ผลของเมลามีนและกรดไซยานูริคต่อการเจริญเติบโต, สีผิว และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตในปลาดุกพันธุ์ผสม

EFFECTS OF MELAMINE AND CYANURIC ACID ON GROWTH, SKIN COLOR AND HISTOLOGICAL CHANGES IN THE KIDNEY OF HYBRID *CLARIAS* CATFISH

นัทท์ นันทพงศ์[1] สุณีย์ หวันเหล็ม[2] มะลิ บุณยรัตผลิน[3] และวุฒิพร พรหมขุนทอง[4]

[1]นักศึกษาหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (nut_aqua@hotmail.com)

[2]อาจารย์ประจำคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[3]ที่ปรึกษากรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

[4]อาจารย์ประจำภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริคต่อการเจริญเติบโต สีผิวลำตัว และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตในปลาดุกพันธุ์ผสม (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) อาหารทดลองมี 5 สูตร กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีปริมาณโปรตีน (35%) และไขมัน (8%) ใกล้เคียงกัน โดยสูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมที่ไม่เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริค สูตรที่ 2 และ 3 เสริมเมลามีนร่วมกับกรดไซยานูริคที่ระดับ 5+5 และ 10+10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ สูตรที่ 4 เสริมเมลามีนอย่างเดียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และสูตรที่ 5 เสริมกรดไซยานูริคอย่างเดียว 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร แต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ ใช้ปลาดุกพันธุ์ผสมน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 2.5 กรัม/ตัว ระยะเวลาทดลอง 4 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่า เมลามีนและกรดไซยานูริคที่ผสมลงในอาหารทั้งในรูปแบบเชิงเดี่ยวและผสมร่วมกัน ส่งผลกระทบทางลบต่อการเจริญเติบและประสิทธิภาพการใช้อาหารเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของการเปลี่ยนแปลงสีผิวลำตัวในปลาที่ได้รับเมลามีนและกรดไซยานูริค โดยพบว่าสีผิวของปลามีสีดำเข้มขึ้น อีกทั้งยังพบความผิดปกติในเนื้อเยื่อไตโดยพบผลึกสีน้ำตาลทองของเมลามีนไซยานูเรต (melamine-cyanurate) ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีเมลามีนและกรดไซยานูริค ผลจากการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบถึงความเป็นพิษและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับเมลามีนและกรดไซยานูริค

คำสำคัญ: เมลามีน, กรดไซยานูริค, ปลาดุกพันธุ์ผสม

ABSTRACT

The effects of dietary supplementation of melamine (MEL) and cyanuric acid (CYA) on growth performance, feed utilization and histological changes in hybrid *Clarias* catfish, *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus* were evaluated. Five isonitrogenous (35% crude protein) and isolipidic (8% lipid) experimental diets were formulated as follows: Diet 1 (without MEL and CYA served as control diet); diets 2-3 (with MEL and CYA at, 5+5 and 10+10 g/kg diet, respectively); diet 4 (with only MEL at 10 g/kg diet); and diet 5 (with CYA alone at 10

g/kg diet). Experimental diets were randomly assigned to three replicate tanks and fed to hybrid *Clarias* catfish (mean initial weight 2.5 g) for 4 weeks. The results from this study indicated that all the diets with MEL and CYA singly or in combination had adverse effects on growth performance and feed utilization compared to fish fed the control diet. Moreover, MEL and CYA induced darkening skin coloration. The inclusion of MEL and CYA affected kidney tissues of fish. Golden-brown melamine–cyanurate crystals were recorded in the kidney of fish with combined MEL and CYA supplementation. This study provides the understanding of toxicity and pathological changes in hybrid *Clarias* catfish exposed to MEL and CYA.

Keywords: melamine, cyanuric acid, hybrid *Clarias* catfish

1. บทนำ

คุณภาพของโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำจัดเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและเป็นตัวกำหนดคุณภาพและราคาของอาหารสัตว์น้ำ ในช่วงที่ผ่านมาราคาอาหารสัตว์น้ำมีการปรับตัวสูงขึ้นเป็นผลเนื่องมาจากวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของโปรตีนมีราคาสูงขึ้น ทำให้มีกลุ่มคนบางกลุ่มปลอมปนวัตถุดิบบางชนิดลงในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน ดังที่พบรายงานการปลอมปนเมลามีน (melamine, 2,4,6-amino-s-triazine) และอนุพันธ์ของเมลามีน ได้แก่ กรดไซยานูริค (Cyanuric acid; 2,4,6-trihydroxy-1,3,5-triazine) ในวัตถุดิบและอาหารสัตว์น้ำบางชนิด เนื่องจากสารดังกล่าวมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบโดยน้ำหนักสูง ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปจะคำนวณปริมาณโปรตีนโดยเทียบจากปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ดังนั้นเมื่อนำไปสารดังกล่าวไปปลอมปนลงในอาหารจะส่งผลให้โปรตีนในตัวอย่างเพิ่มขึ้นหรือที่เรียกว่า “fake protein” ซึ่งเมลามีนและกรดไซยานูริคนอกจากไม่มีคุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยังก่อให้เกิดพิษต่อสัตว์น้ำอีกด้วย โดยพบรายงานการศึกษาด้านความเป็นพิษในปลานิลแดง (Phromkunthong et al., 2015a) ปลากะพงขาว (Phromkunthong et al., 2015b) ปลาดุกด้าน (Pirarat et al., 2012) ด้วยเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเมลามีน กรดไซยานูริค และปฏิสัมพันธ์ของสารทั้งสองในระดับต่างๆ ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอก การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของปลาดุกพันธุ์ผสม ซึ่งจัดเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของไทย ผลการทดลองที่ได้จะเป็นแนวทางเพื่อทราบถึงผลกระทบของสารทั้งสองที่มีต่อปลาดุกพันธุ์ผสม รวมถึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นแก่เกษตรกรในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นในอาหารสัตว์น้ำต่อไป

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของเมลามีน กรดไซยานูริค และปฏิสัมพันธ์ของสารทั้งสองต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตในปลาดุกพันธุ์ผสม

3. การดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีวิจัย

ศึกษาผลของเมลามีนและกรดไซยานูริคระดับต่างๆ ในอาหารปลาดุกพันธุ์ผสม วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) โดยใช้อาหารทดลอง 5 สูตร สูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุมที่ไม่เสริมเมลา

มีนและกรดไซยานูริค สูตรที่ 2 และ 3 เสริมเมลามีนและกรดไซยานูริคที่ระดับ 5+5 และ 10+10 กรัม/กิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ สูตรที่ 4 เสริมเมลามีน 10 กรัม/กิโลกรัม และสูตรที่ 5 เสริมกรดไซยานูริค 10 กรัม/กิโลกรัมอาหาร ให้อาหารทดลองวันละ 2 มื้อ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. ทำการทดลองในตู้กระจกขนาด 45x91x45 เซนติเมตร จากนั้นเติมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนให้ได้ปริมาตร 150 ลิตร ควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมโดยเปลี่ยนถ่ายน้ำ 40 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน ระยะเวลาทดลอง 4 สัปดาห์

3.2 การเตรียมอาหารทดลอง

ก่อนทำอาหารทดลองจะนำวัตถุดิบไปตรวจสอบเมลามีนและกรดไซยานูริคโดยใช้เทคนิค Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) เพื่อยืนยันว่าวัตถุดิบไม่มีการปนเปื้อนจากสารทั้งสอง อาหารทดลองเป็นอาหารเม็ดจมที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ กำหนดให้อาหารทุกสูตรมีโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ (โปรตีนที่ได้จากวัตถุดิบ) ไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานรวม 400 กิโลแคลอรี/อาหาร 100 กรัม ทำการเสริมเมลามีน (MEL, 99.5% purity) และกรดไซยานูริค (CYA, 98% purity) ตามที่กำหนดในอาหารสูตรที่ 2-5 (รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 3.1) โดยแทนที่เซลลูโลส รายละเอียดสูตรอาหารและวัตถุดิบที่ใช้แสดงในตารางที่ 1

3.3 การเตรียมปลาทดลอง

นำปลาดุกพันธุ์ผสมน้ำหนักเฉลี่ย 1 กรัม/ตัว จากฟาร์มเอกชน อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร ในช่วงของการอนุบาลและปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสถานที่ทดลอง จะให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) วันละ 2 มื้อ เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. เมื่อปลาทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย 2-3 กรัม/ตัว (จากการสุ่มชั่ง) จึงคัดปลาที่มีสุขภาพแข็งแรงและมีขนาดใกล้เคียงกันลงในตู้ทดลองๆ ละ 10 ตัว

3.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.4.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก ในระหว่างการทดลองสังเกตและบันทึกพฤติกรรมการยอมรับอาหาร และลักษณะผิดปกติภายนอกได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสีของลำตัว การตกเลือด และการเกิดบาดแผลบริเวณส่วนต่างๆ

3.4.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตาย ชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหาร 1 วันก่อนชั่งน้ำหนัก) บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลาได้รับและจำนวนปลาตลอดระยะเวลาทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (survival rate) การเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ประสิทธิภาพการใช้อาหารได้แก่ การกินอาหาร (feed intake, FI) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate, FCR)

3.4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 สุ่มตัวอย่างปลา 9 ตัวจากแต่ละชุดการทดลอง ผ่าตัดเก็บชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไตตอนท้าย ซึ่งเป็นอวัยวะหลักที่ได้รับผลกระทบจากเมลามีนและกรดไซยานูริค โดยบันทึกความผิดปกติภายนอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่าเช่นการตกเลือด สี จากนั้นรักษาสภาพตัวอย่างเนื้อเยื่อในน้ำยา 10% neutral buffer formalin นำตัวอย่างผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง automatic tissue processor และตัดด้วยเครื่องโรตารีไมโครโตม (rotary microtome) ความหนา 3 ไมครอนและย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin (H&E) ตามวิธีของ Bancroft (1967) ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

3.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one way Analysis of Variances, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 11.5)

ตารางที่ 1 รายละเอียดของสูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ (กรัม/กิโลกรัม)	ปริมาณเมลามีน (MEL) และกรดไซยานูริค (CYA) ที่เสริมลงในอาหาร (กรัม/กิโลกรัม)				
	สูตรควบคุม	MEL+CYA: 5+5	MEL+CYA: 10+10	MEL:10	CYA:10
ปลาป่น	250	250	250	250	250
กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน	250	250	250	250	250
ถั่วลิสงคั่วป่น	150	150	150	150	150
รำละเอียด	100	100	100	100	100
แป้งข้าวจ้าว	147	147	147	147	147
น้ำมันปลา	10	10	10	10	10
น้ำมันถั่วเหลือง	10	10	10	10	10
วิตามินและแร่ธาตุผสม	3	3	3	3	3
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	10	10	10	10	10
สารเหนียว (alpha-starch)	50	50	50	50	50
เมลามีน (MEL)	0	5	10	10	0
กรดไซยานูริค (CYA)	0	5	10	0	10
เซลลูโลส	20	10	0	10	10
รวม	1000	1000	1000	1000	1000

4. ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะภายนอก

พบการเปลี่ยนแปลงสีผิวบริเวณลำตัวในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริมเมลามีนและกรดไซยานูริคทุกชุดการทดลองเมื่อทำการทดลองผ่านไป 1 สัปดาห์ โดยพบการก่อตัวของเม็ดสีบริเวณผิวหนังเพิ่มมากขึ้นทำให้สีผิวเปลี่ยนเป็นสีดำคล้ำ ตรวจพบจำนวนปลาที่แสดงความปกติเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (MEL+CYA: 10+10) มีจำนวนปลาที่แสดงความผิดปกติสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ โดยตรวจพบ 26 ตัวจาก 30 ตัว คิดเป็น 86.67% (ภาพที่ 1B) ทั้งนี้ตลอดระยะเวลาทดลองไม่พบความผิดปกติในปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมซึ่งสีผิวบริเวณลำตัวมีสีขาวปนเทาปกติ (ภาพที่ 1A)

4.2 การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายในปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MEL+CYA: 5+5) และสูตรที่ 5 (CYA:10) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 3 (MEL+CYA: 10+10) และสูตรที่ 4 (MEL:10) มี

น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายต่ำที่สุด ($p<0.05$) ค่าน้ำหนักเฉลี่ยสอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะโดยพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด ($p<0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (MEL:10) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) ด้านประสิทธิภาพการใช้อาหารพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริมเมลามีนและกรดไซยานูริคทุกชุดการทดลองมีการกินอาหารลดลงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) ในส่วนของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรที่ 3 (MEL+CYA: 10+10) และสูตรที่ 4 (MEL:10) ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (MEL+CYA: 5+5) และสูตรที่ 5 (CYA:10) (ตารางที่ 3) ทั้งนี้ตลอดระยะเวลาทดลองไม่พบปลาตาย ทำให้อัตรารอดของทุกชุดการทดลองมีค่า 100% (ตารางที่ 3)

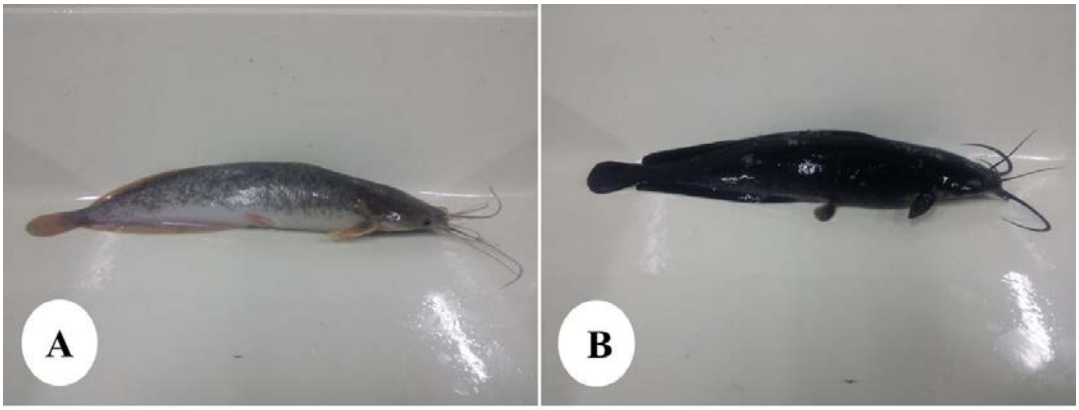
4.3 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อไตในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริมเมลามีนร่วมกับกรดไซยานูริค (สูตรที่ 2 และ 3) โดยสีของไตเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการเตรียมสไลด์สด (wet mount) พบผลึกสีเหลืองทองตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 2A) สอดคล้องกับการตรวจสอบด้วยสไลด์ถาวรที่ย้อมด้วยสี H&E ที่พบผลึกสีเหลืองทองของเมลามีนไซยานูเรต (melamine-cyanurate crystal) ตกค้างในส่วนของท่อไต (renal tubule) (ภาพที่ 2B) ในส่วนของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (MEL:10) และสูตรที่ 5 (CYA:10) พบนิวเคลียสตายเห็นเป็นจุดเข้ม (pyknotic nuclei) (ภาพที่ 2C) แต่ไม่พบผลึกของเมลามีนไซยานูเรตตกค้างในเนื้อเยื่อ ทั้งนี้ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อไตจากการตรวจสอบภายนอกและการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม

ตารางที่ 2 ความผิดปกติที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสีผิวบริเวณลำตัวของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัยที่ศึกษา	ปริมาณเมลามีน (MEL) และกรดไซยานูริค (CYA) ที่เสริมลงในอาหาร (กรัม/กิโลกรัม)				
	สูตรควบคุม	MEL+CYA: 5+5	MEL+CYA: 10+10	MEL:10	CYA:10
สัปดาห์ที่ 1	0% (0/30)	10.00% (3/30)	16.67% (5/30)	13.33% (4/30)	6.67% (2/30)
สัปดาห์ที่ 2	0% (0/30)	26.67% (8/30)	40.00% (12/30)	30.00% (9/30)	16.67% (5/30)
สัปดาห์ที่ 3	0% (0/30)	50.00% (15/30)	63.33% (19/30)	46.67% (14/30)	26.67% (8/30)
สัปดาห์ที่ 4	0% (0/30)	80.00% (24/30)	86.67% (26/30)	76.67% (23/30)	40.00% (12/30)

ค่าความผิดปกติ (%) คำนวณจากจำนวนปลาที่พบความผิดปกติของสีผิวบริเวณลำตัว/จำนวนปลาที่สังเกตทั้งหมดของแต่ละชุดการทดลองในช่วงเวลานั้น

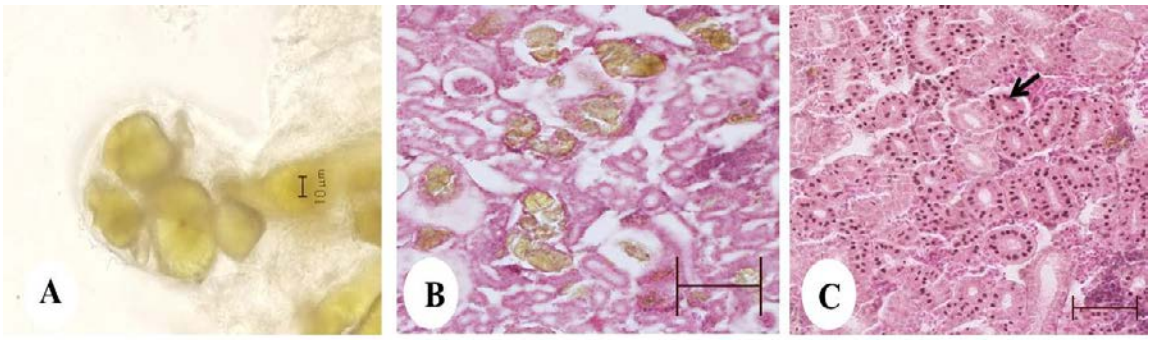


ภาพที่ 1 แสดงความผิดปกติของสีผิวบริเวณลำตัวในปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริมเมลามีนและกรดไซยานูริค (B) เปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่มีสีผิวบริเวณลำตัวเป็นปกติ (A)

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตายของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปัจจัยที่ศึกษา	ปริมาณเมลามีน (MEL) และกรดไซยานูริค (CYA) ที่เสริมลงในอาหาร (กรัม/กิโลกรัม)				
	สูตรควบคุม	MEL+CYA: 5+5	MEL+CYA: 10+10	MEL:10	CYA:10
น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	2.50±0.01^{a}	2.50±0.01^{a}	2.50±0.04^{a}	2.50±0.04^{a}	2.51±0.02^{a}
น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม/ตัว)	24.81±1.93^{c}	17.96±0.83^{b}	15.75±0.71^{a}	13.98±0.78^{a}	19.82±0.23^{b}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน)	7.64±0.24^{e}	6.56±0.15^{c}	6.14±0.10^{b}	5.73±0.15^{a}	6.89±0.04^{d}
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)	26.70±2.44^{c}	19.50±0.87^{ab}	18.33±0.42^{a}	17.66±0.64^{a}	21.88±2.62^{b}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.20±0.02^{a}	1.27±0.12^{ab}	1.38±0.05^{bc}	1.54±0.08^{c}	1.26±0.15^{ab}
อัตรารอดตาย (%)	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)



ภาพที่ 2 แสดงเนื้อเยื่อไตของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรที่มีการเสริมเมลามีนและกรดไซยานูริค
A: ผลึกสีเหลืองทองที่ตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อจากการศึกษาโดยการเตรียมสไลด์สด (wet mount)
B: ผลึกเมลามีนไซยานูเรตที่ตกค้างในส่วนของท่อไต (renal tubule) (200×, scale bar = 100 μm)
C: ความผิดปกติของนิวเคลียสในเซลล์ที่ตายเห็นเป็นจุดเข้ม (pyknotic nuclei, ศรชี้) (400×, scale bar = 50 μm)

5. การอภิปรายผล

ความเป็นพิษของเมลามีนและอนุพันธ์เช่น กรดไซยานูริค ส่งผลกระทบทางลบต่อตัวสัตว์น้ำในหลายด้าน ดังที่มีรายงานการวิจัยในสัตว์น้ำหลายชนิดไม่ว่าจะเป็น การเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ ประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันที่ลดลง รวมไปถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นตามอวัยวะต่างๆ จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเมลามีนและกรดไซยานูริคในทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ) ต่ำกว่าปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม Ma et al. (2011) รายงานว่าเมลามีนเข้าไปมีผลยับยั้งกระบวนการเมทาบอลิซึมบางวัฏจักรที่มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโต การสังเคราะห์และการซ่อมแซม DNA และ RNA ระบบภูมิคุ้มกัน ตลอดจนการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ในตัวสัตว์น้ำ ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ลดลง นอกจากนี้เมลามีนและกรดไซยานูริคซึ่งเป็นสารพิษยังส่งผลโดยตรงต่อตับและไตซึ่งเป็นอวัยวะหลักที่ทำหน้าที่กำจัดสารพิษ การตกค้างในอวัยวะรวมถึงการเสื่อมสลายของเนื้อเยื่อส่งผลกระทบโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา (Pirarat et al., 2012; Reimschuessel et al., 2010) ในส่วนของความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณลำตัวของปลาที่ได้รับเมลามีนและกรดไซยานูริค สอดคล้องกับรายงานของปวีณา จันทร์เล็ก และคณะ (2552) ซึ่งพบความผิดปกติของสีผิวปลาดุกพันธุ์ผสมจากการได้รับเมลามีน และ Pirarat et al. (2012) รายงานว่าสีผิวของปลาดุกด้านเปลี่ยนเป็นสีดำเข้มภายหลังได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเมลามีนและกรดไซยานูริค Wu et al. (2009) พบการตกค้างของเมลามีนในสมองหนูภายหลังได้รับสารดังกล่าว ทั้งนี้สมองเป็นอวัยวะสำคัญที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ของร่างกายรวมถึงการสร้างเม็ดสี ซึ่งอาจสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าปลาที่ได้รับเมลามีนและกรดไซยานูริคมีการเปลี่ยนแปลงสีผิวที่เกิดจากการสร้างเม็ดสีที่ผิดปกติ อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงต่อไป

6. บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเมลามีนและกรดไซยานูริคส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของปลา ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการกำหนดแนวทางป้องกันเพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นในกรณีที่มีการปนเปื้อนเมลามีนและกรดไซยานูริคในอาหารสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงผลกระทบในสัตว์น้ำจากการได้รับเมลามีนและกรดไซยานูริคในปริมาณที่ต่ำมากๆ ต่อเนื่องเป็นเวลานาน รวมถึงควรมีการศึกษาถึงปริมาณของสารดังกล่าวที่ตกค้างในส่วนต่างๆ ของสัตว์น้ำซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

ปวีณา จันทร์เล็ก, มะลิ บุณยรัตผลิน และวุฒิพร พรหมขุนทอง. (2552). ผลของเมลามีน (melamine) ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในปลาดุกพันธุ์ผสม [*Clarias macrocephalus* (Gunther) x *Clarias gariepinus* (Burchell)]. *วารสารการประมง* 62: 331-340.

Bancroft, J.D. (1967). Histochemical Techniques. Butterworths, London.

Ma, C., Kang, H., Liu, Q., Zhu, R. & Cao, Z. (2011). Insight into potential toxicity mechanisms of melamine: An in silico study. *Toxicology* 283: 96-100.

Phromkunthong, W., Choochuay, P., Kiron, V., Nuntapong, N. & Boonyaratpalin, M. (2015a). Pathophysiological changes associated with dietary melamine and cyanuric acid toxicity in red tilapia. *J. Fish Dis*. 38: 161-173.

Phromkunthong, W., Nuntapong, N., Wanlem, S. & Boonyaratpalin, M. (2015b). A study on growth, histopathology and oxidative stress in Asian sea bass on diets with various loadings of melamine and cyanuric acid adulterants. *Aquaculture* 435: 336-346.

Pirarat, N., Katagiri, T., Chansue, N., Ponpornpisit, A., Endo, M. & Maita, M. (2012). The pathological effects of melamine and cyanuric acid in the diet of walking catfish (*Clarius batrachus*). *J. Comp. Pathol*. 147: 259-266.

Reimschuessel, R., Evans, E.R., Stine, C.B., Hasbrouck, N., Mayer, T.D., Nochetto, C. & Gieseker, C.M. (2010). Renal crystal formation after combined or sequential oral administration of melamine and cyanuric acid. *Food Chem. Toxicol*. 48: 2898-2906.

Wu, Y.T., Huang, C.M., Lin, C.C., Ho, W.A., Lin, L.C., Chiu, T.F., Tarng, D.C., Lin, C.H. & Tsai, T.H. (2009). Determination of melamine in rat plasma, liver, kidney, spleen, bladder and brain by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr*. 1216A: 7595-7601.