การนำสารสีแอสตาแซนทินจากการเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนผสมในอาหารปลาสวาย

A Mixture of Astaxanthin Pigment Produced from Yeast Cultured in Sewage of Thai Rice Noodles in Feed for Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)

ชุตินุช สุจริต[1*] ไวกูณฐ์ ฤทธิ์รุฒม์[2] และดวงพร อมรเลิศพิศาล[3]

Chutinut Sujairit[1*] Waigoon Rittirut[2] and Doungporne Amornlerdpison[3]

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตรัง, 92150

[2]เคยทำงานในมหาวิทยาลัยพะเยา

[3]บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1] Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, 92150.

[2] Used to work in Phayao University.

[3] Graduate School Maejo University, 50290

*Corresponding author: s.chutinut58@gmail.com

บทคัดย่อ

การนำสารสีแอสตาแซนทินจากเชื้อยีสต์ *Phaffia rhodozyma* TISTR 5370 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่เจือจางด้วยน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนอัตราส่วน 1:3 (CN medium) ประกอบด้วย น้ำตาลโตนด ร้อยละ 5, กลูโคส, ยีสต์สกัด, K_2HPO_4 , NaCl, $MgSO_4$ และ $CaCl_2$ เท่ากับ 10 , 3 , 0.1 , 0.01 , 0.01 , 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เติมกรด critic acid ร้อยละ 1 มีพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที มีความเข้มข้นแสงที่ 500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 10.30 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารแอสตาแซนทิน เท่ากับ 930 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์ นำสารสีแอสตาแซนทินที่ได้นำมาผสมอาหารเม็ด มีความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.20, 0.40 และ 0.80 เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ปลาสวายมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงสุดในสูตรอาหารที่เสริมด้วยสารแอสตาแซนทินที่ร้อยละ 0.40 เท่ากับ 18.85 กรัมต่อตัว มีอัตราการรอดตายร้อยละ 98 มีค่าใกล้เคียงกันทุกสูตรการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำปลาสวายวิเคราะห์ปริมาณสารสีแอสตาแซนทินที่พบในเนื้อปลาสวายแล่ เท่ากับร้อยละ 0.4 เมื่อนำเนื้อปลาสวายมาทำการแล่และแช่เย็น สามารถยืดอายุปลาสวายแล่ได้เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่ามีค่า TBA เท่ากับ 0.5 mg.malonaldehyde/kg

คำสำคัญ: สารสีแอสตาแซนทิน น้ำทิ้งโรงงานขนมจีน ปลาสวาย อาหารปลา

Abstract

Extraction of astaxanthin pigment was conducted by incubating a strain of yeast, *Phaffia rhodozyma* TISTR 5370, in sewage from Thai rice noodles production. Coconut juice solute was added to raw sewage in the ratio of 1:3. The solute was further mixed by palm sugar, citric acid, glucose, yeast extract, K_2HPO_4, NaCl, $MgSO_4$ and $CaCl_2$ at 5% w/v, 1% w/v, 10, 3, 0.1, 0.01, 0.01

and 0.01 g/L, respectively. The pH was initially adjusted to 5.5. Yeast incubation was carried out on shaker spinning at the rate of 200 rpm, under light intensity of 500 lux for 12 hrs/day and at room temperature of 25° C. An amount of cell suspension obtained was 10.30 g/L with 930 % fresh weight content of astaxanthin. All essential amino acids (EAA) were obtained, including lysine, methionine and valine. Astaxanthin pigment produced from this experiment was added to fish food pellet in the ratios of 0%, 0.20%, 0.40% and 0.80 %. The food pellet was fed to striped catfish for 3 months. The result showed that the fish fed with a feeding mixture of 0.40 % astaxanthin content gained the highest weight of 18.85 g per fish with a survival rate of 98%. The survival rate was not different among treatments at significant level of $p<0.05$. The amount of astaxanthin found in striped catfish fillets was 0.40 %. The shelf life of chilled striped catfish fillets was up to 60 days with total volatile acids (TBA) at 0.50 mg.malonaldehyde/kg

keywords: astaxanthin, sewage of Thai rice noodles, Striped catfish, fish pellet

คำนำ

ปลาสวายเป็นสัตว์น้ำที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็วและมีปริมาณไขมันในเนื้อสูง การเลี้ยงที่เหมาะสมถูกวิธี ส่งผลให้ปลาสวายที่ไม่มีกลิ่นโคลน กลิ่นคาวลดลงจะเป็นที่ต้องการของตลาดและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค หากเลี้ยงปลาสวายในบริเวณที่ไม่ได้ใส่ใจในเรื่องสิ่งแวดล้อมอาจส่งผลต่อการเกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์และส่งผลเสียต่อราคาขาย (Wasson *et al.*,1991) อีกทั้งปลาสวายเป็นปลาที่มีปริมาณไขมันในเนื้อปลาค่อนข้างสูง หากเก็บรักษาเนื้อปลาไม่ดีเท่าที่ควรอาจจะเกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการได้ สารกันหืนนอกจากจะยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน สารสีแอสตาแซนทินเป็นกลุ่มสารสีแซนโทฟิลล์มีคุณสมบัติเป็นสารกันหืนที่มีออกซิเจนสูง ๆ สารสีแอสตาแซนทินมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าแคโรทีนอยด์อื่นๆ (Terao, 1989) ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระได้ดี Sigurgisladottir *et al., (*1994) ได้ทดลองเลี้ยงปลาแซลมอนโดยใช้แอสตาแซนทินและโทโคเฟอรอล เพื่อเปรียบเทียบลักษณะและรสชาติของเนื้อปลา พบว่าสีส้มแดงของเนื้อปลาที่ได้จากการเติมสารแอสตาแซนทินมีลักษณะและรสชาติของเนื้อดีขึ้น Boonyaratplin (1994) ทดลองศึกษาผลการเสริมแคนเทนทรินและแอสตาแซนทินระดับต่าง ๆ ในอาหารต่อกุ้งกุลาดำ ทดลอง 6 สูตร ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การเสริมรงควัตถุทั้ง 2 ชนิด ไม่มีผลต่อการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหาร เมื่อเสริมแอสตาแซนทิน 50 มิลลิกรัม / อาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงกุ้ง 4 สัปดาห์ เพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งมีสีตามที่ตลาดต้องการ ผู้วิจัยมีความสนใจในการนำสารสีแอสตาแซนทินมาเสริมในอาหารเลี้ยงปลาสวายเพื่อที่ลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ซึ่งกลิ่นหืนในเนื้อปลาพบได้ในปลาที่มีไขมันในเนื้อค่อนข้างสูง ในขณะเดียวกันสารแอสตาแซนทินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยืดอายุเนื้อปลาสวายแล่ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหัวเชื้อและการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารสีแอสตาแซนทิน

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดลอง *Phaffia rhodozyma* TISTR 5370 ได้ซื้อจากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี การเก็บรักษาเชื้อในอาหารวุ้นเอียง YM ใน 40% glycerol ก่อนทำการทดลองต้องมีการกระตุ้นการเจริญเติบโตในอาหาร YM broth ซึ่งประกอบด้วย 1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% malt extract, 0.3% yeast extract ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ใส่อาหารเหลว 50 มล.เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที มีความเข้มแสงที่ 500 ลักซ์ โดยใช้หลอดไฟแบบ cool white fluorescent เป็นระยะเวลา 24-48 ชม. โดยพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 ปรับพีเอชด้วย 1N HCl ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองใช้ 10 % มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.5 จะได้หัวเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^7 – 10^8 cfu/ml (Sujarit *et al*., 2017) ในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Phaffia rhodozyma* TISTR 5370 ในอาหารน้ำมะพร้าว ที่เจือจางด้วยน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนในอัตราส่วน 1:3 (CN medium) เติมน้ำตาลตาลโตนดร้อยละ 5 กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร, ยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 0.1 กรัมต่อลิตร, NaCl 0.01 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.01 กรัมต่อลิตร และ $CaCl_2$ 0.01 กรัมต่อลิตร กรด critic acid ร้อยละ 1 มีพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที มีความเข้มข้นแสงที่ 500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การสกัดสารสีแอสตาแซนทิน

นำเซลล์ยีสต์ที่ได้จากสูตร CN medium มาทำการอบแห้ง freeze-dried หลังจากนั้น นำมาสกัดเพื่อให้ได้สารสีแอสตาแซนทินโดยใช้วิธีของ Jian-Ping *et al*., (1997) และ Dominguez and Torres (2004) เพื่อนำสารสีแอสตาแซนทินไปใช้ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาสวาย โดยมีทั้งหมด 4 สูตรดังนี้ (ดัดแปลงสูตรอาหาร Samranrat *et al*., 2011) (Table 1)

สูตรที่ 1 สูตรควบคุม

สูตรที่ 2 อาหารเลี้ยงปลาสวายผสมสารแอสตาแซนทีนร้อยละ 0.20

สูตรที่ 3 อาหารเลี้ยงปลาสวายผสมสารแอสตาแซนทีนร้อยละ 0.40

สูตรที่ 4 อาหารเลี้ยงปลาสวายผสมสารแอสตาแซนทีนร้อยละ 0.80

นำอาหารที่เตรียมไว้ชนิดเม็ดมาเกลี่ยบนถาดอะลูมิเนียม นำสารสกัดแอสตาแซนทินมาคลุกเคล้าให้เข้ากับอาหารเม็ดจนทั่วตามสูตรที่ได้กำหนดไว้ อาหารทุกสูตรจะถูกนำไปผึ่งลมในที่ร่ม เป็นเวลา 1 วัน ในห้องที่มีอากาศถ่ายเท เมื่ออาหารแห้งบรรจุในถุงพลาสติกปิดผนึกเพื่อลดการสัมผัสอากาศและนำเข้าเก็บรักษาตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (Klnongnu *et al*., 2010) เมื่อนำมาวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละสูตร (Table 2) ปลาสวายที่ใช้ในการศึกษาเป็นลูกปลาที่ได้จากการเพาะพันธุ์จากฟาร์มเอกชน มีอายุประมาณ 2 เดือน นำมาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพให้คุ้นเคยกับการทดลอง ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1 ตัน ในอาหารเม็ดสูตรควบคุม วันละ 2 มื้อ และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ การปล่อยในตู้กระจกใช้ปลาสวายจำนวน 30 ตัว ขนาดของตู้กระจกขนาด 60x150 เซนติเมตร จำนวนซ้ำของการเลี้ยง 3

ซ้ำ ขนาดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นของปลาทดลอง 4.9 กรัม เลี้ยงปลาสวายเป็นระยะเวลา 3 เดือน มีการให้อาหารทุกเช้าและเย็น บันทึกข้อมูลน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการรอดตายและคุณภาพน้ำที่ทดลองเลี้ยงปลา เป็นต้น เมื่อครบกำหนดมีการนำเนื้อปลาสวายมาทำการวิเคราะห์สารสี (Jian-Ping *et al.*, 1997; Dominguez and Torres , 2004) วิเคราะห์วิเคราะห์ค่าความหืน TBA (AOAC, 2000) ทำการทดสอบประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภค สำหรับปลาสวายแล่ ได้แก่ สี กลิ่น ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และคุณลักษณะความชอบโดยรวม โดยใช้การประเมินความชอบผลิตภัณฑ์แบบ 9-Point Hedonic Scale โดยผู้ทดสอบชิมทั่วไปที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน นำผลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan's multiple rang test (DMRT)

ผลการวิจัย

ผลการทดลองนำสารสีแอสตาแซนทินมาเลี้ยงปลาสวาย

โดยการนำสารสีแอสตาแซนทินมาจากการเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนที่มีการปรับสูตรเพื่อการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Phaffia rhodozyma* TISTRS 5370 ในน้ำทิ้งโรงงานขนมจีน โดยนำเลี้ยงยีสต์ *P. rhodozyma* TISTR 5370 เลี้ยงในน้ำมะพร้าว ที่เจือจางด้วยน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนอัตราส่วน 1:3 (CN medium) นำมาผสมกับ น้ำตาลโตนด ร้อยละ 5 กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร , ยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร , K_2HPO_4 0.1 กรัมต่อลิตร, NaCl 0.01 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.01 กรัมต่อลิตร และ $CaCl_2$ 0.01 กรัมต่อลิตร กรด critic acid ร้อยละ 1 มีพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที มีความเข้มข้นแสงที่ 500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 10.30 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารแอสตาแซนทิน เท่ากับ 930 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์ กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย (essential amino acid : EAA) ครบทุกชนิด เช่น ไลซีน เมทไธโอนีน และวาลีน เป็นต้น

Table 1 Component of Ingredient in food formulations containing different level of astaxanthin

Material	Content in Formulation (g)			
	Control	1	2	3
Fish meal	67	67	67	67
Gluten free	3	3	3	3
Wheat flour	15	15	15	15
Guar gum	0.5	0.5	0.5	0.5
God Liver Oil	7	7	7	7
B Vitamins[1]	1	1	1	1
Dietary minerals[2]	2	2	2	2
Vitamin C	0.5	0.5	0.5	0.5
Astaxanthin (%)	0	0.2	0.4	0.8
Cellulose	4	3.8	3.6	3.2

Source: Modified from Davis and Lawrence (1997) and Samranrat *et al*. (2011)

[1]B Vitamins: Thiamine (B_1) (in µg/kg): 23.47; riboflavin (B_2) 25; niacin 37.07; Vitamin E 50% 80; pyridoxine HCl 54.55; Ca-D-pantothenate (B_5) 25; inositol 98; biotin 25; folic acid 2.1; cyanocobalamin (B_{12}) 0.6; menadione (K 50%) 26, Vitamin C 80% 85.71; Choline Chloride 50% 300; Vitamin A/D_3 2.3 and Cellulose 215.20

[2]Dietary minerals: KH_2PO_4: $CaHPO_4.2H_2O$: $NaH_2PO_4.2H_2O$: KCl: $FeSO_4$: $ZnSO_4$: $CuSO_4$: $MnSO_4$ (1.0 : 1.0 : 1.5 : 0.5 : 0.0063 : 0.0074 : 0.0013: 0.0055)

Table 2 Nutritional value results in Formulations

Nutrient content	Formulation			
(% dried weight)	Control	1	2	3
Protein	45.81	45.27	45.35	45.37
Fat	14.66	15.03	15.11	15.20
Carbohydrate	15.55	15.98	15.70	15.49
Fiber	0.53	0.55	0.49	0.50
Ash	16.23	17.11	17.03	17.59
Humidity	18.03	17.19	17.88	18.03
Astaxanthin content (%)	-	10	18	25

ผลการนำยีสต์ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงปลาสวาย

1. การเจริญเติบโตของปลาสวาย

การเจริญเติบโตของปลาสวายที่ได้รับเลี้ยงปลาสวายเป็นระยะเวลา 3 เดือน ปลาสวายในช่วงแรกมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน เมื่อระยะเวลาครบ 3 เดือน พบว่าปลาสวายมีการเจริญเติบโตและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุดในสูตรที่ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 18.85±0.19 กรัม มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) รองลงมาคือ 18.35±0.12 กรัม (สูตรที่ 3) , 18.23 ± 0.3 กรัม (สูตรที่ 2) และ 17.98±0.24 (กรัม ชุดควบคุม) Table 3 ส่วนอัตราการรอดตายปลาสวาย พบว่ามีอัตราการรอดร้อยละ 98±0.11, 98±1.13, 98±1.21และ 98±1.35 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ (Table 4) คุณภาพของน้ำในการเลี้ยงปลาสวายในตู้ คุณภาพน้ำตลอดการทดลองมีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำอยู่ในช่วง 6-6.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.5 แอมโมเนีย-ไนไตรเจน เป็น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

Table 3 Growth and survival rate of fish when feeding with 3 Astaxanthin dietary formulations for 3 months

Formulation	Initial weight (g/individual)	final weight (g/individual)	Weight gain (g/individual)	Survival rate (%)
Control	4.97±0.01^{a}	17.98±0.24^{d}	11.03±0.20^{c}	98±1.10^{a}
Formula I	4.95±0.5^{a}	18.23±0.3^{c}	11.13±0.11^{b}	98±1.11^{a}
Formula II	4.98±0.1^{a}	18.85±0.19^{a}	11.51±0.03^{a}	98±1.21^{a}
Formula III	4.98±0.1^{a}	18.35±0.12^{b}	11.11±0.04^{b}	98±1.35^{a}

Note: Average values shown in the same column with different small letter superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.ผลการเสริมสารแอสตาแซนทินในอาหารเลี้ยงปลาสวาย

ผลจากการเสริมสารสีแอสตาแซนทินในการเลี้ยงปลาสวายนั้น เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบสารแอสตาแซนทินในเนื้อปลาสวาย จากการทดลองอาหารเสริมสารสีแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร้อยละ 0, 0.2, 0.4 และ 0.8 8 มีด้วยกันทั้งหมด 4 สูตร เลี้ยงปลาสวายเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สูตรที่ 3 ซึ่งเสริมสารสีแอสตาแซนทินความเข้มข้นร้อยละ 0.80 เมื่อทำการวิเคราะห์สารสีแอสตาแซนทินในเนื้อปลาสวายพบปริมาณสารสีแอสตาแซนทินในปริมาณที่สูง เท่ากับ 13.0±0.20 ไมโครกรัมต่อกรัม รองลงมา เท่ากับ 11.0±0.30 และ 5.0±0.10 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ดังใน Table 4

Table 4 Astaxanthin residue in fish meat at 120 days after feeding with astaxanthin containing pellet

Formulation	Astaxanthin residue in fish meat (μg/g)
Control	None
Formula I	5.0±0.10[c]
Formula II	11.0±0.30[b]
Formula III	13.0±0.20[a]

Note: Average values shown in the same column with different small letter superscripts are significantly different (P<0.05).

3. ผลการวิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

โดยการนำปลาสวายที่เลี้ยงในอาหารที่เสริมสารสีแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น ร้อยละ 0, 0.2, 0.40 และ0.8 มาแล่ให้มีขนาดชิ้นปลา 3 x 3 ซม. เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 60 วัน นำมาสอบด้านประสาท ทดสอบการยืดอายุ โดยนำมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้อปลาสวายแล่ (Table 5) ผลการทดสอบทางด้านสี พบว่าปลาแล่ สูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบรวมอยู่ในช่วงชอบมากที่สุด ในทุกช่วงเวลาที่ใช้ในการทดลอง สูตรชุดควบคุมคะแนนความชอบรวมในช่วงที่น้อยที่สุด สูตรที่ 1, 3 และ 4 อยู่ในช่วงเป็นปานกลาง ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วนกลิ่นของเนื้อปลาสวายแล่ สูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบรวมอยู่ในช่วงที่ชอบมากที่สุดกว่าทุกในการทดลอง สูตรชุดควบคุมคะแนนความชอบรวมในช่วงที่น้อยที่สุด สูตรที่ 1, 3 และ 4 อยู่ในช่วงเป็นปานกลาง ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วนรสชาติ ผลการทดสอบทางด้านรสชาติพบว่าเนื้อปลาสวายแล่ สูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบรวมอยู่ในช่วงคะแนนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับทุกสูตรในการทดลอง ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วนผลการทดลองลักษณะปรากฏ พบว่าเนื้อปลาสวายแล่ สูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบร่วมอยู่ในช่วงชอบมากที่สุดเช่นกัน และสูตรที่ 1, 3 และ 4 มีคะแนนอยู่ในช่วงปานกลาง และสูตรควบคุมมีคะแนนน้อยที่สุด ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วนผลการทดสอบด้านความชอบรวม พบว่า สูตรที่ 2 มีคะแนนความชอบอยู่ในช่วงคะแนนสูงเมื่อเปรียบกับทุกสูตรในการทดลอง ซึ่งคะแนนความชอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ดังนั้นผลการเสริมสารแอสตาแซนทินในอาหารเลี้ยงปลาสวายที่เหมาะสม โดยให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่แตกต่างกันจึงคัดเลือกสูตรที่ 2 เป็นสูตรที่เหมาะสม เนื่องจากได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่มากกว่าชุดการทดลองอื่นและเหมาะสม

Table 5 Sensory analysis of meat products from Striped catfish which were fed by pellet containing different concentrations of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* TISTR 5730

Storage	Formulation	Attribute				
Day	Formulation	Color	Odor	Flavor	Appearance	Overall Appearance
15	Control	7.23±0.10 [a]	7.03 ±0.31 [b]	7.11±0.18 [ab]	7.16 ±0.50 [a]	7.06±0.60 [a]
	F.I	7.33±0.16 [ab]	7.15 ±0.25[ab]	7.21±0.14 [b]	7.26 ±0.15 [a]	7.33±0.67 [ab]
	F.II	7.45±0.20 [ab]	7.21 ±0.17 [ab]	7.28±0.17 [ab]	7.28±0.19 [ab]	7.43±0.48 [ab]
	F.III	7.36±0.15[ab]	7.31±0.11[ab]	7.26±0.15[ab]	7.19±0.10[ab]	7.26±0.44[ab]
30	Control	7.10±0.11 [a]	7.31 ±0.31 [a]	7.06±0.11 [a]	7.17 ±0.31 [a]	7.26±0.50 [a]
	F.I	7.13±0.26 [ab]	7.49±0.15 [ab]	7.29±0.24 [ab]	7.34 ±0.11 [ab]	7.33±0.67 [ab]
	F.II	7.66±0.22 [c]	7.69±0.29 [c]	7.49±0.17 [c]	7.53 ±0.49 [c]	7.79±0.44 [c]
	F.III	7.33±0.25 [b]	7.43±0.23 [a]	7.26 ±0.8 [ab]	7.39 ±0.30 [ab]	7.56±0.50 [c]
45	Control	7.33±0.15[a]	7.45 ±0.10[ab]	7.36±0.95 [ab]	7.35±0.25 [ab]	7.29±0.45 [ab]
	F.I	7.41 ±0.10[c]	7.46±0.49[c]	7.53±0.15[c]	7.55±0.35 [ab]	7.68±0.15 [ab]
	F.II	7.61±0.13[c]	7.50±0.49[c]	7.53±0.15[c]	7.55±0.35[ab]	7.78±0.15[ab]
	F.III	7.48±0.15[ab]	7.49±0.16 [ab]	7.35±0.19[ab]	7.49±0.29[ab]	7.39±0.69[ab]
	F.II	7.68 ±0.30[c]	7.58±0.17[c]	7.53±0.45[c]	7.54±0.35 [c]	7.79±0.15[c]
	F.III	7.44±0.35[cd]	7.39±0.79[bc]	7.47±0.79[ab]	7.33±0.17[ab]	7.49±0.19[c]

Note: The values for each column followed by different small letter superscripts are significantly different (P<0.05).

ผลการวิเคราะห์ค่า TBA และความหืนของผลิตภัณฑ์

นำปลาสวายแล่ที่ผ่านการเสริมอาหารด้วยสารสีแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.4 ซึ่งทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 60 วัน ณ อุณหภูมิตู้เย็น ค่า TBA ในเนื้อปลาสวายแล่ พบว่า ปลาสวายระยะเวลาในการเก็บรักษาวันที่ 0, 15, 30, 45 และ 60 ตามลำดับ (Table 6) ชุดการทดลองมีค่า TBA เพิ่มขึ้นตามระยะเวลา เมื่อพิจารณาชุดควบคุมพบว่า TBA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง การเพิ่มของ TBA มีความสัมพันธ์กับความหืนของผลิตภัณฑ์ ซึ่งวัดในรูปของมิลลิกรัม มาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม ผลจากการวัดค่าความหืนของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาไว้ 60 วัน พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.7±0.16 มิลลิกรัม มาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม และเมื่อพิจารณาในชุดเนื้อปลาสวายแล่ที่ได้จากการเสริมสารสีแอสตาแซนทีนในอาหารร้อยละ 0.4 พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่การเกิดความหืนน้อยกว่าชุดควบคุม ณ ระยะเวลาที่ 60 วัน มีค่าเท่ากับ 0.5±0.1 มิลลิกรัม มาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม

Table 6 Analysis of Thiobarbituric acid (TBA) rancidity in the meat products from Striped catfish kept in fridge up to 60 days, the fish was fed with pellet containing astaxanthin from *P. rhodozyma* TISTR 5730

Storage (Day)	TBA (mg.malonaldehyde/kg)	
	Control	0.40%
0	0.02 ± 0.16 [e]	0.02 ± 0.06 [e]
15	0.03 ± 0.12 [d]	0.02 ± 0.12 [d]
30	0.04 ± 0.19 [c]	0.03 ± 0.16 [c]
45	0.05 ± 0.15 [b]	0.04 ± 0.17 [b]
60	0.07 ± 0.16 [a]	0.05 ± 0.10 [a]

Note: The values for each column followed by different small letter superscripts are significantly different (P<0.05)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการวิจัยนี้พบว่า สารสีแอสตาแซนทินที่เสริมในอาหารปลาสวาย 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารสีแอสตาแซนทิน ร้อยละ 0, 0.20 , 0.40 และ 0.80 เป็นระยะเวลา 3 เดือน ปลาสวายเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับอาหารเสริมสารสีแอสตาแซนทินทุกระดับมีค่าการเจริญเติบโตที่ดี พบว่า อาหารที่เสริม สารสีแอสตาแซนทินร้อยละ 0.40 มีน้ำหนักเท่ากับ 18.85 กรัมต่อตัว และอัตราการรอดตายร้อยละ 98.12 ซึ่งสอดคล้องกับ Klnongnu *et al.* (2012) การเสริมสารแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีผลต่อการน้ำหนักเพิ่ม (%) 49.03 และอัตราการรอดตายมีมากกว่าไม่เสริมสารสีแอสตาแซนทิน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สูตรที่ 3 ซึ่งเสริมสารสีแอสตาแซนทินความเข้มข้นร้อยละ 0.80 นั้น เมื่อทำการวิเคราะห์สารสีแอสตาแซนทินในเนื้อปลาสวายพบปริมาณสารสีแอสตาแซนทินในปริมาณที่สูง เท่ากับ 13.0±0.20 ไมโครกรัมต่อกรัม รองลงมา เท่ากับ 11.0±0.30 และ 5.0±0.10 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโต กับสารสีที่ปรากฏอยู่ในเนื้อปลานั้นไม่มีความสัมพันธ์ (p>0.05) มีรายงานความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในอาหารก็มีผลต่อการเร่งสีอีกด้วย Nakaszone *et al.,* (1984) พบว่า ปลา red bream ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแคโรทีนอย์ชนิดต่าง ๆ เช่น เบต้าแคโรทีน ซีแซนทีน ลูทีน และแอสตาแซนทีน พบว่า ปลาสะสมแคโรทีนอย์รวมบริเวณผิวหนังเมื่อได้รับอาหารที่ผสมแอสต้าแซนทีนในระดับความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่งของซีแซนทีนและลูทีน แคโรทีนนอย์ที่มีผลต่อการเพิ่มสีของปลาไม่ได้มีอิทธิพลมาจากชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารเท่านั้น แต่ยังมีปัจจัยอื่นอีกมากมาย เช่น แหล่งและความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ ตลอดจนระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ (Doolane *et al,* 2008) เมื่อนำมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า เมื่อนำเนื้อปลาสวายที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารสีแอสตาแซนทินความเข้มข้นร้อยละ 0.40 มีความชอบโดยรวมมากที่สุด สอดคล้องกับ Makkhun *et al.,* (2003) ได้นำสารสกัดแอสตาแซนทินจากเปลือกกุ้งเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 1.0 มาทดลองในปลาแล่ ค่าของ TBA ของหนังและเนื้อปลาทับทิมแล่ เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด แสดงว่าการใช้สารสกัดจากเปลือกกุ้งมีผลต่อการชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในปลาทับทิมแช่เย็นได้ดี ซึ่งผลการทดลองในเนื้อปลาสวายแล่ที่เสริมในอาหารปลาสวาย พบว่า ค่า TBA ในปลาสวายแล่ที่เสริมอาหารด้วยสารสีแอสตาแซนทินร้อยละ 0.4

เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 60 วัน ณ อุณหภูมิตู้เย็น พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่การเกิดความหืนจะลดลงกว่าชุดควบคุม ณ ระยะเวลาที่ 60 วัน มีค่าเท่ากับ 0.5±0.1 มิลลิกรัม มาลอนอัลดีไฮด์ / กิโลกรัม สอดคล้องกับ Sujarit *et al*., 2014 พบว่าเมื่อนำสารสีแอสตาแซนทินมาเคลือบเนื้อปลาสามารถยืดอายุได้ 60 วันที่อุณหภูมิตู้เย็น พบว่าในเนื้อปลามีปริมาณสารแอสตาแซนทิน ร้อยละ 0.40 ค่า TBA ของปลาสดจะเริ่มเกิดการหืนเมื่อค่า TBA มากกว่า 1.0 mg.malonaldehyde/kg ซึ่งผลิตภัณฑ์เนื้อนิยมใช้ค่า TBA เป็นดัชนีในการวัดการเสื่อมคุณภาพของไขมันในอาหาร (Sweet, 1973)

สรุปผลการวิจัย

สารสีแอสตาแซนทินที่ได้จากการเลี้ยง *Phaffia rhodozyma* TISTRS 5370 ในน้ำทิ้งโรงงานขนมจีน โดยนำเลี้ยงยีสต์ *P. rhodozyma* TISTR 5370 เลี้ยงในน้ำมะพร้าว ที่เจือจางด้วยน้ำทิ้งโรงงานขนมจีน อัตราส่วน 1:3 (CN medium) นำมาผสมกับ น้ำตาลโตนด ร้อยละ 5 กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร , ยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร , K_2HPO_4 0.1 กรัมต่อลิตร, NaCl 0.01 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.01 กรัมต่อลิตร และ $CaCl_2$ 0.01 กรัมต่อลิตร กรด critic acid ร้อยละ 1 มีพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที มีความเข้มข้นแสงที่ 500 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 10.30 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารแอสตาแซนทิน เท่ากับ 930 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์ กรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย (essential amino acid : EAA) ครบทุกชนิด เช่น ไลซีน เมทไธโอนีน และวาลีน เป็นต้น

การเลี้ยงปลาสวายด้วยการเสริมสารสีแอสตาแซนทินความเข้มข้น ร้อยละ 0, 0.20, 0.40 และ 0.80 โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 3 เดือน ทุกสูตรที่ใช้ในการทดลองทำให้ปลาสวายเจริญได้ พบว่า สูตรที่ 3 ให้ปลาสวายเจริญเติบโตและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 18.85 กรัม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อัตราการรอดตายร้อยละ 98 เมื่อวิเคราะห์สารสีแอสตาแซนทินในเนื้อปลาสวาย พบว่ามีสารสีในเนื้อปลาแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารสีที่เสริมลงในเนื้อปลาสวาย และนำปลาสวายมาทำการแล่ พบว่ามีค่า TBA เท่ากับ 0.5 mg.malonaldehyde/kg ที่อุณหภูมิตู้เย็น สามารถยืดอายุได้ 60 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ให้การสนับสนุนอุดหนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 14 th ed., Association of Official Analysis Chemists, Washington, D.C. 1018 p.

Boonyaratplin, M. 1994. Effect of astaxanthin at various levels per color of black tiger shrimp. Document Acadmic No. 18. National Institute of coastal Aquaculture, Department of Fisheries, SongKhla. 11 p.

Davis, D. A. and A. L. Lawrence. 1997. Minerals. *In* D 'Abramo, L. R., D. E. Conklin and D. M. Akiyama (eds.) Crustacean Nutrition. Volume 6, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana. USA. 150-163 p.

Dominguez-Bocanegra, A. R. and Torres-Munoz, J. A. 2004. Astaxanthin hyper production by *Phaffia rhodozyma* (now *Xanthophyllomyces hendroehous)* with raw coconut milk as sole source of energy. Applied Microbiology and Biotechnology. 66: 249-252.

Doolan, B. J., M. A. Booth, P.L., Jones and G. L. Allan. 2008. Effects of dietary astaxanthin concentration and feeding period on the skin pigmentation of Australian snapper (*Pagrus auratus*)(Bloch & Schneider, 1801). Aquaculture Research. 40:60-68.

Jian-Ping Y., Xiian, D. I. And Feng, C. 1997. Separation and analysis of carotenoids and chlorophylls in *Hamatococcus lacustris* by high-performance liquid chromatography photodiode array detection. Journal of Agricultral and food Chemistry. 45, 1952-1956.

Klnongnu ,N., Phumjan, L., Wongphonprateep, S. 2010. Use of Betelain Extracts of Dragon Fruit Pell to Enhance Skin Color Development in Parrot Cichlid. J. Sci. and Tech. Ubon Ratchtani University. 12(4): 29-36.

Makkhun Sakunkhun . 2003. Extraction and Effect of Astaxanthin from Shrimp Shell on the Color and TBA Values Changing of Chilled Tabtim Fish (*Oreochromis* sp.) MS Thesis, Kasetsart Univesrity. [in Thai].

Nakazone J., S. Ishii, M. Kamimoto and M. Takeuchi. 1984. Effects of supplemental carotenoid pigments on the carotenoid accumulation in young sea bream (*Chysophrys major*) Bull.To Kai Reg. Fish. Res. Lab. 113: 29-41.

Samranrat, N., P. Muangyao, S. Tongrod, R. Pangmee and S Sathorn . 2011. Dietary supplemental effect of Astaxanthin and B-carotene on growth, coloration and immune system of Red Snapper (*Lutijanus argrentimaculatus* Forrsskal, 1775) . Technical Paper No. 7/2011, Coastal Aquatic Feed Research Institute, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. 21 p. [in Thai].

Sigurgisladottir, S., C. C. Parrish., D. P. Lall and P.G. Ackman. 1994. Effects of Feeding Natural tocopherol and astaxanthin on Atlantic Salmon (salmon-solar) fillet quality. Food Research-International. 27: 23-32.

Sujarit, C., Rittirut, w., Amornlerdpison, D., and Siripatana, C. 2017. Astaxanthin production from sewage of traditional Thai rice vermicelli. Journal of Physics: Conf. Series, 820: 1-10.

Sujarit, C., Rittitut, W., and Sukpan, U. 2014. Preservation of Pangasius Fillet (*Pangasianodon hypophthalumus*) using Astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* TISTR 5730 at Refrigeration Temperature. The Proceeding of the Fourth International Fisheries Symposium (IFS). Surabaya, Indonesia. October 30-31.

Sujarit C., W. Rittirut and D. Amornlerdpison. 2016. Biomass production and optimal condition for extraction of Astaxanthin in *Phaffia rhodozyma* TISTR 5730, using Super Fluid Extraction Method, feed with Kanom Chin factory's wastewater to utilize in aquatic animal food pellet and cosmetics. Research report, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus. [in Thai].

Sweet, C. W. 1973. A Research Noted: Activity of antioxidants in fresh fish. Journal Food Sci. 38: 1260-1261.

Terao, J. 1989. Antioxidant activity of β-carotene-related carotenoids in solution. Lipid. 24:259-661.

Wasson, D.H. Reppond, K.D and Kandianis, T.M. 1991. Antioxidant of preserve rockfish color. J. Food Sci. 56: 1564-1566.