – 4 วัน ประมาณ neutrophil ของปลาโดยเฉลี่ยประมาณ 3.0 x 10^3 เซลล์/ ลบ.มม. (ปริมาณ 6-8 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด) ลักษณะสำคัญ คือ มีนิวเคลียสหลาย lobe ซึ่งเชื่อมติดต่อกันด้วยเส้นใยโครมาติน neutrophil ส่วนที่มีลักษณะยื่นออกมาเป็นติ่ง และมีหัวกลมๆ เล็กๆ คล้ายๆ หัวของไม้ตีกลอง ซึ่งเรียกว่า drum stick ซึ่งเป็นส่วนของโครโมโซมที่อัดกันแน่น ภายใน cytoplasm มี specific granue มีลักษณะเป็นรูปร่างแท่ง และรูปกลม ลักษณะของกลานูลมีเยื่อหุ้ม ภายในมีสารพวกเอนไซม์ต่างๆ เช่น collagenase alkaline-phosphatase amino peptides สาร lactoferrin (bacteriostatic agent) และ phagocytin ทำลายสิ่งแปลกปลอมต่างๆ

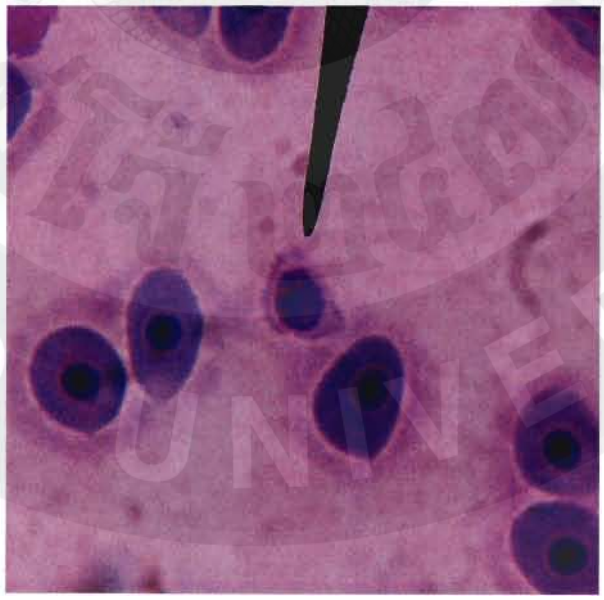
Neutrophil ทำหน้าที่เป็นด่านแรกที่ป้องกันหรือทำลายสิ่งแปลกปลอมโดย phagocytosis ในบริเวณที่มีการติดเชื้อ สารที่มาจากแบคทีเรียกระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้เกิดการเคลื่อนที่เข้าหา (chemotaxis) และเกิดกระบวนการ phagocytosis ซึ่งเมื่อ phagocytosis แบคทีเรียเข้าไปใน cytoplasm แล้ว phagosome เคลื่อนที่เข้ามารวมกับ lysosome granule และ specific granule มีผลให้เอ็นไซม์ที่อยู่ภายใน granule และ specific granule ร่วมกันทำงานเพื่อทำลายแบคทีเรีย แล้วเซลล์เม็ดเลือดขาว neutrophil ก็ตายด้วยเช่นกัน ดังนั้นบริเวณที่มีการติดเชื้อ และมีการทำลายด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้แล้วก็เกิดหนองซึ่งถูกกำจัดออกไปโดย macrophage ที่เข้ามาบริเวณติดเชื้อ



ภาพ 6 เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil)

4. เม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิล (Basophile)

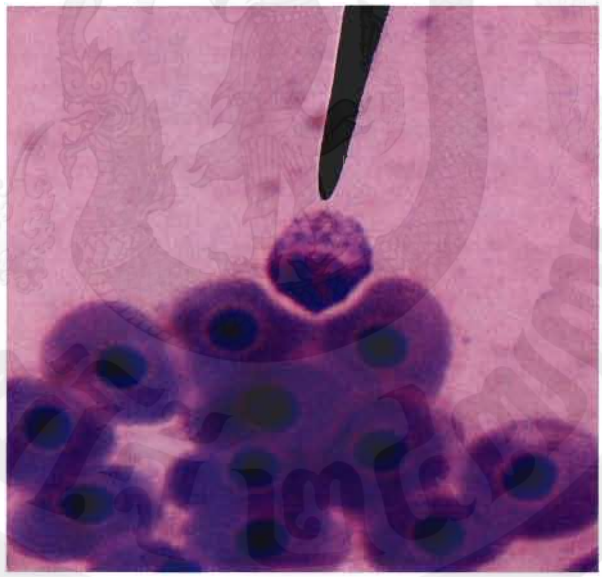
เม็ดเลือดขาวชนิดนี้พบน้อยมาก พบว่าในปลามีน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมีรูปร่างกลมขนาดใหญ่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12-15 micrometer ลักษณะที่สำคัญคือ นิวเคลียสมีรูปร่างเป็นตัว S หรือบางครั้งเป็นแถบยาว ภายใน cytoplasm มี specific granule มากกระจายบดบังบริเวณนิวเคลียส ทำให้มองเห็นนิวเคลียสไม่ชัด กลานูลพิเศษมีขนาดใหญ่และไม่เท่ากัน ย้อมติดสีน้ำเงินเข้ม ซึ่งเป็นพวกสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง ภายในกลานูลพิเศษ มีสาร histamine heparin SRS (shol reaction substance) serotonin และ leukotrienes หน้าที่เม็ดเลือดขาว basophile ทำให้เกิดกระบวนการ cell-mediated immunity ที่บริเวณผิวหนังชั้นหนังแท้ (dermis) และบริเวณชั้นใต้ผิวหนังแท้ (subcutaneous connective tissue) และทำให้เกิดอาการภูมิแพ้บริเวณผิวหนังแบบชนิดที่เป็น subcutaneous basophile hypersensitive จากการที่ basophile รวมตัว หรือจับตัวกับ Immunoglobulin E ซึ่งเป็น antibody ทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดนี้หลังสาร histamine ซึ่งเป็น vasoactive agent มีผลไปเพิ่ม permeability ของหลอดเลือดฝอย ดังนั่นจึงทำให้ของเหลวที่อยู่ในหลอดเลือดแพร่กระจายออกมายังเนื้อเยื่อภายนอก มีผลทำให้เกิดการบวมหรือมีน้ำออกมาอยู่ในบริเวณเนื้อเยื่อทำให้เกิดอาการบวม ร้อนและมีผื่นแดงในบริเวณที่เกิดอาการแพ้ขึ้น ซึ่งโดยปกติแล้วต้องใช้สาร antihistamine มาทำให้ลดอาการแพ้



ภาพ 7 เม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิล (Basophile)

5. เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล (Eosinophil)

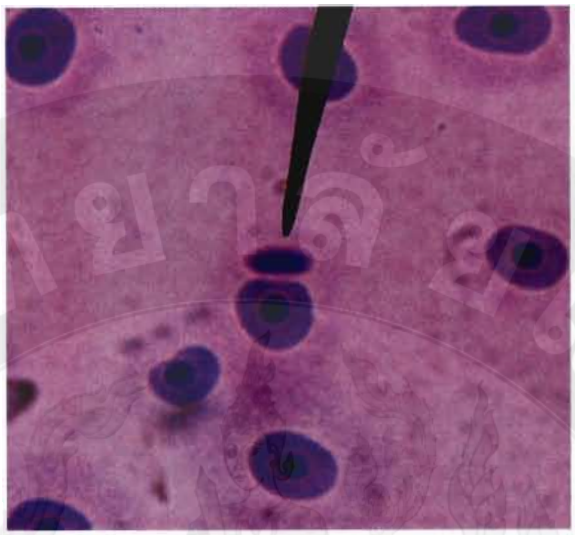
เป็นเซลล์ขนาดกลางมี diameter ประมาณ 10-15 micrometer พบอยู่ประมาณ 2-3 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และมีอายุอยู่ประมาณ 8-12 วัน ลักษณะที่สำคัญ คือมีนิวเคลียส 2 lobe และไม่เห็นนิวคลีโอลัส ภายใน cytoplasm มี specific granule ขนาดใหญ่ รูปไข่ จำนวนมาก ซึ่งพบอยู่ประมาณ 200-300 กลานูลต่อเซลล์ ย้อมติดสีแดง specific granule มีเมมเบลนล้อมรอบ ภายในมีลักษณะเป็นผลึกที่ซ้อนกันเป็นแผ่น(lamellated crystalloid) มีเอ็นไซม์พวก peroxidese, htdrolytic enzyme และมีกลานูลปกติ (lysosomal grnule) ซึ่งมีเอ็นไซม์ peroxidase และสาร phagocytin ทำหน้าที่ฆ่าแบคทีเรีย หน้าที่ของเม็ดเลือดขาวชนิดนี้ คือ กำจัด antigen-antiody complex ของคนที่เป็น hay fever และหืด (asthma) ทำหน้าที่ phagocytosis ในลักษณะที่เป็น selevtive phagocytosis และทำหน้าที่ลดการทำงานของการทำงานของสารสื่อ (mediator) ต่างๆเพื่อลดอาการอักเสบ



ภาพ 8 เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล (Eosinophil)

เกล็ดเลือด

เกล็ดเลือด (Platelet หรือ thrombocyte) ทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด (blood clotting หรือcoagulation) ปลาปกติจะมีปริมาณ thrombocyte โดยเฉลี่ยประมาณ 60,000-70,000 เซลล์/ลบ.มม.



ภาพ 9 เกล็ดเลือด (Platelet หรือ Thrombocyte)

เนื่องจากเลือดปลาเป็นตัวกลางสำคัญในการนำสารอาหารและออกซิเจนไปเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของร่างกาย เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือมีความผิดปกติของระบบใดระบบหนึ่งร่างกายปลา ก็จะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของเลือดโดยตรง ค่าองค์ประกอบของเลือดปลา (Hematological parameters) เช่นปริมาณเม็ดเลือด ค่าฮีโมโกลบิน ระดับน้ำตาลในเลือด ปริมาณซีรัมโปรตีน สามารถเป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพของตัวปลา ความเครียดเนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมการติดเชื้อ ภาวะโภชนาการของปลา และสามารถใช้เป็นเครื่องมือประกอบการวินิจฉัยสาเหตุของโรคและความผิดปกติของปลาได้

การศึกษาองค์ประกอบของเลือดปลามักมีข้อจำกัดเกี่ยวกับเทคนิคในการเก็บเม็ดเลือดจากปลาตัวอย่าง เนื่องจากปลาไม่มีเส้นเลือดบริเวณผิวลำตัว (superficial vessels) ที่มีขนาดใหญ่เพียงพอต่อการเจาะเลือด ในปลาที่มีขนาดเล็ก การเก็บเลือดปลาจึงต้องเก็บโดยการตัดคอดหาง (section of the caudal peduncle) ส่วนปลาที่มีขนาดใหญ่อาจจะเก็บเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหาง (caudal venous puncture) หัวใจ (heart/cardiac puncture)หรือเส้นเลือดใหญ่บริเวณเพดานปาก (dorsal aorta puncture) นอกจากนี้พบว่าการจับปลาหรือการปฏิบัติต่อปลาขณะเก็บเลือด เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเลือดปลา ดังนั้นขณะเก็บเลือดปลาจึงควรใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษ และควรทำการสลบปลา (anaesthetize) ก่อนการเก็บเลือดทุกครั้ง การสลบปลาโดยทั่วไปจะใช้สารเคมีหรือยาสลบ (anesthetics) ที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น Trichinae methansulfonate (MS-222) เข้มข้น 150 มก./ลิตร นอกจากนี้การสลบปลาที่มีขนาดใหญ่อาจใช้วิธีการฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) หรือช่องท้อง (intraperitoneal injection)

คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

มงคล (2548) คุณสมบัติของน้ำที่จะนำมาใช้ในการเลี้ยงปลานับว่ามีความสำคัญมาก เพราะน้ำเป็นปัจจัยในการดำรงชีวิตของปลา หากปลาได้อาศัยอยู่ในน้ำที่มีคุณสมบัติดีมีความเหมาะสมก็จะทำให้ปลาดำรงชีวิตเป็นปกติ การเจริญเติบโตดี มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง ปราศจากโรคและปรสิต ดังนั้นการเลี้ยงปลาเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นควรคำนึงถึงการจัดการให้น้ำในบ่อมีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมกับการดำรงชีวิตของปลาเป็นสำคัญสำหรับคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาดุกมีดังนี้

1. อุณหภูมิ อุณหภูมิของน้ำจะมีผลต่อขบวนการต่างๆ ภายในร่างกายของปลาเป็นอย่างมาก เช่น การกินอาหาร การย่อยอาหาร การเคลื่อนไหว การหายใจ การสืบพันธุ์ และการเจริญเติบโต โดยปรกติปลาดุกจะกินอาหารดีเมื่อน้ำมีอุณหภูมิประมาณ 24 องศาเซลเซียสและอาจจะหยุดกิน หรือกินน้อยมากเมื่ออุณหภูมิลดลงเหลือ 15 องศาเซลเซียส และปลาดุกอาจจะตายได้เมื่อระดับอุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 12 องศาเซลเซียส

2. ความเป็นกรดเป็นด่าง บ่อปลาที่สร้างขึ้นในบริเวณที่เป็นดินเปรี้ยวมักจะทำให้น้ำในบ่อเป็นกรด ในบ่อเลี้ยงปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในรอบวันโดยแพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพื่อสังเคราะห์แสงในตอนกลางคืน ทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้น ส่วนในเวลากลางคืนจะมีเฉพาะการหายใจ พืชคายคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาจึงทำให้ค่า pH ลดลง น้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลง pH เกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน และน้ำที่มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ก่อนพระอาทิตย์ขึ้นเป็นน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงปลามากที่สุด ส่วนในช่วง pH 4-6 และ pH 9-11 ปลาจะเจริญเติบโตช้าและอ่อนแอ เพราะในน้ำที่เป็นด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโตลดลง อ่อนแอ มีความต้านทานโรคต่ำ และเป็นโรคง่าย

3. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีความสำคัญมากที่สุดในการเลี้ยงปลา เนื่องจากปลาต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจ โดยแหล่งของออกซิเจนในน้ำที่สำคัญได้มาจาก 2 ทางคือ จากบรรยากาศที่อยู่ผิวน้ำ และจากการสังเคราะห์แสงของพืช ซึ่งเป็นแหล่งผลิตออกซิเจนที่ละลายในน้ำให้แก่ปลาได้เป็นอย่างดี และเป็นการลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย ถ้าหากมีปริมาณที่พอเหมาะ สำหรับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำไม่ควรต่ำกว่า 3 ppm. (วัดในตอนเช้ามืด) แต่ถ้าเหมาะสมควรจะมากกว่า 5 ppm. จะทำให้ปลาเจริญเติบโตดี หากปริมาณออกซิเจนในน้ำมีน้อยเกินไป ปลาก็จะลอยหัวขึ้นมาใช้ออกซิเจนจากผิวน้ำและอากาศ ซึ่งจะส่งผลทำให้ปลาเกิดอาการเครียดและการเจริญเติบโตลดลง

4. ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำ ตามธรรมชาติแล้วคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำได้มาจากบรรยากาศ การหายใจของพืชและสัตว์และการเน่าสลายของสารอินทรีย์ ปริมาณคาร์บอนออกไซด์ที่ละลายในน้ำจะเป็นปฏิภาคกลับกันกับปริมาณออกซิเจน กล่าวคือ ในแหล่งน้ำใดที่มีคาร์บอนไดออกไซด์อยู่สูงปริมาณออกซิเจนซึ่งจำเป็นต่อการหายใจของปลาจะมีอยู่น้อย ปรกติปลาจะหลีกเลี่ยงไม่อยู่ในน้ำที่มี คาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในที่ระดับที่สูงกว่า 5 ppm.

5. ความขุ่นของน้ำ ความขุ่นของน้ำในที่นี้หมายถึง ความขุ่นของน้ำอันเกิดจากตะกอนของดินซึ่งจะไปขัดขวางไม่ให้แสงสว่างส่องลงไปถึงก้นบ่อความขุ่นของน้ำเป็นอันตรายต่อปลาถึงขนาดทำให้ปลาตายได้ โดยตะกอนจะไปเกาะที่บริเวณเหงือกของปลาทำให้ปลาหายใจไม่สะดวก เกิดการอ่อนเพลีย และปลาไม่กินอาหารหรือกินอาหารน้อยลง และความขุ่นของน้ำที่มากเกินไปยังทำให้แสงสว่างส่องลงไปได้ลึกไม่เกิน 30 เซนติเมตร มีผลทำให้พืชหรือแพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในน้ำไม่สามารถเจริญเติบโตได้ สำหรับความขุ่นที่เหมาะสมคือประมาณ 30 เซนติเมตร

6. ก๊าสแอมโมเนีย เป็นพิษต่อปลามาก เกิดจากเศษอาหารที่หลงเหลือถูกย่อยโดยแบคทีเรียและมูลต่างๆ ที่ปลาขับออกมา ซึ่งแอมโมเนียจะมีผลต่อระบบการหายใจโดยที่จะไปเกาะที่เหงือกปลา และกีดกันการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน ถ้าความเข้มข้นของก๊าสแอมโมเนียในน้ำเกิน 2 ppm. จะทำให้ปลาเบื่ออาหาร และเคลื่อนไหวช้าลง แต่ถ้าหากมีมากเกิน 5 ppm. อาจทำให้ปลาตายได้

การประเมินผลทางเศรษฐกิจของปลาดุก

สำหรับการประเมินผลทางเศรษฐกิจของปลาดุกจากการรายงานของ ทิพย์สุดา และคณะ(2549) ทำการทดลองเกี่ยวกับ การเลี้ยงปลาดุกอุยเทศในบ่อพลาสติกที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 30, 60, และ 120 ตัว/ตารางเมตร ในการวิเคราะห์ทางเศรษฐกิจพบว่าต้นทุนการผลิตแต่ละชุดการทดลองเท่ากับ 1,307.82, 1,564.61 และ 2,090.82 บาท/บ่อ และมีจุดคุ้มทุนของราคาขายเท่ากับ 57.43, 43.63 และ 38.04 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ ผลตอบแทนการลงทุนเท่ากับ -21.65, 3.14 และ 18.29 % จากผลการทดลองครั้งนี้เมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนการลงทุนสรุปได้ว่า ปลาดุกอุยเทศที่เลี้ยงระดับความหนาแน่น 120 ตัว/ตารางเมตร มีความเหมาะสมมากที่สุดที่เลี้ยงในบ่อพลาสติก

อรุณ (2551) เลี้ยงปลาดุกในบ่อดินระยะเวลา 120 วัน โดยให้เหยื่อสด ได้แก่ เศษเนื้อ กระดูก ลำไส้ เลือด นำมาบดผสมกับ รำละเอียด และเศษขนมปัง ซึ่งต้นทุนการผลิตเหยื่อสดกิโลกรัมละ 6 บาท เหยื่อสด 3 กิโลกรัมสามารถแลกเป็นเนื้อปลาได้ 1 กิโลกรัม ต้นทุนการผลิตปลาดุก 1 กิโลกรัมเท่ากับ 18 บาท

อรุณ (2551) เลี้ยงปลาดุกในบ่อดินโดยใช้อาหารสำเร็จรูปซึ่งราคาอาหารสำเร็จรูปกิโลกรัมละ 20 บาทโดยอาหารสำเร็จรูป 1.5 กิโลกรัม สามารถแลกเปลี่ยนเป็นเนื้อได้ 1 กิโลกรัม คิดเป็นเงิน 30 บาท เมื่อเลี้ยงได้ 3-4 เดือน ปลาจะมีขนาด 200 - 400 กรัม/ตัว ซึ่งผลผลิตประมาณ 10 – 14 ตัน อัตรารอดประมาณ 40 – 70 เปอร์เซ็นต์

สง่า และคณะ (มปป.) ทดลองเลี้ยงปลาดุกอุยเทศในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกัน 3 ระดับ คือ 200, 400 และ 600 ตัว/ลูกบาศก์เมตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ผลผลิตรวมของปลาดุกที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 600 ตัว/ลูกบาศก์เมตรจะให้ผลผลิต สูงสุด

ประยงค์ (2550) เลี้ยงปลาดุกในร่องปูนระยะเวลาในการเลี้ยง 105 วัน พบว่าต้นทุนการผลิตที่ใช้ 350 บาท/รุ่น หรือ 18-20 บาท ต่อการผลิตปลา 1 กิโลกรัม ซึ่งราคาของตลาดขายกิโลกรัมละ 35 – 40 บาท

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการศึกษา

อุปกรณ์

1. ปลาดุกรัสเซีย
2. กระชังทำด้วยเนื้ออวน PE (Polyethylene) ขนาด 1x2x1 เมตร (กว้างx ยาว x ลึก)
3. อาหารเม็ดที่ผลิตขึ้นเอง โปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์
4. สาหร่ายไก (*Cladophora* sp.)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และเครื่องชั่งขนาด 1 กิโลกรัม
6. ไม้บรรทัด
7. ยาสลบ (MS-222, Sigma, USA)
8. กล้องจุลทรรศน์ (Nikon ECLIPSE 100, Japan)
9. เครื่อง Spectrophotometer
10. เครื่องมือและอุปกรณ์เก็บข้อมูล
11. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ
12. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ
13. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด
14. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์คาโรตินอยด์
15. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์

วิธีการศึกษา

1. การวางแผนการทดลองเลี้ยงปลาดุก

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย ซึ่งเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่นิยมเลี้ยงกันมากโดยการศึกษามีการวางแผนโดยการใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design: CRD) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และการเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; % GSI) การประเมินภูมิคุ้มกัน คุณภาพน้ำ ปริมาณของคาโรตินอยด์ และการประเมินผลทางเศรษฐกิจ ในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย โดยแบ่งออกเป็น 4 หน่วยการทดลอง ตาม

ปริมาณสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหารระดับต่างกัน แต่ละหน่วยการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ซ้ำ (Replication) และแต่ละหน่วยการทดลองปรับโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้

หน่วยทดลองที่ 1 ใช้อาหารปลาดุกอัดเม็ดโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์

หน่วยทดลองที่ 2 ใช้อาหารปลาดุกอัดเม็ด + สาหร่ายสีเขียว (ไก) 1 ปอร์เซ็นต์

หน่วยทดลองที่ 3 ใช้อาหารปลาดุกอัดเม็ด + สาหร่ายสีเขียว (ไก) 3 เปอร์เซ็นต์

หน่วยทดลองที่ 4 ใช้อาหารปลาดุกอัดเม็ด + สาหร่ายสีเขียว (ไก) 5 เปอร์เซ็นต์

ระยะเวลาการทดลอง 180 วัน

T1 T2 T3 T4

ภาพ 10 อาหารปลาทดลอง

2. การเตรียมกระชังและปลาดุกที่ใช้ในการทดลอง

2.1 การเตรียมกระชัง

กางกระชังทดลองจำนวน 12 กระชัง ตามแผนการทดลองในข้อที่ 1 ในบ่อดิน เป็นกระชังสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 2 เมตร และลึก 1 เมตร ใช้ไม้ไผ่พยุงกระชังให้ก้นกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่อ 0.5 เมตร โดยรักษาระดับกระชังให้จมลงน้ำประมาณ 0.7 เมตร จนตลอดการทดลอง

ภาพ 11 กระชังเลี้ยงปลาทดลอง

2.2 การเตรียมปลาทดลองเลี้ยง

หลังจากเตรียมกระชังเสร็จแล้วทำการจัดหาลูกพันธุ์ปลามาลงเลี้ยง ลูกปลาที่จะทำการทดลองมีอายุ 1 เดือน ขนาดความยาว 9.625 ± 1.30 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 8.005 ± 0.001 กรัม จากฟาร์มเพาะเลี้ยงของเอกชนในจังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้อัตราการปล่อย 50 ตัว/ตารางเมตร

ภาพ 12 ปลาเริ่มทำการทดลอง

3. การจัดการด้านอาหาร

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารเม็ดที่ผลิตขึ้นเอง โปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ในระหว่างการเลี้ยงให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 08.30 น. และ 16.30 น. อัตราส่วนการให้อาหาร 3-5เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักตัวต่อวัน โดยมีการปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 2 สัปดาห์ ตลอดทุกการทดลอง ทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบในอาหารทดลอง

โดยนำอาหารทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1970) ดังตาราง 2 ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ในตาราง 3

ตาราง 2 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหาร

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
โปรตีน	micro-Kjeldahl
ไขมัน	dichloromethane extraction ตาม Soxlhet method
เยื่อใย	fritted glass crucible
เถ้า	การเผาใน muffle furnace 550 ^{0}C 2 ชั่วโมง
ความชื้น	การอบแห้งในตู้อบ 105 ^{0}C 2-4 ชั่วโมงตามวิธีของ AOAC (1970)

ตาราง 3 Proximate composition (% Mean ± Std.Deviation) ของสูตรอาหารที่ใช้ทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ระดับปริมาณสาหร่ายไก (%)	% as dry weight				
	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	ความชื้น	เถ้า
0	30.46 ± 0.02^{b}	5.51 ± 0.11^{a}	39.86 ± 0.84^{a}	$6.29 \pm 0.41a^{b}$	17.47 ± 0.47^{a}
1	30.04 ± 0.06^{c}	5.39 ± 0.12^{a}	39.50 ± 0.95^{a}	6.53 ± 0.35^{a}	18.53 ± 0.99^{a}
3	30.67 ± 0.02^{a}	5.67 ± 0.40^{a}	38.80 ± 0.47^{a}	6.11 ± 0.08^{ab}	18.73 ± 0.53^{a}
5	30.54 ± 0.04^{b}	5.84 ± 0.18^{a}	38.72 ± 0.47^{a}	5.96 ± 0.04^{b}	18.95 ± 0.56^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($P<0.05$)

5. การเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 ศึกษาการใช้สาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย เพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโต อัตรารอดและสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) ของปลาดุกรัสเซีย

5.1.1 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

= น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง

5.1.2 ความยาวที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

= ความยาวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – ความยาวเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง

5.1.3 อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG) กรัม / วัน

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาในการเริ่มต้นการทดลอง}}$$

5.1.4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; %SGR) เปอร์เซ็นต์ / วัน

$$SGR = \frac{(\ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}}$$

5.1.5 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion rate; FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

5.1.6 อัตราการรอด (Survival rate) เปอร์เซ็นต์

$$= \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มทำการทดลอง}}$$

5.1.7 ประสิทธิภาพการใช้โปตีน (Protein Efficiency Ratio; PER)

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

5.1.8 การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ (Maturity coefficient หรือGonad somatic index; GSI)

$$GSI = \frac{\text{น้ำหนักของรังไข่ หรืออัณฑะ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวปลา}}$$

5.2 ศึกษาปริมาณ Total carotenoids ในเนื้อปลาดุกรัสเซีย

Foss *et al* (1984) นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์คาโรตินอยด์ สับ หรือบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งตัวอย่างมา 5 กรัม แล้วผสมกับ Acetone 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที โดยกวนเป็นครั้งคราว จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง (GF/C) ซึ่งสารละลายที่ได้นำมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองผสมน้ำกลั่น และ ethyl acetate 1 และ 2 มิลลิลิตร ตามลำดับ สารละลายที่ได้นำมาวัดค่าการดูดซับแสง (absorbance) โดยใช้ Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 472 นาโนเมตร จากนั้นนำไปคำนวณความเข้มข้นของคาโรตินอยด์

5.3 ศึกษาการประเมินภูมิคุ้มกันโรค

การเก็บและศึกษาองค์ประกอบเลือด (Fish Hematological Techniques) สุ่มตัวอย่างปลา 10 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละชุดการทดลองมาทดสอบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรค โดยนำปลามาทำให้สลบด้วยยา Trichinae methanesulfonate (TMS หรือ MS-222, Sigma, USA) เข้มข้นประมาณ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการชั่งน้ำหนักวัดขนาดและเจาะเลือดที่ caudal vain ซึ่งอยู่บริเวณโคนหางของปลา โดยใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร เข็มเบอร์ 26G เก็บเลือดประมาณ 0.5 มิลลิลิตร และทำการศึกษาองค์ประกอบเลือดต่างๆ ดังนี้

5.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในน้ำเลือด (Serum lysozyme)

Chen *et al* (1998) โดยเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodkiticus* (Sigma) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ในสารละลาย 1 โมลาร์ PBS, pH 6.7) จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตามจำนวนตัวอย่างๆ ละ 2 ซ้ำพร้อมด้วย control แล้วเติมซีรัมตัวอย่างละ 25 ไมโครลิตร (ยกเว้น control ให้ใส่น้ำกลั่นแทน) ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรัม ในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียที่ลดลงทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

5.3.2 การวิเคราะห์ค่าฮีมาโตคริต (Haematocrit)

นภดล (2549) การวัดปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed red blood cell volume) หรือฮีมาโตคริตในปลาโดยทั่วไปจะใช้วิธี microhaematocrit method ซึ่งจะเป็นการบรรจุเลือดปลา เข้าไปในหลอด capillary ขนาดเล็กที่มีการเคลือบสารป้องกันการแข็งตัว ของเลือด (heparinised) ไว้ที่ผิวด้านในปริมาณ 2/3 ของความยาวหลอด แล้วปิดปลายด้านด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน นำหลอดไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที คำนวณเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตโดยวัดสัดส่วนของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่อปริมาตรของเลือดทั้งหมด

$$\text{Percent haematocrit} = (\text{Packed cell volume}/\text{Total blood volume}) \times 100$$

5.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total erythrocyte/leukocyte cont)

นภดล (2549) การนับปริมาณเม็ดเลือดแดงโดยการเจือจางเลือดปลาในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 5 เปอร์เซ็นต์ EDTA ในอัตราส่วน 1 : 250 (ใช้เลือดปลาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ EDTA ปริมาตร 4,980 ไมโครลิตร) และการนับเม็ดเลือดขาวจะเจือจางเลือดปลาในสารละลายของสีย้อม Dacie' fluid ในอัตราส่วน 1:100 (ใช้เลือดปลาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1980 ไมโครลิตร) แล้วนับจำนวนโดยใช้ไสลด์นับเม็ดเลือด (Neubauer cell

counting chamber หรือ Haemacytometer) ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด จะได้จากการนับปริมาณเม็ดเลือดแดงที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้งสี่มุมรวมกับช่องตรงกลาง (R) ของช่องสี่เหลี่ยมใหญ่กลางสไลด์นับเม็ดเลือด ส่วนปริมาณการนับเม็ดเลือดขาว จะนับปริมาณของเม็ดเลือดขาวที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมใหญ่(W) ทั้งสี่มุม แล้วคำนวณเทียบกับปริมาตรของเลือดทั้งหมดในสไลด์นับเม็ดเลือด และสัดส่วนการเจือจาง (dilution factor)

ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (เซลล์/ลบ.มม.) = ค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดแดง 5 ช่อง x 1/4 x 1/100 x 10^6

ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (เซลล์/ลบ.มม.) = ค่าเฉลี่ยเม็ดเลือดขาวช่อง A B C D x 1/100 x 10^4

5.3.4 การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของเม็ดเลือดขาว (Morphology of white blood cells)

นภดล (2549) การศึกษารูปร่างลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลา และจำแนกความแตกต่างระหว่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ จะใช้เทคนิคการย้อมสี โดยอาศัยหลักการติดสีย้อมที่แตกต่างกันระหว่างนิวเคลียส และไซโตพลาสของเซลล์เม็ดเลือดเพื่อสามารถมองเห็นรูปร่างของเซลล์ และนิวเคลียสได้อย่างชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เทคนิคการย้อมสีเม็ดเลือดมีวิธีการดังนี้

นำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์ และเกลี่ยเลือดให้เป็นฟิล์มบางๆ (Blood smear) แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นหยดสีย้อมเม็ดเลือด Wright's stain ลงบนสไลด์พอท่วมทิ้งไว้จน Wright's stain เปลี่ยนสีและเริ่มจะแห้งใช้เวลาประมาณ 3-5 นาที (เป็นการ fix blood film) และหยด Phosphate buffer (pH 6.8) ลงบนสไลด์จนท่วมทิ้งไว้ประมาณ 2-3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นทิ้งไว้ให้แห้งและทำการศึกษารูปร่างลักษณะ และการติดสีย้อมของเซลล์เม็ดเลือดเพื่อจำแนกของเซลล์เม็ดเลือดขาว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยเลือกบริเวณของ bloods smear ที่บางที่สุดและหยด mineral oil เพื่อส่องดูด้วยเลนส์กำลังขยาย 100 เท่า

5.4 ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของน้ำระหว่างการทดลองเลี้ยงปลาทุกๆ 30 วัน เพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังตาราง 4

ตาราง 4 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์คุณภาพของน้ำ

ดัชนีชี้วัดคุณภาพน้ำ	วิธีการ	อ้างอิง
อุณหภูมิของน้ำ,อากาศ	Thermometer	ศิริเพ็ญ, 2543
ความขุ่น	Turbidity meter	ยนต์, ม.ป.ป.
ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)	pH-meter (HI 9821)	ศิริเพ็ญ, 2543
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO)	DO-meter (YSI model 59)	ศิริเพ็ญ, 2543
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N)	Phenol method	ศิริเพ็ญ, 2543
ไนเตรต-ไนโตรเจน (NO_3-N)	Cadmium reduction method	ศิริเพ็ญ, 2543
ออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (PO_4-P)	Stannous chloride method	ศิริเพ็ญ, 2543

5.5 ศึกษาการประเมินผลทางเศรษฐกิจ ในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

โดยการศึกษาต้นทุนการผลิต ผลตอบแทนต่อการลงทุนของการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย โดยใช้การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ตามวิธีการของ De Silva *et al* (1986) ข้อมูลที่ทำการวิเคราะห์เฉพาะต้นทุนผันแปรมีการคำนวณดังนี้

ต้นทุนผันแปร = ค่าอาหารปลา + ค่าพันธุ์ปลา หรือสาหร่าย

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลอง วิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยการทดลองโดยวิธีของ Turkey's-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

สถานที่ทำการทดลอง

บ่อดินของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

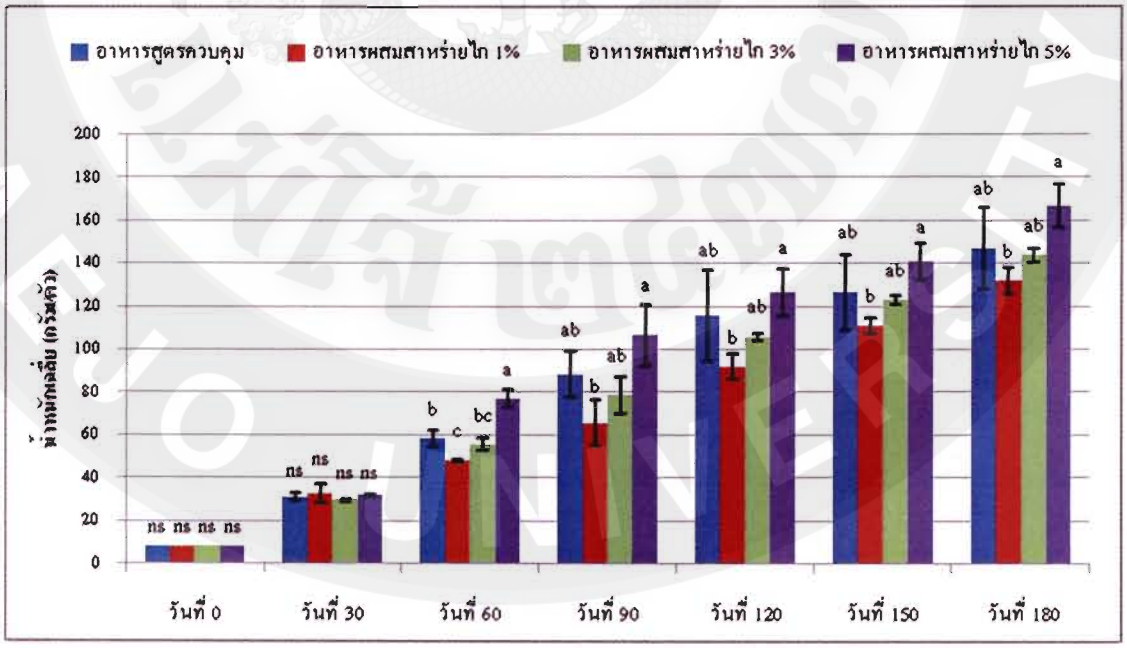
1 มกราคม 2552 ถึง 30 มิถุนายน 2552

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ศึกษาการใช้สาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด และสัมประสิทธิ์ การเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) ของปลาดุกรัสเซีย

น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)

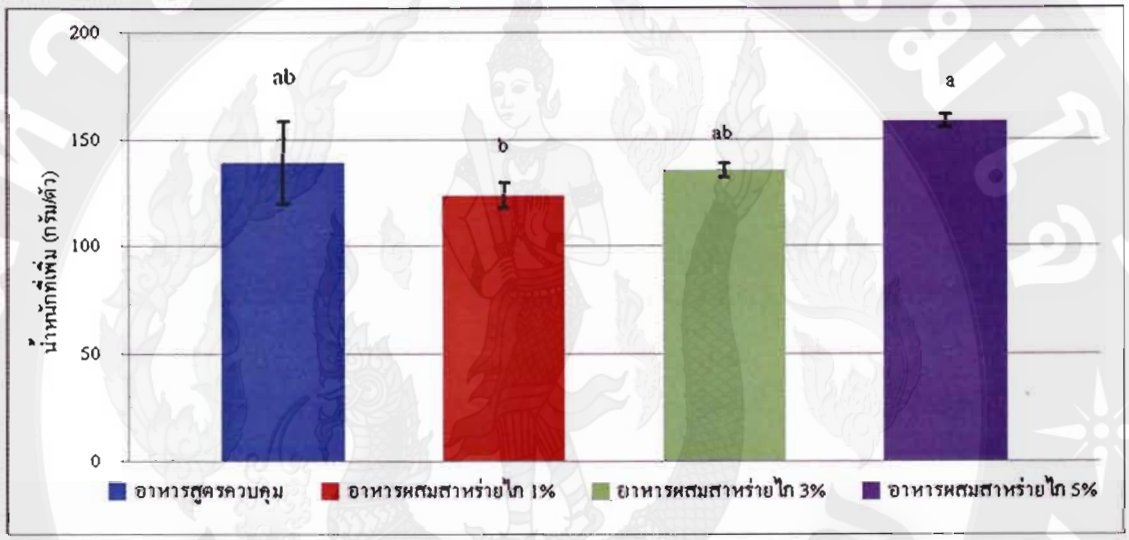
น้ำหนักเฉลี่ย ของปลาปลาดุกรัสเซียเพิ่มตามระยะเวลาที่เลี้ยง และมีความแตกต่างทางสถิติตั้งแต่ 90 วัน ($p<0.05$) ของการเลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่าย ไก 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ภาพ 13 และตาราง 5



ภาพ 13 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกรัสเซียในการทดลองโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (กรัม/ตัว)

น้ำหนักที่เพิ่ม (กรัม/ตัว)

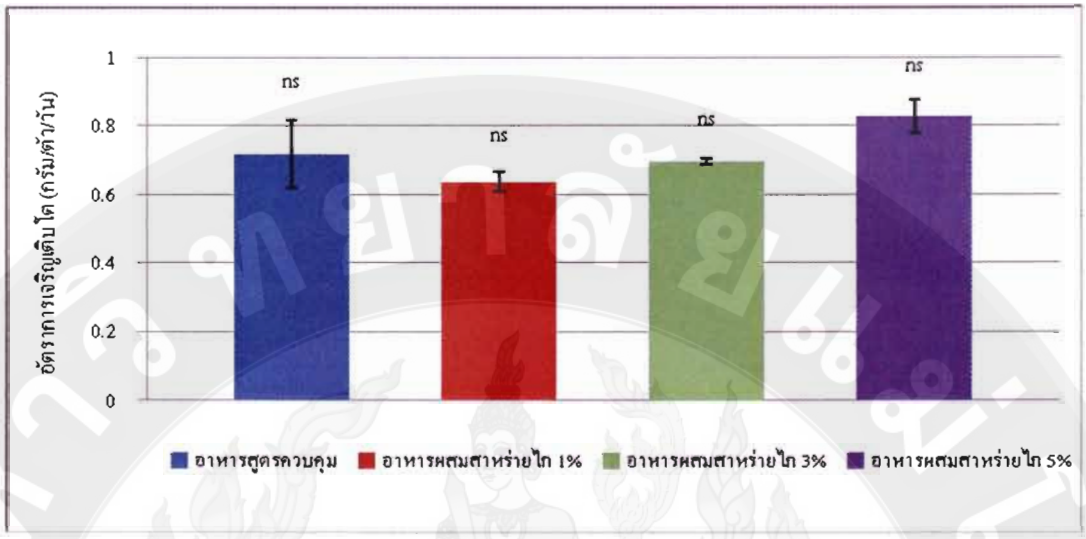
น้ำหนักที่เพิ่ม ของปลาปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่าย ไก 1เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ภาพ 14 และตาราง 6



ภาพ 14 น้ำหนักที่เพิ่มในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (กรัม/ตัว)

อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)

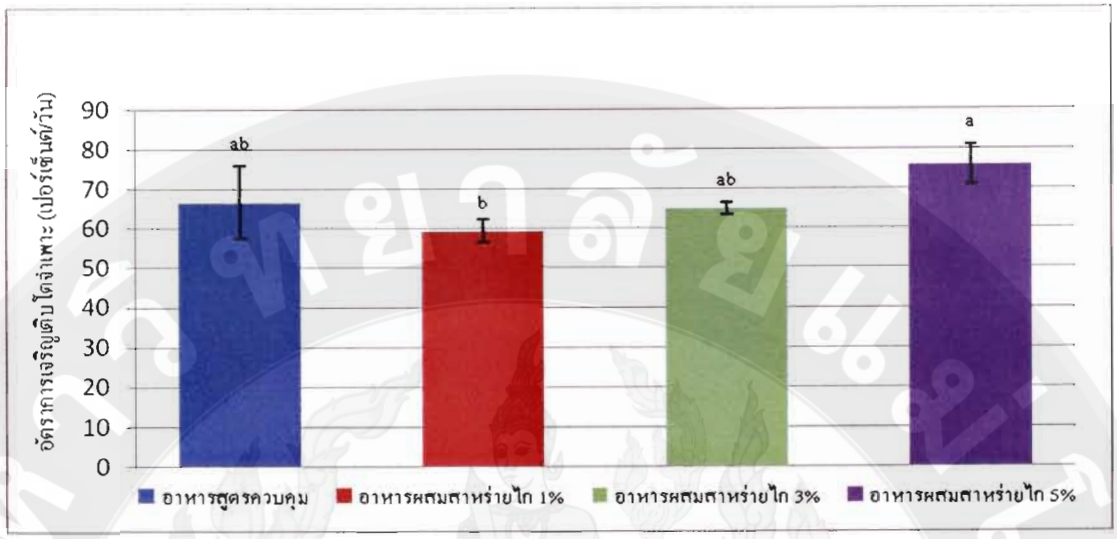
อัตราการเจริญเติบโต ของปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่าย ไก 1เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ภาพ 15 และตาราง 6



ภาพ 15 อัตราการเจริญเติบโตในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (กรัม /ตัว/ วัน)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)

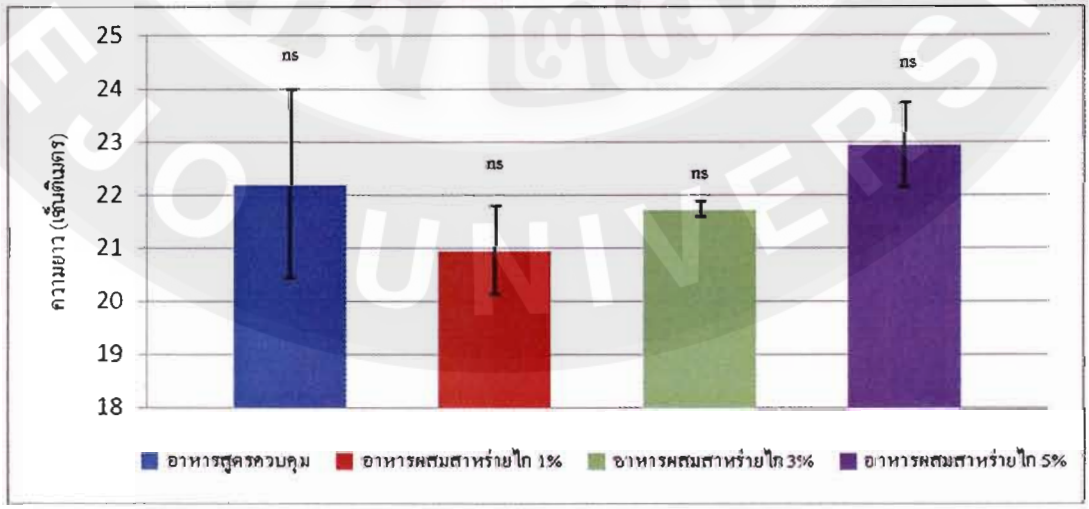
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจากอาหารผสมสาหร่าย ไก 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ภาพ 16 และตาราง 6



ภาพ 16 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์/วัน)

ความยาว (เซนติเมตร)

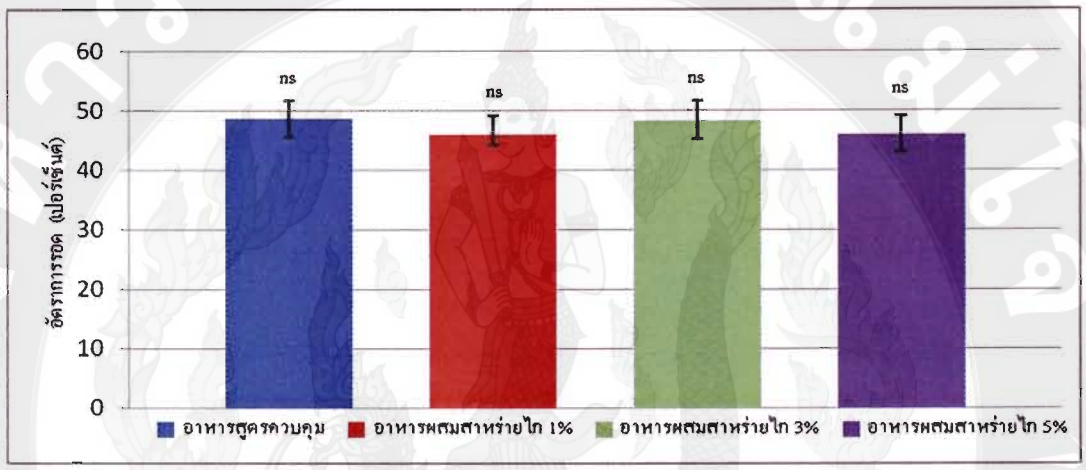
ความยาวตลอดการทดลองของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มของความยาวมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพ 17 และตาราง 6



ภาพ 17 ความยาวในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เซนติเมตร)

อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)

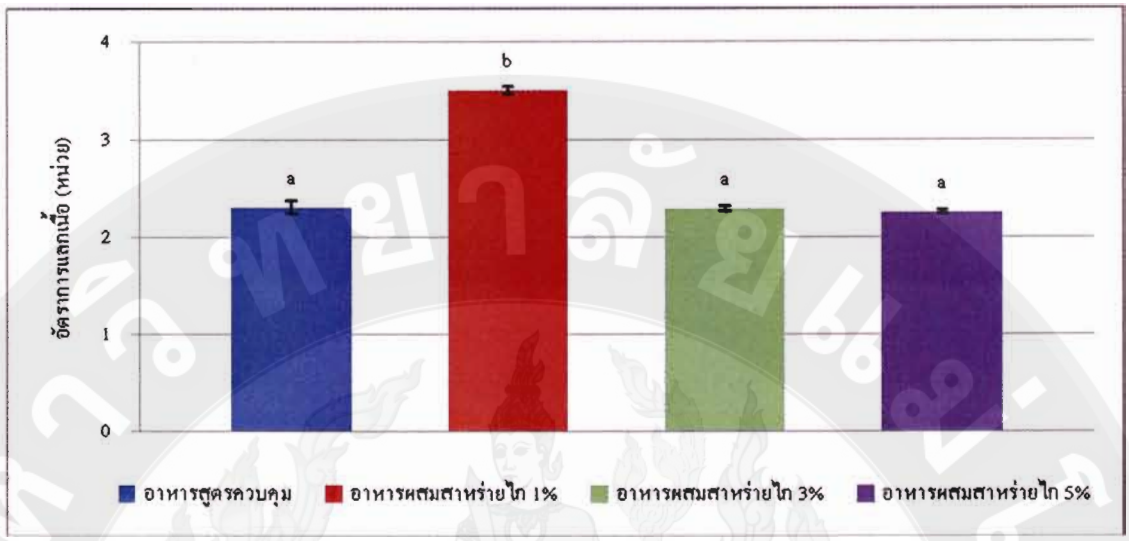
อัตราการรอด ตลอดการทดลองของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้ม มากกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพ 18 และตาราง 6



ภาพ 18 อัตราการรอดในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)

อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (หน่วย)

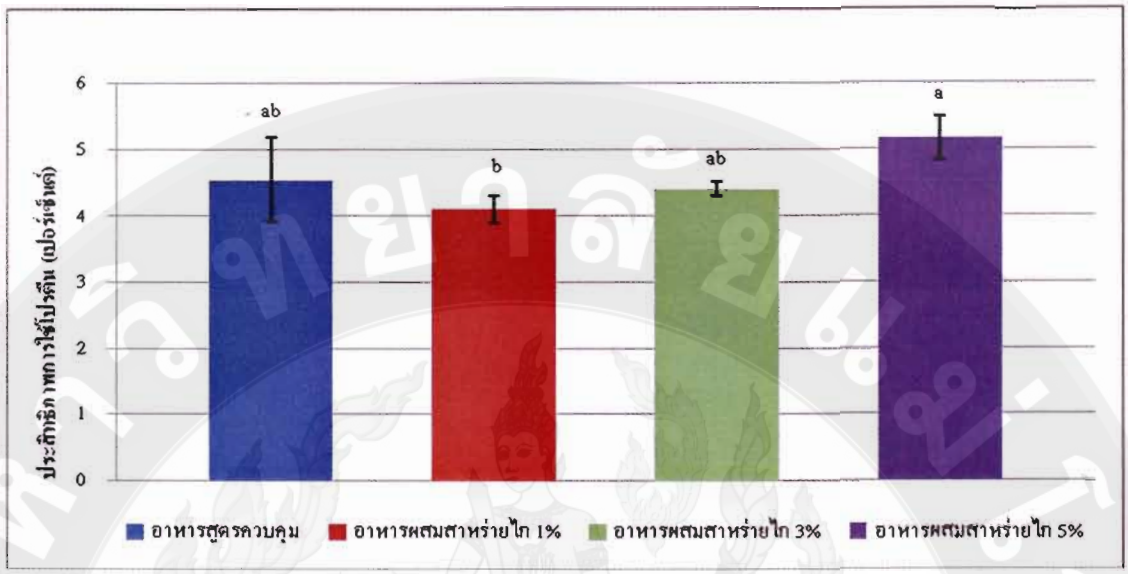
อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดเท่ากับ 2.26 ± 0.02 รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 2.30±0.03, 2.31±0.07 และ 3.51±0.04 ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) แต่แตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพ 19 และตาราง 6



ภาพ 19 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (หน่วย)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)

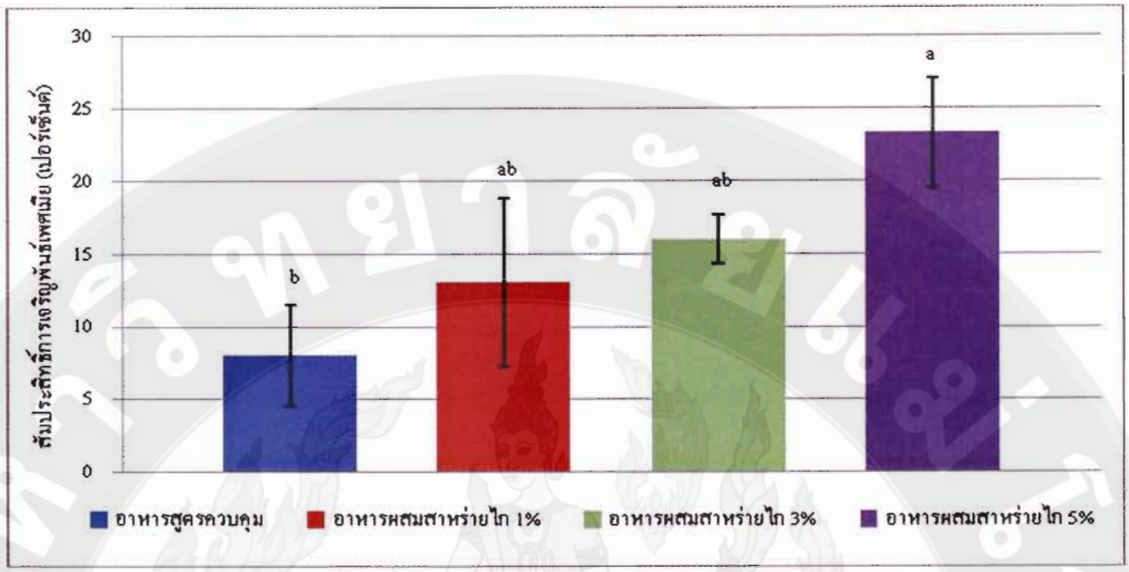
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก ทั้ง 4 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าประสิทธิภาพของการใช้โปรตีนสูงสุด คือ 5.17 ± 0.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเท่ากับ 4.55 ± 0.63, 4.41 ± 0.10 และ 4.11 ± 0.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภาพ 20 และตาราง 6



ภาพ 20 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)

สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศเมีย (เปอร์เซ็นต์)

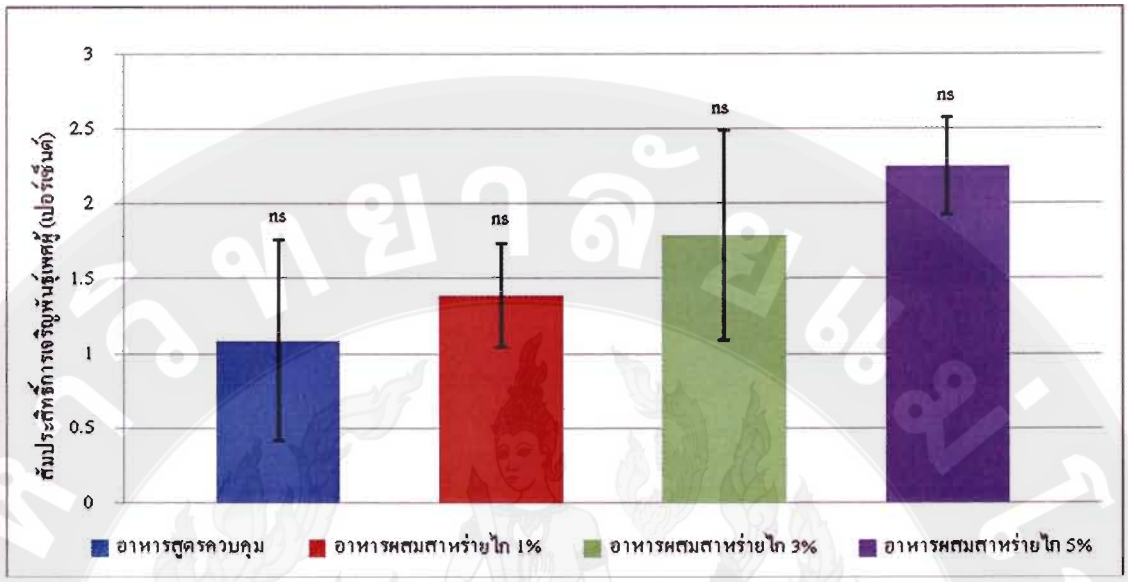
สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ (GSI) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์สูงที่สุดเท่ากับ 23.27±3.78 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เท่ากับ 16.00±1.60, 13.03±5.79 และ 7.99±3.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ แต่มีแตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพ 21 และตาราง 6



ภาพ 21 สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศเมียในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)

สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศผู้ (เปอร์เซ็นต์)

สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ในเพศผู้ (GSI) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ เท่ากับ 2.25 ± 0.32 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เท่ากับ 1.79 ± 0.70, 1.39 ± 0.34 และ 1.09 ± 0.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ภาพ 22 และตาราง 6



ภาพ 22 สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศผู้ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)

ตาราง 5 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน (กรัม/ตัว)

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
0 วัน	8.00 ±0.00^{ns}	8.01±0.00^{ns}	8.01±0.00^{ns}	8.01±0.00^{ns}
30 วัน	30.57±1.84^{ns}	32.49±4.53^{ns}	29.13±0.72^{ns}	31.60±0.60^{ns}
60 วัน	58.16±3.78^{b}	47.66±0.57^{c}	55.16±2.84^{bc}	76.83±4.25^{a}
90 วัน	88.16±10.56^{ab}	65.50±10.58^{b}	78.33±8.83^{ab}	106.33±17.37^{a}
120 วัน	115.50±21.21^{ab}	91.66±5.96^{b}	105.66±1.75^{ab}	126.23±11.06^{a}
150 วัน	126.16±17.50^{ab}	110.50±3.77^{b}	122.60±2.02^{ab}	140.50±8.71^{b}
180 วัน	146.83±19.36^{ab}	131.66±6.11^{b}	143.60±3.21^{ab}	166.33±10.11^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน

ตาราง 6 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพผลผลิตของปลา

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
น้ำหนักที่เพิ่ม (กรัม/ตัว)	138.82±19.36^{ab}	123.65±6.11^{b}	135.59±3.21^{ab}	158.32±3.20^{a}
ความยาวที่เพิ่ม (ซม./ตัว)	14.46±1.84^{ns}	13.75±0.77^{ns}	14.06±0.25^{ns}	15.26±0.72^{ns}
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัม/วัน)	0.72±0.10^{ab}	0.64±0.03^{b}	0.70±0.01^{ab}	0.83±0.05^{a}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	66.73±9.31^{ab}	59.44±2.93^{b}	66.18±1.54^{ab}	76.11±4.86^{a}
อัตราการแลกเนื้อ (หน่วย)	2.31±0.07^{a}	3.51±0.04^{b}	2.30±0.03^{a}	2.26±0.02^{a}
อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	48.66±3.05^{ns}	46.00±1.73^{ns}	48.33±3.21^{ns}	46.00±3.00^{ns}
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	4.55±0.63^{ab}	4.11±0.20^{b}	4.41±0.10^{ab}	5.17±0.33^{a}
สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ตัวเมีย (เปอร์เซ็นต์)	7.99±3.56^{b}	13.03±5.79^{ab}	16.00±1.60^{ab}	23.27±3.78^{a}
สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ตัวผู้ (เปอร์เซ็นต์)	1.09 ± 0.67^{ns}	1.39 ± 0.34^{ns}	1.79 ± 0.70^{ns}	2.25 ± 0.32^{ns}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน

คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซีย

คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มของ โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต มากกว่าหน่วยการทดลองอื่นๆ เมื่อนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 7

ตาราง 7 คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียต่อน้ำหนัก 100 กรัม

ระดับปริมาณสาหร่ายไก (%)	คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียต่อน้ำหนัก 100 กรัม				
	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	ความชื้น	เถ้า
0	21.26 ± 0.87^{ns}	2.03 ± 0.25^{ns}	4.86 ± 0.35^{ns}	70.56 ± 1.00^{ns}	0.93 ± 0.25^{ns}
1	20.70 ± 0.75^{ns}	1.83 ± 0.30^{ns}	4.40 ± 0.81^{ns}	72.10 ± 1.90^{ns}	0.96 ± 0.20^{ns}
3	21.36 ± 0.92^{ns}	2.03 ± 0.11^{ns}	4.96 ± 0.15^{ns}	70.66 ± 0.73^{ns}	0.96 ± 0.20^{ns}
5	21.83 ± 0.37^{ns}	2.06 ± 0.15^{ns}	5.20 ± 0.40^{ns}	70.03 ± 0.30^{ns}	0.86 ± 0.15^{ns}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($P<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน

ศึกษาปริมาณ Total carotenoids ในเนื้อของปลาดุกรัสเซีย

ผลการศึกษาการเกิดสีในเนื้อปลาดุกรัสเซียเป็นระยะเวลา 180 วัน โดยการวัดระดับความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาสดทุก 90 วัน ได้แสดงในตาราง 8

ความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาระยะเวลา 90 วัน พบว่าปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์เฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 31.54 ± 2.62 ไมโครกรัม/กรัม รองลงมาได้แก่ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาเฉลี่ย เท่ากับ 20.23 ± 4.91, 14.63 ± 0.10 และ 7.65 ± 3.37 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาที่ทดลองในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กล่าวคือ อาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 8

ความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาระยะเวลา 180 วัน พบว่าปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ เท่ากับ 54.28 ± 0.05, 50.82 ± 0.54, 45.40 ± 7.87 และ 30.37 ± 6.58 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ ผลจากการ

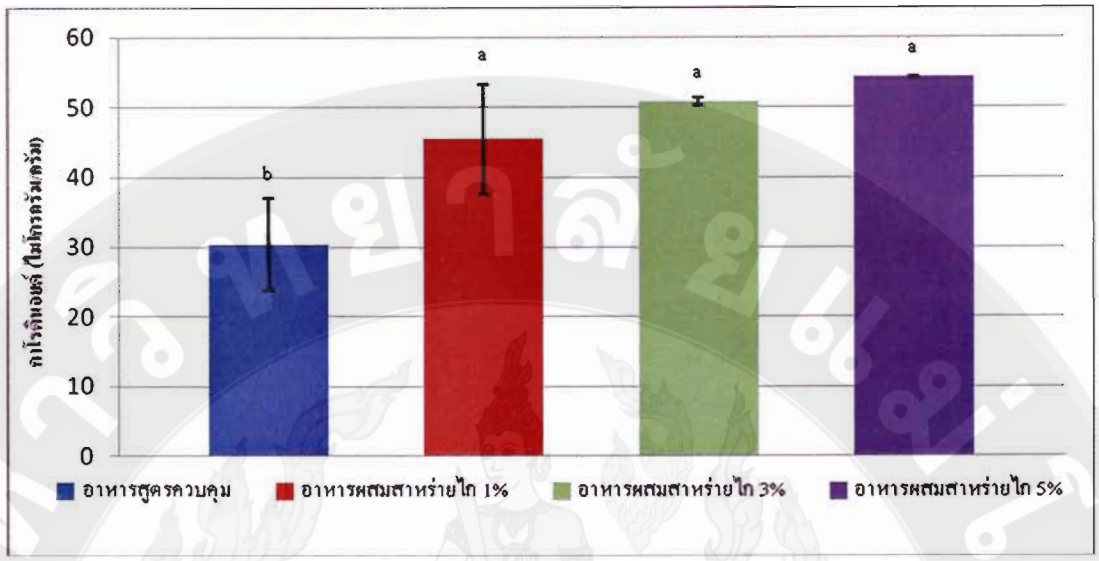
วิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาดุกรัสเซียในสูตรอาหารที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไก 5, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) แต่แตกต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 8 ภาพ 24

ตาราง 8 ความเข้มข้นคาโรตินอยด์ (ไมโครกรัม/เนื้อปลา 1 กรัม)

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
คาโรตินอยด์ 90 วัน (ไมโครกรัม/กรัม)	7.65 ± 3.37^{c}	14.63 ± 0.10^{bc}	20.23 ± 4.91^{b}	31.54 ± 2.62^{a}
คาโรตินอยด์ 180 วัน (ไมโครกรัม/กรัม)	30.37 ± 6.58^{b}	45.40 ± 7.87^{a}	50.82 ± 0.54^{a}	54.28 ± 0.05^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน

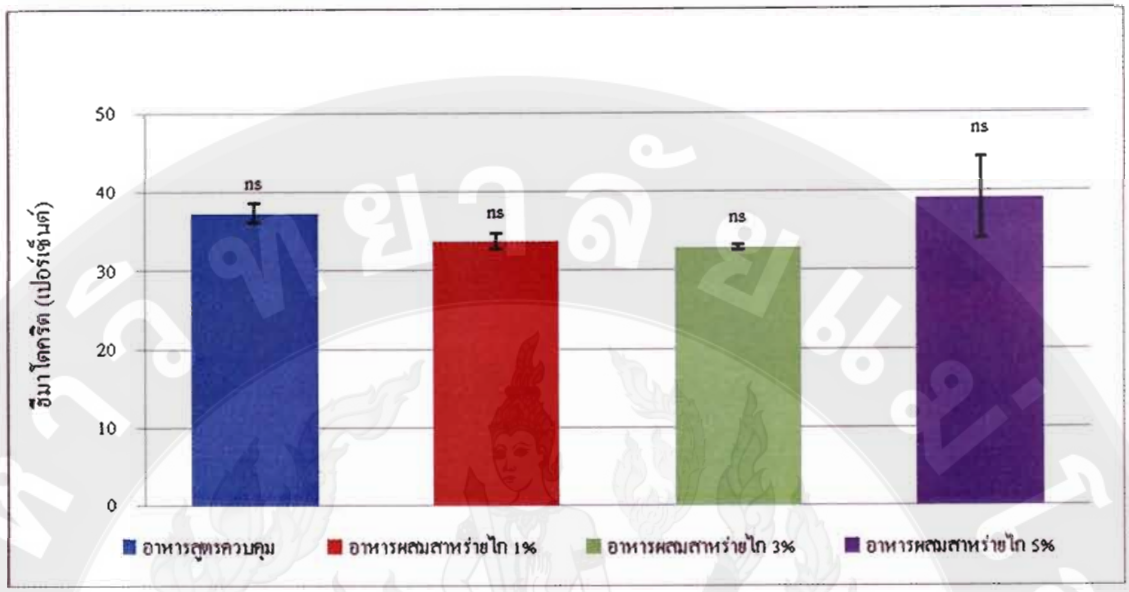
ภาพ 23 ลักษณะสีเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน



ภาพ 24 ปริมาณคาโรตินอยด์ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกัน ระยะเวลา 180 วัน (ไมโครกรัม/ กรัม)

ศึกษาการประเมินภูมิคุ้มกันโรค

ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าฮีมาโตคริตในเลือดปลาดุกรัสเซีย เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 84.00 ±1.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ย เท่ากับ 70.71 ± 1.22, 68.81 ± 2.81bc และ 66.00 ± 1.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ค่าฮีมาโตคริตในเลือดปลาดุกรัสเซีย ที่ทดลองในแต่ละสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กล่าวคือ อาหารที่ไม่มีส่วนผสมของสาหร่ายไกมีค่าฮีมาโตคริต แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ค่าฮีมาโตคริต ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 9 และภาพ 25



ภาพ 25 ฮีมาโตคริตในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)

เม็ดเลือดแดงรวม พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1, 0, 3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดแดง เท่ากับ 83.95 ± 1.10, 83.46 ±1.21 และ 81.67 ± 0.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมากกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างปลาดุกรัสเซียกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกันมีปริมาณ Monocytes, Basophile, Thombocyte และ Lysozyme ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3, 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม (8.59 ± 0.30, 8.45 ± 0.10, 7.43 ± 0.43 และ 7.26 ± 0.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และ Heterophill (0.39 ± 0.04, 0.39 ± 0.03, 0.24 ± 0.05 และ 0.24 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม และ Heterophill ในหน่วยการทดลองที่เสริมสาหร่ายไก 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกัน แต่แตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไก 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 9 และภาพ 26

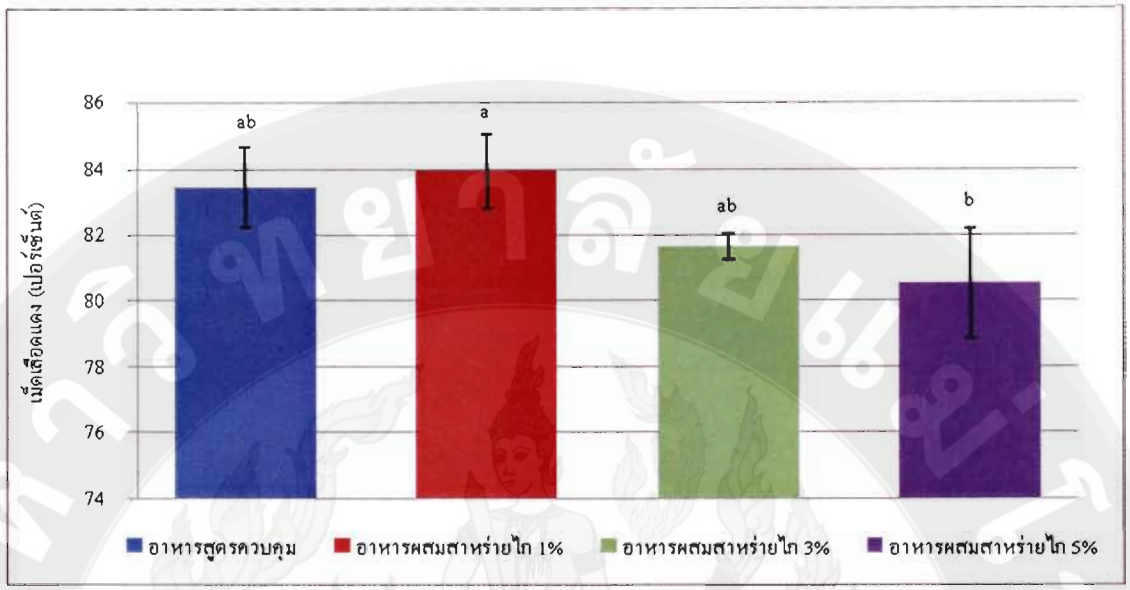
ส่วน Eosinophill เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มี ปริมาณ Eosinophill มากที่สุดเท่ากับ 0.19 ± 0.03 รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณ Eosinophill เท่ากับ 0.09 ±

0.01, 0.05 ± 0.03 และ 0.01 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) แต่แตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 9

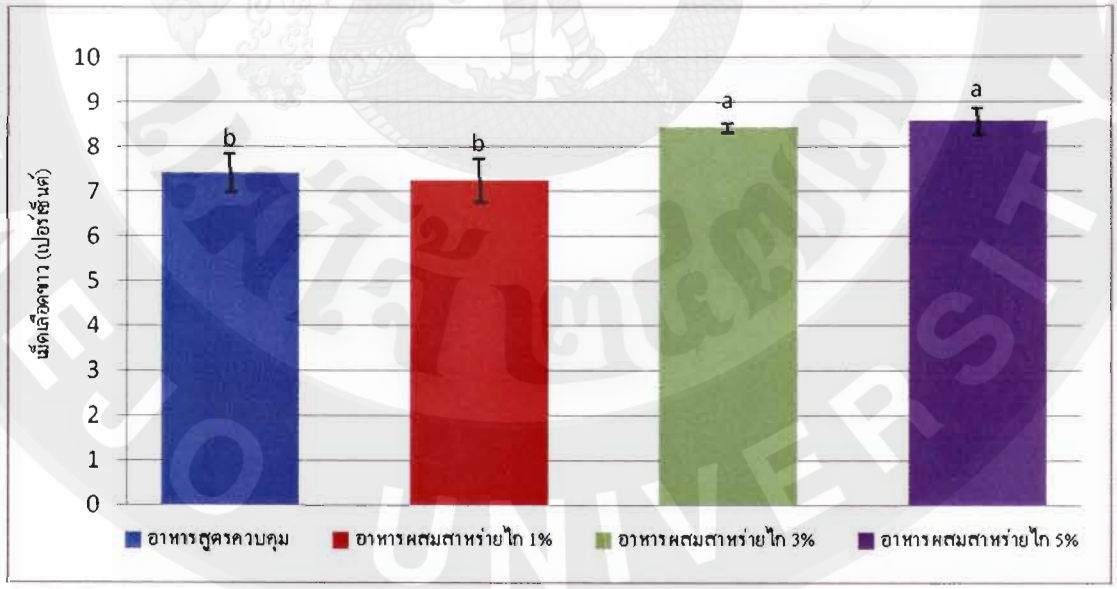
ตาราง 9 องค์ประกอบเลือด และค่าร้อยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาวในปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกในระดับที่ต่างกัน

Parameter	ระดับสาหร่ายไกที่ผสมในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
Haematocrit (%)	66.00 ± 1.00^{c}	68.81 ± 2.81^{bc}	70.71 ± 1.22^{b}	84.00 ± 1.00^{a}
เม็ดเลือดแดง (%)	83.46 ± 1.21^{ab}	83.95 ± 1.10^{a}	81.67 ± 0.38^{ab}	80.54 ± 1.68^{b}
เม็ดเลือดขาว (%)	7.43 ± 0.43^{b}	7.26 ± 0.48^{b}	8.45 ± 0.10^{a}	8.59 ± 0.30^{a}
Lymphocytes (%)	6.49 ± 0.31^{b}	6.37 ± 0.44^{b}	7.29 ± 0.04^{ab}	7.59 ± 0.48^{a}
Monocytes (%)	0.48 ± 0.21^{ns}	0.34 ± 0.07^{ns}	0.38 ± 0.08^{ns}	0.31 ± 0.07^{ns}
Heterophill (%)	0.24 ± 0.05^{b}	0.24 ± 0.06^{b}	0.39 ± 0.03^{a}	0.39 ± 0.04^{a}
Eosinophill (%)	0.01 ± 0.01^{c}	0.05 ± 0.03^{bc}	0.09 ± 0.01^{ab}	0.19 ± 0.03^{a}
Basophile (%)	0.18 ± 0.02^{ns}	0.20 ± 0.04^{ns}	0.26 ± 0.06^{ns}	0.33 ± 0.10^{ns}
Thombocyte (%)	1.66 ± 0.40^{ns}	1.52 ± 0.21^{ns}	1.40 ± 0.18^{ns}	1.70 ± 0.20^{ns}
Lysozyme (unit/min.)	0.005 ± 0.009^{ns}	0.010 ± 0.010^{ns}	0.026 ± 0.015^{ns}	0.030 ± 0.017^{ns}

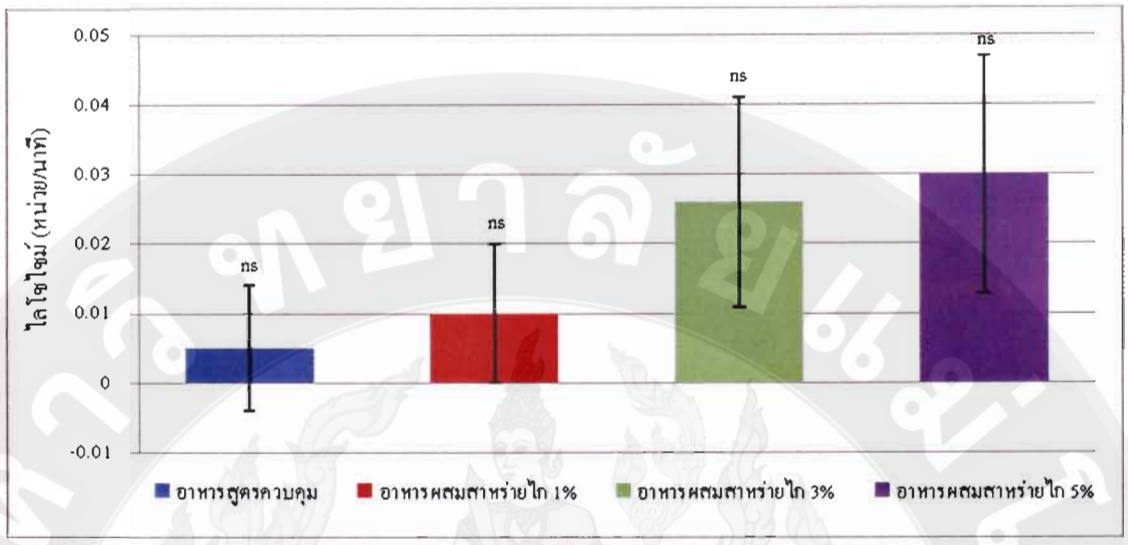
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน



ภาพ 26 เม็ดเลือดแดงในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)



ภาพ 27 เม็ดเลือดขาวในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (เปอร์เซ็นต์)



ภาพ 28 ไลโซไซม์ ในการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียโดยใช้สาหร่ายไกที่ระดับต่างกันระยะเวลา 180 วัน (หน่วย/นาที)

ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ตาราง 10

ตาราง 10 คุณภาพน้ำในกระชังเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกในระดับที่ต่างกัน

คุณภาพน้ำ	ระดับสาหร่ายไกที่ผสมในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
อุณหภูมิอากาศ (C^O)	25.50 ± 0.00^{ns}	25.50 ± 0.00^{ns}	25.50 ± 0.00^{ns}	25.50 ± 0.00^{ns}
อุณหภูมิน้ำ (C^O)	24.66 ± 0.07^{ns}	24.70 ± 0.14^{ns}	24.50 ± 0.12^{ns}	24.66 ± 0.19^{ns}
pH. (Unit.)	7.84 ± 0.14^{ns}	7.82 ± 0.05^{ns}	7.85 ± 0.11^{ns}	7.87 ± 0.09^{ns}
DO (mg/L)	4.98 ± 0.09^{ns}	4.99 ± 0.06^{ns}	5.03 ± 0.08^{ns}	5.03 ± 0.07^{ns}
NH_3-N (mg/L)	0.12 ± 0.14^{ns}	0.27 ± 0.008^{ns}	0.28 ± 0.009^{ns}	0.26 ± 0.06^{ns}
NO_3-N (mg/L)	0.018 ± 0.001^{ns}	0.019 ± 0.001^{ns}	0.086 ± 0.032^{ns}	0.053 ± 0.057^{ns}
ORP. (mg/L)	181.17 ± 5.90^{ns}	186.54 ± 2.13^{ns}	183.72 ± 3.34^{ns}	185.49 ± 4.30^{ns}
PO_4-P (mg/L)	0.158 ± 0.002^{ns}	0.162 ± 0.006^{ns}	0.165 ± 0.008^{ns}	0.161 ± 0.007^{ns}
TDS.(mg/L)	0.159 ± 0.004^{ns}	0.160 ± 0.003^{ns}	0.158 ± 0.001^{ns}	0.162 ± 0.001^{ns}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p<0.05$) และ ns ไม่แตกต่างกัน

ศึกษาการประเมินผลทางเศรษฐกิจในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ต้นทุนการผลิตของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก ทั้ง 4 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนการผลิตต่ำสุด คือ 40.38 ± 1.75 บาท/กิโลกรัม รองลงมาได้แก่ ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 40.43 ± 3.72, 42.65 ± 5.61 และ 53.31 ± 7.41 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติกับหน่วยการทดลองอื่นๆ ($P<0.05$)

เมื่อคิดเป็นผลผลิต (กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร) ของปลาดุกรัสเซีย พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลผลิตสูงสุด คือ 5.46±0.46 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร รองลงมาได้แก่ ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ผลผลิตเท่ากับ 5.05±0.44, 4.95±0.43 และ 4.31±0.13 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ ผลจากการ

วิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ผลผลิตของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ตาราง 11

ตาราง 11 การประเมินผลผลิตของปลา

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหาร (เปอร์เซ็นต์)			
	0	1	3	5
ต้นทุนการผลิต (บาท/กก.)	40.43 ± 3.72^{b}	42.65 ± 5.61^{b}	40.38 ± 1.75^{b}	53.31 ± 7.41^{a}
ผลผลิต (กก./ลบ.ม.)	5.05 ± 0.44^{ab}	4.31 ± 0.13^{b}	4.95 ± 0.43^{ab}	5.46 ± 0.46^{a}

บทที่ 5
อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการศึกษา

ศึกษาการใช้สาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโตอัตราการรอด และสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) ของปลาดุกรัสเซีย

การทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 0 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ดีกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 1 เปอร์เซ็นต์ ความยาวที่เพิ่มขึ้น อัตราการรอดตาย และสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เพศผู้ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้ม อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ความยาวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตสิ้นสุดเพิ่มมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ สังเกตได้ว่าการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเป็นระยะเวลา 180 วัน ในแต่ละหน่วยการทดลองปลาจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าการเลี้ยงทั่วไป อาจกล่าวได้ว่าในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียนั้นไม่ควรผสมโปรตีนที่ได้จากพืชมากเกินไป ซึ่งเป็นผลให้โปรตีนจากสัตว์ลดลง มีผลทำให้กลิ่นและรสของอาหารไม่ชวนกิน สังเกตจากปลามีอาการตอบสนองต่ออาหารน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Lovell (1934) กล่าวว่า กลิ่นและรสชาติของอาหาร เป็นปัจจัยที่กระตุ้นให้ปลากินอาหาร เมื่อกลิ่นและรสไม่ชวนกิน ปลาจะไม่ตอบสนองต่ออาหารที่ให้ จึงทำให้ปลาที่เลี้ยงมีอัตราการเจริญเติบโตน้อย และก็สอดคล้องกับการทดลองของ Viola (1985) ก็ให้ผลการทดลองในทำนองเดียวกัน

การที่ปริมาณของโปรตีนจากสัตว์ในอาหารลดลง ทำให้ปลาต้องหาโปรตีนจากที่อื่นมาทดแทนโปรตีนจากสัตว์ที่ขาดหายไป ดังนั้นปลาจึงนำโปรตีนจากพืชมาทดแทนโปรตีนจากสัตว์ แต่เนื่องจากปลาดุกรัสเซียมีทางเดินอาหารแตกต่างจากปลากินพืช (FAO, 1980) ฉะนั้นจึงไม่สามารถย่อยพืชมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีผลทำให้ปลาดุกรัสเซียมีอัตราการเจริญเติบโตช้า และนอกจากนี้การผสมอาหารส่วนที่เป็นพืชมากเกินไป นอกจากจะทำให้สัดส่วนของโปรตีนจากสัตว์และโปรตีนจากพืชเปลี่ยนไปแล้ว ยังทำให้เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบอื่นๆ ในอาหารเปลี่ยนแปลงไปด้วย องค์ประกอบเหล่านี้อาจมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลาด้วย

สัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์ของเพศเมีย (GSI) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์สูงที่สุดเท่ากับ 23.27±3.78รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์เท่ากับ 16.00±1.60, 13.03±5.79 และ 7.99±3.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการรายงานของ (ฐิติมา และคณะ, 2546) ที่ทดลองเกี่ยวกับการส่งเสริมความสมบูรณ์เพศของปลาแรดและปลาดุกอุยด้วยอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง กล่าวว่า ปลาดุกอุยที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายเกลียวทอง 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารจนปลากินอิ่มวันละ 2 มื้อ ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาดุกอุยเพศเมียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสัมประสิทธิ์การเจริญพันธุ์มากกว่าปลาดุกอุยเพศเมียที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายเกลียวทอง 1, 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์

คุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ไม่มีความแตกต่าง ซึ่งสอดคล้องกับ(www. nutrition.anamai.moph.go.th) รายงานว่าคุณค่าทางด้านโปรตีน ของปลาชนิดต่าง ๆ ให้โปรตีนในปริมาณที่สูงพอสมควร เนื้อปลา 100 กรัม จะประกอบด้วยโปรตีน ดังนี้ ปลาดุก 23.0 ปลาตะเพียน 22.0 ปลากระบอก 20.7 ปลาช่อน 20.5 ปลาทู 20.0 ปลาแป้น 19.6 ปลาเก๋า 18.08 ปลาทรายแดง 18.4 ปลาตาเดียว 18.1 ปลาไส้ตัน 18.0 ปลากราย 17.5 ปลาหมอไทย 17.2 ปลาสวาย 15.4 หมึกกล้วย 15.2 และปลาเนื้ออ่อน14.4

คุณค่าทางด้านไขมัน ไขมันที่ประกอบในเนื้อปลาทำให้รสชาติและสีของเนื้อปลาแตกต่างกันออกไป เนื้อปลา 100 กรัม ประกอบด้วยไขมันเป็นจำนวนกรัมดังนี้ ปลาสวาย 21.5 ปลาทู 6.7 ปลากระบอก 3.9 ปลาช่อน 3.8 ปลาตะเพียน 2.6 ปลาดุก 2.4 ปลาเนื้ออ่อน 2.3 ปลากราย 1.6 ปลาทรายแดง 1.0 ปลาแป้น 1.0 หมึกกล้วย 0.7 ปลาเก๋า 0.5 ปลาไส้ตัน 0.3 และปลาตาเดียว 0.1

ศึกษาปริมาณ Total carotenoids ในเนื้อปลาดุกรัสเซีย

ผลการศึกษาการเกิดสีในเนื้อปลาดุกรัสเซีย โดยการวัดระดับความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาสด พบว่า ความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลาเมื่อเลี้ยงครบ 180 วัน ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์สูงสุด

เท่ากับ 54.28 ± 0.05 ไมโครกรัม/กรัม รองลงมาได้แก่ปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 3, 1 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ เท่ากับ 50.82 ± 0.54, 45.40 ± 7.87 และ 30.37 ± 6.58 ไมโครกรัม/กรัม ตามลำดับ

ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ จงกล และคณะ (2549) ที่ทดลองใช้สไปรูลินาสดเลี้ยงปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่มีอัตราการผสมแตกต่างกันพบว่าปริมาณคาโรตินอยด์ (Total carotenoid) ในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามลำดับของสาหร่ายไปรูลินาสดที่ผสมในอาหาร และ (วุฒิพร และคณะ, 2550) ที่ทดลองเกี่ยวกับผลของคาโรตินอยด์จากสไปรูลินาต่อการสะสมคาโรตินอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่าการเสริมคาโรตินอยด์สังเคราะห์และสไปรูลินาไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอด จากการวิเคราะห์คาโรตินอยด์รวมในตัวปลา พบว่าการเสริมคาโรตินอยด์สังเคราะห์และคาโรตินอยด์จากสไปรูลินาทำให้การสะสมคาโรตินอยด์รวมในตัวปลาและค่าสีสูงขึ้นตามปริมาณคาโรตินอยด์ที่เสริม

Kalinoski *et al.* (2007) มีการเสริมเปลือกกุ้งป่นซึ่งเป็นแหล่ง esterified astaxanthin ในอาหารปลา red porgy โดยทดลองเลี้ยงในระยะเวลาที่แตกต่าง จากการทดลองพบว่า สีของปลา red porgy จะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงและอาหารที่ให้ และ (Menghe *et al.*, 2008) มีการทดลองการใช้คาร์โรตินอยด์ที่เสริมในอาหารต่อคุณภาพเนื้อของปลากดอเมริกันพบว่า อาหารที่เสริมคาร์โรตินอยด์มีสีเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม

จากผลการทดลอง อาจกล่าวได้ว่าปริมาณของสาหร่ายไกที่ผสมลงในอาหาร และระยะเวลาการเลี้ยงจะเป็นปัจจัยสำคัญในการเปลี่ยนสีของเนื้อปลาดุกรัสเซีย ทั้งนี้เพราะปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อตามระยะเวลาที่ใช้เลี้ยง โดยมีความเข้มข้นของสีเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายไก 0 เปอร์เซ็นต์ สีของเนื้อปลาเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่านั้น สาเหตุเช่นนี้อธิบายได้ว่า เกิดจากสาหร่ายไกมีคาโรตินอยด์เป็นองค์ประกอบของเซลล์ (กาจนภาชน์, 2527) คาโรตินอยด์นี้ที่ทำให้เกิดสีเหลือง ส้ม แดง ในผิวหนังและในเนื้อปลา (Goodwin, 1984) ปลาไม่สามารถสังเคราะห์คาโรตินอยด์เองได้ ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น (Choubert, 1979; Bauernfeind, 1981)

ศึกษาการประเมินภูมิคุ้มกันโรค

ค่าฮีมาโตคริตในเลือดปลาดุกรัสเซีย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลจากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ค่าฮีมาโตคริตในเลือดปลาดุกรัสเซีย ที่ทดลองในแต่ละสูตรอาหารมี

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กล่าวคือ อาหารที่ไม่มีส่วนผสมของสาหร่ายไก มีค่าฮีมาโตคริต น้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของ (วุฒิพร และคณะ, 2550) ที่ทดลองเกี่ยวกับผลของคาโรตินอยด์จากสไปรูลินาต่อการสะสมคาโรตินอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ กล่าวว่า การเสริมคาโรตินอยด์จะไม่ส่งผลต่อค่าฮีโมโกลบินรวมและฮีมาโตคริตในปลานิลแดงแปลงเพศ

เม็ดเลือดแดงรวม Monocytes, Basophile, Thombocyte และ Lysozyme จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างปลาดุกรัสเซียกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกัน ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม และ Heterophill ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม และ Heterophill ในหน่วยการทดลองที่เสริมสาหร่ายไก 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่แตกต่างจากปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไก 0 และ 1 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ(วุฒิพร และคณะ, 2550) ที่ทดลองเกี่ยวกับผลของคาโรตินอยด์จากสไปรูลินาต่อการสะสมคาโรตินอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ กล่าวว่า การเสริมคาโรตินอยด์จะส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นมากกว่ากว่าชุดควบคุม

ศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ปัจจัยด้านคุณภาพน้ำในบ่อปลาในกระชังเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายไกในระดับที่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลจากวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีการเปลี่ยนถ่ายเทน้ำในบ่อปลาให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำไม่ควรต่ำกว่า 3 ppm. (วัดในตอนเช้ามืด) มงคล (2548) ความขุ่น 80 มิลลิกรัม/ลิตร (วิรัช, 2544) ออร์โธฟอสเฟส-ฟอสฟอรัส (PO_4-P) อยู่ระหว่าง 0.1-0.5 มิลลิกรัม/ลิตร (Boyd and Tucker, 1992)

ศึกษาการประเมินผลทางเศรษฐกิจ ในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ต้นทุนการผลิตของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก ทั้ง 4 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 3 เปอร์เซ็นต์ มีต้นทุนการผลิตต่ำสุด คือ 40.38 ± 1.75 บาท/กิโลกรัม รองลงมาได้แก่ ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสม

สาหร่ายไก 0, 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีต้นทุนการผลิต เท่ากับ 40.43 ± 3.72, 42.65 ± 5.61 และ 53.31 ± 7.41 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ

ซึ่งสอดสอดคล้องกับการรายงานของทิพย์สุดา (2549) ทดลองเลี้ยงปลาดุกอุยเทศในบ่อพลาสติกที่มีความหนาแน่นแตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า ต้นทุนการผลิตของแต่ละชุดการทดลองเท่ากับ 1,307.82, 1,564.61 และ 2,090.82 บาท/บ่อ และมีจุดคุ้มทุนราคาขายเท่ากับ 57.43, 43.63 และ 38.04 บาท/กิโลกรัม ตามลำดับ และกล่าวว่าต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนการลงทุน ปลาดุกเทศที่เลี้ยงความหนาแน่น 120 ตัว/ตารางเมตรมีความเหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงและต่างจากประยงค์ (2550) กล่าวว่าการเลี้ยงปลาดุกในร่องปูน ปล่อยในอัตรา 70 ตัว/ตารางเมตร ระยะเวลาในการเลี้ยง 105 วัน เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง พบว่าต้นทุนการผลิตที่ใช้ประมาณ 18-20 บาท ต่อการผลิตปลา 1 กิโลกรัม

สรุปผลการศึกษา

1. ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตการเจริญพันธุ์ (gonadosomatic index; %GSI) และคุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซีย ดีกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

2. การเกิดสีของเนื้อปลานั้นสามารถเพิ่มมากขึ้นได้ ตามปริมาณของสาหร่ายไกที่ใช้และระยะเวลาที่เลี้ยง

3. ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีภูมิคุ้มกันดีกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

4. การใช้สาหร่ายไกผสมในอาหาร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาแต่อย่างใด

5. ผลผลิตของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก ทั้ง 4 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลผลิตสูงสุด รองลงมาได้แก่ ปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไก 0, 3 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

สีของเนื้อปลานั้น เป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง ฉะนั้นจึงน่าจะได้มีการทดลองต่อไปกับปลาดุกรัสเซียวัยต่างๆ กันโดยให้อาหารที่ผสมสาหร่ายไกปริมาณต่างๆ เพื่อหาจุดที่เหมาะสมที่สุด จะได้เป็นแนวทางในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียด้วยอาหารสำเร็จรูปให้ได้ราคาดีต่อไป

บรรณานุกรม

กรมประมง. 2529. **สถิติผลผลิตฟาร์มเลี้ยงปลาน้ำจืดปี 2527. เอกสารฉบับที่ 12/2529.** กรุงเทพฯ: ฝ่ายสถิติ การประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 109 น.

กาญจนภาชน์ ลิ้มมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย.** กรุงเทพฯ. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 343 น.

จงกล พรมยะ เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ และขจรเกียรติ์ แซ่ตัน. 2549. **ผลของการใช้สไปรูลินาสดต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการ และคาโรตินอยด์ ของปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 1.** เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 110 น.

จงกล พรมยะ ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร และสมโภชน์ จันทร์ลอย. 2548. **การปรับปรุงคุณภาพเนื้อปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) โดยใช้ *Spirulina platensis* และ *Cladophora* sp. การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 6.** เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ดาราวรรณ ยุทธยงค์ จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และสนธิพันธ์ ผาสุขดี. 2547. **ผลของแอสตาแซนทินในอาหารต่อสีปลากระแห. เอกสารวิชาการฉบับที่ 69/2547.** กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง. 17 น.

ฐิติมา จิโนวัฒน์ ฉัตรพงษ์ สุขเกื้อ และชาตรี วิระสิทธิ์. 2546. **การส่งเสริมความสมบูรณ์เพศของปลาแรดและปลาดุกอุยด้วยอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทอง.** อยุธยา: สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา. 265 น.

ทวี จินดามัยกุล พิชญา ชัยนาค และจูอะดี พงศ์มณีรัตน์. 2550. การศึกษาระดับแอสตาแซนทินที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงสีของปลาหมอทะเล. **วารสารการประมง.** 5(12): 35-42.

ทิพย์สุดา ต่างประโคน ผ่องใส จันทร์ศรี และ สุพรรณ ขันน้ำเที่ยง. 2549. **การเลี้ยงปลาดุกอุยเทศในบ่อพลาสติกที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน 3 ระดับ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 64/2549.** สุรินทร์: ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุรินทร์, กรมประมง. 65 น.

นภดล ศุกระกาญจน์. 2549. **คู่มือปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ (Fish Diseases Laboratory Manual).** สงขลา: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

นิวุฒิ หวังชัย. 2547. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ.** เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 226 น.

บราลี ทุมกานนท์. 2533. **การเพาะเลี้ยงและอนุบาลปลาดุกยักษ์.** นนทบุรี: นพบุรีการพิมพ์. 119 น.

บานชื่น ชลสวัสดิ์. 2532. **การใช้สาหร่ายเกลียวทองสดเป็นส่วนประกอบของอาหารผสมสำหรับเลี้ยงปลาตะเพียนขาวและปลาดุกอุย.** กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 78 น.

ประยงค์ รณรงค์. 2550. การเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยในร่องปูน. **เทคโนโลยีชาวบ้าน.** 20 (418): 28 น.

พรรณศรี จริโมภาส. 2538. **พัฒนาการระบบสืบพันธุ์ของปลาดุกอุย : การสัมมนาวิชาการประจำปี 2538.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 75 น.

มงคล ว่องสมบัติ. 2548. **การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลาดุก.** กรุงเทพฯ: สถาพรบุ๊คส์. 128 น.

ยนต์ มุสิก. ม.ป.ป. **คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลา.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 115 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. **การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไปรูลินา.** เชียงใหม่: สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 310 น.

_____. 2550. **การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก: ความรู้ทั่วไปและการแปรรูปอาหาร.** กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). 32 น.

วิรัช จิ๋วแหยม. 2544. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 287 น.

วิเศษ อัครวิทยากุล. ม.ป.ป. **ปลาดุกบิ๊กอุย.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 72 น.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2527. **ผลของรงควัตถุคาโรตินอยด์ที่ได้จากแหล่งต่างๆ ต่อการ เปลี่ยนแปลงของปลา แฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.)** กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 120 น.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2550. ผลของคาโรทีนอยด์จากสไปรูไลนาต่อการสะสมคาโรทีนอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ. **วารสารสงขลานครินทร์ วทท.** 29(5): 35 น.

ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร. 2543. **การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.** เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 105 น.

สง่า ลีสง่า และเทียนทอง อยู่เวชวัฒนา. ม.ป.ป. **ผลผลิตการเลี้ยงปลาดุกอุยเทศในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกัน.** กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 258 น.

สุภาพร สุขสีเหลือง. 2538. **การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** กรุงเทพฯ: ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพเกษตร. 291 น.

อรุณ ขันโคกสูง. 2551. **การเลี้ยงปลาดุกแบบภูมิปัญญาชาวบ้าน.** นครราชสีมา: โครงการเพิ่มประสิทธิภาพการให้บริการงานส่งเสริมการเกษตร ณ ศูนย์เรียนรู้การเลี้ยงปลาดุกแบบภูมิปัญญาชาวบ้าน. 60 น.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2531. **การเพาะขยายพันธุ์ปลา.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 148 น.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2544. **ปลาดุก.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 140 น.

AOAC 1970. **Official Method of Analysis of the Association of official Analytical CheMists. Associaltion of official Analytical Chemists,** Arlington: The Association of Analytical Chemists. 1015p.

Barbosa M.J., Morais R. and Choubert G. 1999. **Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*).**

Bauernfeind, J. C. 1981. **Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors : Technological and Nutritional Applications.** London: Academic press. 938p.

Boy, C.E. and Tucker, C.S. 1992. **Water Quality and Pond Soid Analysis for Aquacult.** Auburn University, Alabama. 489p.

Chen S-C., Yoshida T., Adams A., Thompson K.D. and Richards R.H. 1998. **Non-specific immune response of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) to the extracellular products of Mycobacterium spp. and to various adjutants.** New York: Assiut University, 1014p.

Choubert, G. 1979. Tentative utilization of spirulin algae as a source of carotenoids pigments for rainbow trout. **Aquaculture** 18:135-143.

Dalmo R.A., Ingebrigtsen K. and Bogwald J. 1997. Non-specific defense mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). **J. Fish Dis.,** 20: 241-273.

De Siva S.S., Gunasekera R.M. and Keembiyahetty C. 1989. **Optinum ration and feeding frequency in *Oreochromis niloticus* young,** In Meclean J.L., Dizon L.B. and Hosillos L.V. (eds.), The first Fisheries Forum. Asia Fisheries Society. Malila, Philippines, pp. 559-564.

Donald L. Evans and Liliana Jaso-Friedmann. 1992. **Nonspecific cytotoxic cells as effectors of immunity in fish.** Athens: Georgia University. 2854p.

FAO. 1980. **Fish feed technology. Lectures presented at the FAO/UNDP Training Course in fish feed Technology,** held at the College of fisheries, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A., 9 October-15 December 1978. 395p.

Foss P., Storebakken T., Schiedt K., Liaaen-Jensen S., Austreng E. and Streiff K. 1984. Carotenoids in diets for salmonids I: pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. **Aquaculture.** 41: 213-236.

Fox H.M. 1957. **The pigment of fish.** pp. 365-385., In M.E. Brow (ed.), Physiology of fish. New York: Academic Press.

Fox H.M. and Veverse G. 1960. **The Nature of Animal Coloues.** London: Sidgwick and Jackson limited. 270 p.

Greenberg D.M. 1968. **Metabolic Pathway.** New York: Acadamic press. 511p.

Hirao S., Sakai H. and Honjo T. 1962. Feeding test of beta-apo-2 Carotenol on rat and rainbowtrout. **Bull. Jap. SOC. Sci. Fish.** 28. 709p.

Kalinowski C.T., Izqerdo M.S., Schuchardt D. and Robaina L.E. 2007. **Dietary Supplementation time with Shrimp Shell Meal on Red Porgy (*Pagrus pagrus*) Skin Colour and Carotenoid Concentration.** New York: Acadamic press. 1504p.

Menghe H. Li., Edwin H. Robinson., Daniel F. Oberle., Oaul V. Zimba. 2008. **Effects of Various Dietary Carotenoid Pigments on Fillet Apperance and Pigment Absoption in Channel Catfish,** Mississppi: Mississippi State University. 1659p.

Nakayama T.O.M. Carotenoids. In Lewin, R.A. (Ed.). 1962. **Physiology and Biochemistry of algae.** New York: Academic press 409-420.

Sakai M. 1999. **Current research status of fish immunostimulants.** Aquaculture 172: 63-92.

Lovell, Tom. 1934. **Nutrition and Feeding of Fish.** New York: Kluwer Academic. 260 p.

Vadstein. 1997. The use of immustimulation in marine larviculture: possibilities and challenges. **Aquaculture.** 155: 401-417.

Viola, S. 1975. Experiments on nutrition of carp growing in cage, part 2: Partial substitution of fish meal. **Bamidgeh.** 27(2): 40-48.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง

การวิเคราะห์ความชื้น

(AOAC)

ในการวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารซึ่งสิ่งแรกที่ต้องทราบ ความชื้นที่มีอยู่ในวัสดุอาหาร ดังนั้นการหาความชื้นในอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อหาค่าตัวอย่างเปียกแล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณกลับ การวิเคราะห์หาความชื้นของตัวอย่างอาหารทำได้หลายวิธี โดยวิธีวิเคราะห์ที่ง่ายสุดคือ การทำให้แห้งซึ่งเป็นวิธีที่ใช้คำนวณหาปริมาณน้ำที่สูญเสียไปหลังจากทีทำให้วัสดุแห้งแล้ว แต่ข้อเสียคือ วิธีนี้จะเป็นการยากที่จะทำให้ตัวอย่างอาหารแห้งสนิท โดยขณะทำให้แห้งอาจทำให้สารอาหารบางชนิดในตัวอย่างสูญสลายไปด้วย รวมถึงสารอื่น ๆ ที่สามารถระเหยได้นอกจากน้ำก็จะสูญเสียไปด้วย

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาอบแห้ง (drying oven)
2. จานอลูมิเนียม (aluminium dish)
3. โถอบแห้ง (desicator)
4. คีม (tong)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance)
6. ช้อนตักสาร
7. ตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. นำขวดชั่งไปอบจนได้น้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำเอามาชั่งน้ำหนักและจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

2. ตักตัวอย่างอาหารใส่ขวดชั่ง ประมาณ 2-3กรัม ทำการชั่งน้ำหนักแล้วจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

3. นำขวดชั่งที่บรรจุตัวอย่างอาหารไปอบในตู้ที่มีอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในระหว่างอบจะต้องเปิดฝาชั่ง

4. นำขวดชั่งออกจากตู้อบ แล้วนำไปใส่โถอบแห้งทิ้งไว้ให้เย็น ปิดฝาขวดชั่งแล้วนำไปชั่งและจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

5. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น $= \frac{(ก - ข) \times 100}{ค}$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดชั่งรวมตัวอย่างก่อนอบแห้ง

ข = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

ค = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาเถ้า

(AOAC)

เถ้า (Ash) หมายถึง ปริมาณสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร หลังจากที่เผาผลาญสารอินทรีย์หมดแล้ว ในการวิเคราะห์มักใช้ความร้อนในการเผาลาญสารอินทรีย์ ดังนั้น ค่าเถ้าที่ได้จึงไม่จำเป็นต้องเท่ากับปริมาณสารเกลือแร่ทั้งหมดที่อยู่ในตอนแรก สารอนินทรีย์หรือเกลือแร่บางส่วนอาจสูญเสียไปโดยการระเหยเพราะความร้อนที่ใช้ในการระเหยเพราะความร้อนที่ใช้ในการเผานั่นเอง ค่าเถ้าที่จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของสารอาหารนั้น ๆ

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ถ้วยกระเบื้อง(dish crucible)หรือfoil
2. โถอบแห้ง (desiccators)
3. เตาเผา (muffle furnace)
4. แผ่นความร้อน (hot plate)
5. ตู้ควัน (fume cupboard)
6. คีม (tong)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้า((analytical balance)
8. ช้อนตักสาร
9. ตัวอย่างอาหาร

วิธีการ

1. ทำเครื่องหมายบนถ้วยกระเบื้องที่ใส่ตัวอย่าง โดยอาจเขียนหมายเลขกำกับไว้ตามลำดับของตัวอย่างอาหาร ไปเผาในอุณหภูมิ 550 – 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

2. นำถ้วยกระเบื้องที่เผาเรียบร้อยแล้วออกจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้สักครู่บนแผ่นกระเบื้องเคลือบ แล้วนำไปตั้งให้เย็นในอบแห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

3. ตักตัวอย่างอาหารใส่ในถ้วยกระเบื้องประมาณ 1-2 กรัม ทำการชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้

4. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาบนแผ่นความร้อนในตู้ควันจนกระทั่งหมดควัน

5. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาในเตาเผาที่มีอุณหภูมิ 550 – 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนเถ้ามีสีขาว นำถ้วยกระเบื้องที่เผาเรียบร้อยแล้วออกมาตั้งทิ้งไว้สักครู่บนแผ่นกระเบื้องเคลือบแล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง เสร็จแล้วนำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) หมายเหตุหากถ้ายังไม่ขาว(แสดงว่ายังมีคาร์บอนเหลืออยู่)ให้นำถ้วยกระเบื้องมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นบนแผ่นกระเบื้องเคลือบ แล้วหยดสารละลายแอมโมเนียมคาร์บอเนต 4-5 หยดเพื่อให้เกิดความชื้น จากนั้นนำไประเหยให้แห้งบนแผ่นความร้อน แล้วนำไปเผาต่อจนได้เถ้าสีขาว

6. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมด $= \frac{(ก - ข) \times 100}{ค}$

เมื่อเมื่อ ก = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องรวมตัวอย่างหลังเผา

ข = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องหลงเผา

ค = น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาโปรตีน

(AOAC)

การวิเคราะห์หาระดับโปรตีนในอาหาร ทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่อยู่ในสารอาหารนั้นๆ เนื่องจากไนโตรเจนในสารอาหารส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโปรตีน ซึ่งปกติในโปรตีนจะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่16เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเมื่อทราบปริมาณไนโตรเจนที่ได้จะต้องคูณด้วย 6.25 ถึงจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนของอาหารที่นำมาวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดทำได้โดยการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารให้กลายเป็น H_2SO_4โดยนำตัวอย่างอาหารไปย่อยใน H_2SO_4เข้มข้น จากนั้นเติมสารละลาย NaOH เข้มข้นเพื่อให้ไนโตรเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูป NH_3 แล้วนำมากลั่นเพื่อให้เกิดก๊าซ NH,ระเหยออกมา โดยทำการจับก๊าซ NH_3 ด้วยสารละลาย NaOH ที่ทำให้เป็นกลางด้วยปริมาณของที่ได้จากไนโตรเจนในอาหาร จากนั้นคำนวณหาปริมาณของไนโตรเจนได้ตามต้องการ

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาโปรตีน สามารถแยกออกเป็น 4 ขั้นตอน

1. $O.M. + H_2SO_4 \xrightarrow{cat} (NH4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$ (digestion)

2. $NaOH + (NH_4)_2SO_4 \longrightarrow NH_3 + Na_2SO_4$ (distillation)

3. $2NH_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$ (fixation)

4. $H_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2O$ (titration)

สารเคมี

1. สารเร่งปฏิกิริยา Sodium sulfate : Copper sulfate อัตรา 20 : 1 หรือ Potassium sulfate : Copper sulfate อัตรา 15 : 1

2. Screened methyl ref indicator ละลาย Methylene blue 0.1 กรัม ใน Ethanol 96 % 100 มิลลิลิตร

3. NaOH (เข้มข้น 45%)

4. H_2SO_4 เข้มข้น

5. H_2SO_4 มาตรฐาน (0.1 N)

6. NaOH มาตรฐาน (0.1 N)

7. ลูกแก้ว

8. ตัวอย่างอาหาร

อุปกรณ์

1. เครื่องทำความร้อน

2. เครื่องกลั่น

3. Kjeldahl flask ขนาด 800 ml.

4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml.

5. กระบอกตวง ขนาด 100 และ 500 ml.

6. ปิเปต ขนาด 25 และ 50 ml.

7. บิวเรต

8. เครื่องชั่ง

9. กระบอกฉีดพร้อมน้ำกลั่น

10. กระดาษรอง

วิธีการ

1. ทำการชั่งตัวอย่างอาหาร (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) บนกระดาษกรอง (โดยตัวอย่างอาหารที่มีระดับโปรตีนสูงใช้ 0.5 – 1 กรัม และระดับโปรตีนต่ำใช้ 1 -2 กรัม) แล้วห่ออาหารด้วยกระดาษกรองและพับใส่ Kjeldahl flask แล้วเติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 2-3 ช้อน และลูกแก้ว 2 ลูก แล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น จำนวน 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน (โดยต้องทำ Blank พร้อมกันไปด้วย)

2. ทำการย่อยตัวอย่างอาหาร โดยนำ Kjeldahl flask ไปวางตรงกับเครื่องทำความร้อน เปิดเครื่องดูดอากาศของ hoot ให้ความร้อนน้อยๆ ก่อนจนลูกแก้วหยุดกระเด็น จึงให้ความร้อนเต็มที่ ระหว่างการย่อยให้หมุน Kjeldahl flask เป็นครั้งคราว ทำการย่อยจนสารละลายมีสีเขียวใส

3. ปิดเครื่องทำความร้อน จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ให้ Kjeldahl flask เย็น (หากบริเวณคอ Kjeldahl flask มีจุดสีดำ เกาะติดอยู่ให้ใช้น้ำกลั่นล้างลงไปแล้วย่อยต่อจนใสทิ้งไว้ให้เย็น) จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 500 มิลลิลิตร

4. เติมสารละลาย H_2SO_4 มาตรฐาน (0.1 N) จำนวน 50 มิลลิลิตร ในขวนรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติม Screened methyl ref indicator 4 หยด นำมาต่อเข้ากับปลายเครื่องกลั่น โดยให้ปลายของท่อกลั่นจุ่มในสารละลาย เปิดน้ำผ่านเครื่องควบแน่นของเครื่องกลั่น

5. นำ Kjeldahl flask ที่ย่อยแล้วมาเติมสารละลาย NaOH (เข้มข้น 45 %) จำนวน 80 มิลลิลิตร โดยเติมลงไปช้าๆ แล้วนำไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่นทันที เขย่าเป็นรูปวงกลมให้สารละลายเข้ากัน

6. เปิดเครื่องทำความร้อนของเครื่องกลั้น จนแอมโมเนียถูกกลั่นออกมาประมาณ 150 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเลื่อนขวดรูปชมพู่ออกจากปลายเครื่องกลั่น โดยให้ปรายท่ออยู่เหนือสารละลาย ใช้น้ำกลั่นล้างปลายท่อ จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ออกแล้วใสขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ลงไปแทน (เพื่อให้เครื่องกลั่นดูดทำความสะอาดเอง)ปิดเครื่องทำความร้อนเฉพาะเตา

7. นำสารละลายที่ได้ (สีไวท์แดง)มาไตรเตรตกับสารละลาย NaOH มาตรฐาน (0.1N) จนสารละลายเป็นสีเขียวใส

8. การคำนวณ

NaOH จำนวน 1 มิลลิลิตร มาตรฐาน 0.1N ทำปฏิกิริยาได้พอดีกับไนโตรเจน 0.014 กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน} = \frac{(\text{ข} - \text{ก}) \times 0.014 \times \text{ค} \times 100}{\text{ต}}$$

เมื่อ ก = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรตสารละลายจากตัวอย่าง

ข = มิลลิลิตรของ NaOH มาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรตสารละลายจาก Blank

ค = ความเข้มข้นสารละลาย NaOH มาตรฐานที่ใช้

ต = ตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์

ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ Crude protein = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน × 6.25

การวิเคราะห์ไขมัน

(AOAC)

การวิเคราะห์หาไขมัน(Ether extract หรือ Crude fat) สามารถทำได้ด้วยการสกัดตัวอย่างอาหารโดยใช้ตัวทำละลายไขมันที่เป็นสารละลายประเภท Organic solven ตัวใดตัวหนึ่ง เช่น petroleum ether, hexane, dichloromethane และ benzeneเป็นต้น โดยใช้ชุดอุปกรณ์ที่เรียกว่า Soxhlet extract ต่อเข้ากับระบบเครื่องทำความร้อนและเครื่องควบแน่น (Condenser) แต่ต้องเปิดระบบน้ำไว้เพื่อช่วยให้เกิดการควบแน่น ซึ่งอุปกรณ์ครบชุดทั้งหมดนี้เรียกว่า Extraction apparatus โดยส่วนของสัตว์ที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลาย ได้แก่ fat , oils และ waxes ส่วนในพืชได้แก่ carotene , chlorophyll และ sterol

สารเคมี

Petroleum ether หรือ hexane หรือ dichloromethane

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. นำขวดก้นแบนไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำขวดก้นแบนที่อบแล้วมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้งชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้ (เขียนหมายเลขกำกับ)

2. การทำชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2 กรัมบนกระดาษกรองและจดบันทึกน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ทำการห่อตัวอย่างด้วยกระดาษกรองแล้วใส่ลงในThimble แล้วปิดด้วยสำลีบางๆ นำThimble ไปใสใน Soxhlet และต่อ Soxhlet เข้ากับเครื่องควบแน่น

3. เติม Petroleum ether, hexane, dichloromethane โดยเลือกใช้ตัวใดตัวหนึ่ง เติมลงขวดก้นแบนประมาณ 2ใน 3 ของขวด นำมาต่อเข้ากับ Soxhlet และเครื่องให้ความร้อน

4. เปิดระบบน้ำให้ผ่านเครื่องควบแน่น และเปิดเครื่องให้ความร้อน ใช้ความร้อนประมาณ 20 – 30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสกัดเป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง

5. ทำการถ่ายสารละลายออกจาก Soxhlet โดยให้เหลือสารละลายอยู่ในขวดก้นแบนให้น้อยที่สุด และถอด Soxhlet ออกจากขวดก้นแบนและเครื่องควบแน่น วางขวดก้นแบนไว้บนแผ่นความร้อนจนเกือบแห้งสนิท

6. นำขวดก้นแบนมาอบให้แห้งในตูอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำขวดก้นแบนที่อบเรียบร้อยแล้วมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง ทำการชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

7. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ไขมัน $= \frac{(ข - ก) \times 100}{ค}$

เมื่อ ก = น้ำหนักขวดก้นแบน

ข = น้ำหนักขวดก้นแบนหลังสกัดไขมันและอบแห้ง

ค = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

การวิเคราะห์หาเยื่อใย

(AOAC)

การวิเคราะห์หาเยื่อใยของวัตถุดิบสามารถทำได้โดยการตัวอย่างด้วยกรดซัลฟูลิก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้น 1.25 % เป็นเวลา 30 นาที เมื่อต้มตัวอย่างเรียบร้อยแล้วให้นำตัวอย่างไปกรองจนแห้งสนิท จากนั้นนำกากตัวอย่างที่ได้มาต้มอีกครั้งด้วยบโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้น 1.25 % เป็นเวลา 30 นาทีนำตัวอย่างมากรองอีกครั้งแล้วนำกากที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส แล้วทำการชั่งน้ำหนักของตัวอย่าง จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส แล้วทำการชั่งน้ำหนักส่วนที่เหลือ ซึ่งน้ำหนักที่ได้นี้จะนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เยื่อใย โดยส่วนที่หายไปนั้นคือเยื่อใยหยาบ (Crude fiber) ซึ่งประกอบด้วย Hemi cellulose , cellulose และ lignin

สารเคมี

1. กรด H_2SO_4 (เข้มข้น 1.25 %)
2. ด่าง NaOH (เข้มข้น 1.25 %)
3. Acetone หรือแอลกอฮอล์

4. Antifoam

อุปกรณ์

1. เครื่องให้ความร้อนและเครื่องควบแน่น (Condenser)
2. ถ้วยแก้วกรอง
3. ตู้อบ
4. เตาเผา
5. โถอบแห้ง
6. คีม
7. เครื่องต้มน้ำพร้อมอุปกรณ์
8. กระบอกฉีดน้ำ
9. เครื่องชั่งไฟฟ้า
10. ตัวอย่างอาหาร (ที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว)

วิธีการ

1. นำถ้วยแก้วกรองไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้น้ำหนักของถ้วยแก้วกรองที่แน่นอนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวางให้เย็นในโถอบแห้ง

2. การชั่งน้ำหนักถ้วยแก้วกรองโดยจดบันทึกไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ทำตัวอย่าอาหารที่วิเคราะห์ใส่ลงในถ้วยแก้วกรอง ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้

3. นำถ้วยแก้วกรองไปต่อกับเครื่องให้ความร้อนและเครื่องควบแน่น แล้วจึงทำการเติมกรด H_2SO_4 (เข้มข้น 1.25 %) จำนวน 150 มิลลิลิตร ลงในท่อ Condenser เปิดน้ำให้ไหลผ่านเครื่องควบแน่น แล้วทำการเปิดเครื่อง ทำการต้มตัวอย่างด้วยกรด H_2SO_4 (เข้มข้น 1.25 %) เป็นเวลา 30 นาที (โดยทำการจับเวลาขณะที่สารละลายเดือด) เติม Antifoam 3 – 5 หยด (เพื่อป้องกันการเกิดฟอง)

4. กรองสารละลายออกโดยกดที่ปุ่ม Vacuum ด้านข้างพร้อมปรับปุ่มไปที่ Vacuum ตรงด้านล่างถ้วยกรองแก้วจนสารละลายแห้งสนิท จากนั้นใช้น้ำร้อนที่เตรียมไว้ด้านล้างลงไปประมาณ 3 ครั้ง (จนหมดกรด) แล้วจึงทำการปิดที่ปุ่ม Vacuum ด้านข้างพร้อมปรับปุ่ม Vacuum ไปที่ Closes

5. เติมด่าง NaOH (เข้มข้น 1.25 %) จำนวน 150 มิลลิลิตร ลงในท่อ Condenser ทำการต้มตัวอย่างด้วยด่าง NaOH (เข้มข้น 1.25 %) เป็นเวลา 30 นาที (โดยทำการจับเวลาขณะที่สารละลายเดือด) เติม Antifoam 3 – 5 หยด (เพื่อป้องกันการเกิดฟอง)

6. กรองสารละลายออกโดยกดที่ปุ่ม Vacuum ด้านข้างพร้อมปรับปุ่มไปที่ Vacuum ตรงด้านล่างถ้วยกรองแก้วจนสารละลายแห้งสนิท จากนั้นใช้น้ำร้อนที่เตรียมไว้ล้างลงไปประมาณ 3 ครั้ง (จนหมดด่าง) และล้างด้วยน้ำเย็น 1 ครั้ง แล้วใช้แอลกอฮอล์ หรือ อะซิโตนล้างอีก 1 ครั้ง เพื่อไล่น้ำออก จากนั้นทำการปิดที่ปุ่ม Vacuum ด้านข้างพร้อมปรับปุ่ม Vacuum ไปที่ Closes

7. นำถ้วยแก้วกรองออกจากเครื่องกรองโดยปรับดันโยก (ระวังอย่าให้ถ้วยแก้วกรองหล่น โดยการใช้เหล็กบังก่อน) จากนั้นใช้คีมจับออกมานำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกมาวางทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้งจนเย็น ชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้

8. จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 – 600 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในกระเบื้องเคลือบก่อนแล้วเก็บไว้ในโถอบแห้งจนเย็น ชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) และจดบันทึกไว้

9. การคำนวณเปอร์เซ็นต์เยื่อใย $= \frac{(ข - ก) \times 100}{ค}$

เมื่อ ก = น้ำหนักถ้วยแก้วกรอง + กากหลังอบ

ข = น้ำหนักถ้วยแก้วกรอง + กากหลังอบและหลังเผา

ค = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

การหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก (คาร์โบไฮเดรต)

คำนวณเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต = 100 – ก – ข – ค – ง

เมื่อ ก = เปอร์เซ็นต์เถ้าของตัวอย่าง

ข = เปอร์เซ็นต์โปรตีนของตัวอย่าง

ค = เปอร์เซ็นต์ไขมันของตัวอย่าง

ง = เปอร์เซ็นต์เยื่อใยของตัวอย่าง

ที่มา : นิวุฒิ หวังชัย (2547)

ภาคผนวก ข

การสกัดคาโรตินอยด์จากเนื้อปลาดุกรัสเซีย

ขั้นตอนการสกัดคาโรตินอยด์จากเนื้อปลาดุกรัสเซีย

(Foss และคณะ, 1984)

1. เนื้อปลาดุกรัสเซีย (สับหรือบดให้ละเอียด)

2. ชั่งเนื้อปลามา 5 กรัม + acetone 30 มิลลิลิตร (กวนเป็นครั้งคราว ทิ้งไว้ 30 นาที) กรองผ่านกระดาษกรอง (GF/C)

3. สารละลายที่ได้ (Acetone extract) นำมา 5 มิลิลิตร ใส่หลอดทดลอง + น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร + Ethyl acetate 2 มิลลิลิตร

4.สารสีเหลืองใสที่ได้นำมาวัดค่าดูดซับแสง (Absorbance) โดยใช้ Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 472 นาโนเมตร (Blank test ใช้ Acetone 5 มิลิลิตร + น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร+ Ethyl acetate 2 มิลลิลิตร)หักลบค่า Absorbance ที่ได้ด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ของค่า Absorbance ที่วัดได้จากนั้นนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของคาโรตินอยด์จากสมการ $E^{1\%}_{1cm}$ = 1900

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมุติวัดค่าดูดซับแสง (Absorbance) ได้เท่ากับ 0.02228 คำนวณตามขั้นตอนดังนี้

1.หักลบค่า Absorbance ที่วัดได้ด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ของค่า Absorbance ที่วัดได้ เพราะฉะนั้น 0.0228-0.00228 = 0.02005

2. คำนวณตามสมการ $E^{1\%}_{1cm}$ = 1900 ความหมายของสมการ $E^{1\%}_{1cm}$ = 1900 ก็คือ ถ้าวัดค่าดูดซับแสงของสารคาโรตินอยด์ได้เท่ากับ 1900 โดยใช้ light pate เท่ากับ 1 เซนติเมตร แสดงว่า สารละลายนั้นมีความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ เท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ หรือ เท่ากับ 10,000 ส่วนในล้าน

ดังนั้น ถ้าวัดค่าดูดซับแสงของสารคาโรตินอยด์ได้เท่ากับ 1900 แสดงว่ามีความเข้มข้น 10,000 ส่วนในล้าน ถ้าวัดค่าการดูดซับแสงของสารคาโรตินอยด์ได้เท่ากับ 0.02005 แสดงว่ามีความเข้มข้น

$$= \frac{10{,}000 \times 0.02005}{1900} = 0.1055 \text{ ส่วนในล้าน}$$

3. นำความเข้มข้น 0.1005 ส่วนในล้านที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลา ความเข้มข้นของสารละลายคาโรตินอยด์ 0.1055 ส่วนในล้าน หมายความว่า

สารละลาย 1,000,000 มิลลิลิตร มีคาโรตินอยด์อยู่ 0.1055 กรัม สารละลายที่นำมาวัดค่าคาโรตินอยด์ นำมาจากสารละลาย 8 มิลลิลิตร

ดังนั้น สารละลาย 8 มิลลิลิตร มีคาโรติอยด์อยู่ $\frac{0.1055 \times 8}{1,000,000}$ กรัม

สารละลาย 8 มิลลิลิตรนี้ มาจาก Acetone extract 5 มิลลิลิตร

ดังนั้นสารละลาย Acetone extract 5 มิลลิลิตร มีคาโรตินอยด์อยู่ $\frac{0.1055 \times 8}{1,000,000}$ กรัม

สารละลาย Acetones extract 30 มิลลิลิตร มีคาโรตินอยด์อยู่ $\frac{0.1055 \times 8 \times 30}{5 \times 1,000,000}$ กรัม

Acetone extract 30 มิลลิลิตรนี้สกัดมาจากเนื้อปลา 5 กรัม

ดังนั้นเนื้อปลา 5 กรัม มีคาโรตินอยด์อยู่ $\frac{0.1055 \times 8 \times 30}{5 \times 1,000,000}$ กรัม

เนื้อปลา 1 กรัม มีคาโรตินอยด์อยู่ $\frac{0.1055 \times 8 \times 30 \times 1}{5 \times 5 \times 1,000,000}$ กรัม

$= 1.013 \times 10^{-6}$ กรัม

= 1.013 ไมโครกรัม

เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของคาโรตินอยด์ในเนื้อปลา = 1.013 ไมโครกรัม/เนื้อปลา 1

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กิจกรรมไลโซไซม์

(Chen และคณะ, 1998)

1.สารละลายแบคทีเรีย (Bacteria suspension) *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ในสารละลาย PBS 1 M pH 6.8)

ถ้าต้องการเตรียมสารละลายแบคทีเรีย (Bacteria suspension) ปริมาตร 2.5 ml ใน PBS เข้มข้น 0.05 M จาก Stock 1 M PBS pH 6.8

ตัวอย่าง คำนวณว่าต้องการใช้ Stock 1 M PBS pH 6.8 ปริมาตรเท่าไร

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

C_1 = 0.05 M PBS; V_1 =25 ml; C_2 = 1 M; V_2 =?

แทนค่าในสูตร $0.05 \times 2.5 = 1 \times V_2$

$V_2 = 0.125$ ml

ดังนั้น : จะใช้ Stock 1M PBS pH 6.8 ปริมาตร 0.125 ml

ตัวอย่าง คำนวณว่าต้องใช้แบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) เท่าไร กำหนดให้ใช้สารละลายแบคทีเรียความเข้มข้น 3 mg/ml

ปริมาตร 1 ml	ใช้แบคทีเรีย 3	mg
ปริมาตร 2.5 ml	ใช้แบคทีเรีย 3×2.5	mg
	ใช้แบคทีเรีย 7.5	mg

ดังนั้น : ต้องใช้แบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) 7.5 mg

สรุปการเตรียมสารละลายแบคทีเรีย (Bacteria suspension) ปริมาตร 2.5 ml

ประกอบด้วย

Stock 1M PBS pH 6.8		0.125	ml
แบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus*		7.5	mg
Distilled water	2.5 – 0.125 =	2.375	ml

การคำนวณค่ากิจกรรมของเอนไลโซไซม์ (หน่วยเป็น ยูนิต/นาที) 1 ยูนิต (หน่วย) ของกิจกรรมไลโซไซม์ คือ ค่าความขุ่นของสารละลายที่ลดลง 0.001 ภายใน 1 นาที

ตัวอย่างการคำนวณ

เมื่อทราบค่าเฉลี่ยของค่าดูดกลืนแสงที่ลดลงใน 1 นาที เท่ากับ 0.005 คำนวณเป็นยูนิตจะได้ดังนี้

ค่า OD ลดลง 0.001/1 นาที	เท่ากับ	1	ยูนิต
ค่า OD ลดลง 0.005/1 นาที	เท่ากับ	$1 \times 0.005/0.001$	ยูนิต
ดังนั้น : ค่ากิจกรรมของเอนไซม์	เท่ากับ	5.0	ยูนิต/นาที

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การวิเคราะห์แอมโมเนีย (Ammonia)

(ศิริเพ็ญ, 2543)

สารเคมี

1. น้ำกลั่น Ammonia free โดยกรองน้ำกลั่นผ่าน Caption exchange resin (ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)

2. Oxidizing solution (ควรเตรียมใหม่ทุก ๆ 4-5วัน) ผสมไฮเตอร์ 20 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร แล้วปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.5-7.0โดยใช้สารผสมระหว่าง HCI 1ส่วนผสมน้ำกลั่น 3 ส่วน

3. Phenate solution (ควรเตรียมใหม่ทุก ๆ 4-5วัน)ผสม NaOH 2.5 กรัมและ phenol 10.0 กรัมในน้ำกลั่น 100มิลลิลิตร

4. Rochelle salt ละลาย Rochelle salt($KNaC_4H_4O_6 4H_2O$) ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ต้ม 30 นาทีทิ้งให้เย็น จึงเติม $MnSO_4 2H_2O$ 50มิลลิกรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

5. Std.Ammonium Solution (0.3 mg/I of Nitrogen) ชั่ง NH_4CI 1.9079 กรัมละลายในน้ำกลั่น 500มิลลิลิตร (จะได้ความเข็มข้นของ ammonia Nitrogen 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น stock เก็บไว้ได้ 4-5 วัน)

5.1 ใช้ปิเปตดูดสารละลายมา 5 มิลลิลิตรnใส่ใน Vol.Flask 500 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร (จะได้ความเข้มข้นของ ammonia Nitrogen 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

5.2 ใช้ปิเปตดูดสารละลาย ammonia Nitrogen 10 ในข้อ 5.1) มา 15 มล. ใส่ใน Vol.Flask 500 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร (จะได้ความเข้มข้นของ ammonia Nitrogen 0.3มิลลิกรัมต่อลิตร ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

วิธีการ

1. กรองน้ำตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ด้วยกระดาษ Whatman No.42 (ห้ามใช้เครื่องปั้ม)

2. Pipet นำตัวอย่างที่กรองแล้ว 10 มิลลิลิตร ใส่ บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า พร้อมหยด Rochelle salt 1 หยด เติม Oxidizing solution 0.5 มิลลิลิตร และ Phenate solution 0.6 มิลลิลิตร

3. นำบีกเกอร์ออกจากเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ทิ้งไว้ 10นาที เพื่อให้เกิดสี แล้วนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 630 nm

4. เตรียม Reagent blank โดยใช้น้ำ (ammonia - free) 10 มิลลิลิตร และ Standard solution โดยใช้ Standard ammonium chloride (0.30 mg/I) 10 มิลลิลิตร แทนน้ำตัวอย่างและเติม Rochelle salt – manganous sulfat solution 1 หยดลงไปด้วยปล่อยให้เกิดสีโดยสมบูรณ์ตามข้อ 2 และ 3

5. ตั้งค่าความยาวคลื่นของเครื่อง Spectrophotometer ที่ 630 nm ใส่ Reagent blank แล้วตั้งค่า absorbance 0.0 (100% transmttance) แล้วดำเนินการอ่านค่า Transmittance ของน้ำตัวอย่าง และ Standard solution

6. คำนวณปริมาณ Total ammonia- Nitrogen ด้วยสมการ

$$C_1/c_2 = A_1/A_2$$

โดย C_1 = ความเข้มข้นของ Total ammonia- Nitrogen ใน Standard solution

C_2 = ความเข้มข้นของ Total ammonia- Nitrogen ใน Sample

A_1 = Absorbance ของ Standard solution

A_2 = Absorbance ของ Sample

การวิเคราะห์ไนเตรท ไนโตรเจน

(ศิริเพ็ญ, 2543)

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer
2. ตาชั่งละเอียด
3. Volumeter flask 100 ml
4. ขวดรูปชมพู่ 250 ml
5. ปีเปต
6. กระดาษกรอง Whatmann No.1, No.42

สารเคมี

1. Standard 0.02N H_2so_4

ทำกรดซัลฟิวริกเข้มข้นให้เจือจางโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ 1,000 ml โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$\frac{20}{\text{Normality of stock } H_2so_4}$ = mL stock H_2so_4 ซึ่งจะใช้ในการเตรียม 1,000 mL ของ 0.02N H2so4

2. Aluminium hydroxide ($Al(OH)_3$)

ละลาย $Al_2(So_4)_3$ (AR)125 g ในน้ำกลั่น 500 mL เติม NH_4OH จนเกิดตะกอนอย่างสมบูรณ์ รินเอาสารละลายใสเก็บโดยการกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง ทำการคนและทำให้ตกตะตอน เพื่อกำจัดคลอไรด์ ไนเตรท และ แอมโมเนีย

3. Standard silver surface solution

ละลาย Ag_2so_4 (CP) 4.397 g 1,000 mL

1 mL = 1 mg Cl

4. Phenoldisulfonic acid solution

ละลาย Phenol บริสุทธิ์ 25 g ในกรดซัลฟิวริคเข้มข้น 150 mL และเติม Fuming H_2SO_4 75 mL ต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมงโดยใช้ Water bath

5. 12 NaOH

ละลาย NaOH 480 g ในน้ำกลั่น และทำให้เป็น 1,000 mL

6. Standard nitrate solution

ก) ละลาย KNO (AR grade) 0.7216 g ในน้ำ 1,000 mL

ข) ปิเปตละลายมาตรฐานของไนเตรทมา 50 mL ระเหยให้แห้งบน water bath และเติม Phenoldisulfonic acid 2 mL จนตะกอนเปียก ใช้แท่งแก้วบดให้ตะกอนเข้ากับกรดให้เปียกทั่วถึงและทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 mL

1 mL = 10μ N = 44.26 μg No_3

วิธีการ

วิธี Phenoldisulphonic Acid

1.กรองน้ำ 70 – 75 mL โดยใช้กระดาษกรอง Whatmann No.1 หรือ 12

2.ใช้น้ำ 50 mL มาระเหยให้แห้งบน Water bath (ถ้าไม่มีอาจใช้ hotplate ที่มีอุณหภูมิต่ำแทน)

3.เติม Phenoldisulfonic acid 1 mL ลงบนตะกอนให้เปียกโดยทั่วถึงและทำให้เป็น 20 mL ด้วยน้ำกลั่น

4.เติม 12N NaOH จนกระทั้งสารละลายเป็นสีเหลืองเต็มที่ แต่ไม่ควรใช้เกิน 5-6 mL

5.กรองด้วยกระดาษกรอง rinse ภาชนะและกระดาษกรองและปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น

6.วัด % Transmittance โดยใช้ Spectrophometer ที่ช่วงคลื่น 425 nm

7.คำนวณ

$$\text{Mg/L N} = \frac{\text{A}}{\text{mL ของตัวอย่างในข้อ 2}}$$

เมื่อ A = μg No_3-N ที่อ่านจากการเทียบกับกราฟมาตรฐาน

หรือ Mg/L NO_3 = Mg/L N × 4.427

8. ปิเปต 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 , 1.0 , 1.5 , 2.0 , 3.0 ,4.0 และ 5.0 mL Standard KNO_3 และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น เติม 12N NaOH 2 mL แล้วนำไปวัด % Transmittance พร้อมด้วย blank

การวิเคราะห์ออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัส

(ศิริเพ็ญ, 2543)

อุปกรณ์

1. Phenolphthalein indicator

ละลาย Phenolphthalein disodium salt (500 mg) ในน้ำกลั่น 100 mL หรือละลาย Phenolphthalein 0.5 g ใน 95 % Ethyl (หรือ isopropyl) alcohol 50 mL และเติมน้ำ 50 mL

2. Strong acid solution

ค่อย ๆ ริน Cone.H2SO4 300 mL ลงในน้ำกลั่น 600 mL เมื่อสารละลายแล้วเติม cone.HNO_3 4.0 mL และทำให้เป็น 1,000 mL

3. Ammonium molybdate regeagent (l)

ละลาย $(NH_4)_6MO_7O_{24}.4H_2O$ 25g ในน้ำกลั่น 175 mL ค่อยๆริน cone. H_2SO_4 280 mLลงในน้ำกลั่น 400 mL และทิ้งไว้เย็น เอาสารละลาย Molybdate เติมลงไป และทำให้เป็น 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่น

4. Stannous chloride reagent (l)

ละลาย $SnCl_2.2H_2O$ 25g ใน Gltcerol 100 mL อุ่นบน Water bath และคนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด

5. Standard potassium dihydrogen phosphate solution

ละลาย Anhydrous KH_2PO_4 219.5 mg ในน้ำกลั่น และทำให้เป็น 1,000 mL (1mL = 50.0 µg PO_4-P)

วิธีการ

วิธีการ Stannous chloride

1. Preliminary sample treatment

1.1 กรองน้ำด้วยกระดาษกรองให้ได้น้ำ 100 mL ที่ไม่มีสีและไม่ขุ่น(ควรจะมี P ไม่เกิน 0.2 mg)

1.2 เติม Phenolphthalein indicator 0.05 mL (1 หยด) ถ้าน้ำเปลี่ยนเป็นสีชมพู เติม strong acid solution ทีละหยดจนกระทั้งสีหายไป(ถ้าใช้กรดมากกว่า 0.25 mL = 5 หยด ให้ลดปริมาณน้ำลงครึ่งหนึ่งและปรับให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น)

2. Color development

2.1 เติม Molybdate reagent (l) 4 mL เขย่าให้ทั่ว

2.2 หยด Stannous chloride reagent (l) 0.5 mL

หมายเหตุ: อัตราการเปลี่ยนแปลงของสีและความเข้มข้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของสารละลาย ถ้าอุณหภูมิเพิ่ม 1° C จะทำให้สีเข้มข้นขึ้น 1 % ดังนั้นตัวอย่าง สารละลายมาตรฐานและน้ำยา (reagent) ควรจะอยู่ภายในอุณหภูมิไม่ต่างกันเกิน 2° C และควรอยู่ในอุณหภูมิ 20 – 30 °C

3. Color measurement

ให้วัด % Absorbance ด้วย Spectrophotometer ที่ช่วงแสง 690 nm แต่ ต้องทำภายในเวลา 10 นาที แต่ก่อน 12 นาที (ใช้ช่วงเวลาเดียวกัน) และเปรียบเทียบกับ Standard phosphate จาก Calibration curve และมีน้ำกลั่นเป็น Blank

4. คำนวณ

$$\text{Mg/L Orthophosphate – P} = \frac{\text{mg Orthophosphate P ที่วัดได้} \times 1{,}000}{\text{mL sample}}$$

หมายเหตุ:

1. เมื่อเติม Molybdate reagent จะเกิด Molybdophosphoric acod ขึ้น และจะถูก Reduce ให้ได้สีน้ำเงิน-ฟ้า ของ Molybdenum blue ด้วย Stannous chloride

2. การล้างเครื่องแก้วต้อง Rinse ด้วยกรดทุกครั้งเพื่อกำจัด P

3. กรดสำหรับล้างเครื่องแก้วใช้ 10 % cone. H_2SO_4

4. เตรียม Blank และทำกราฟมาตรฐานควบคู่ด้วยทุกครั้งเหมือนกับการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกประการ

ภาคผนวก จ

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ว่าที่ร้อยตรีณรงค์กิ่งเพชร เปาป่า	
เกิดเมื่อ	7 กรกฎาคม 2526	
ภูมิลำเนา	2 หมู่ 12 ตำบลและ อำเภอทุ่งช้าง จังหวัดน่าน 55130	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนปัว จังหวัดน่าน
	พ.ศ. 2550	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตน่าน