

ผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายเซลล์เดียวเพื่อใช้ในการเร่งสีปลาทอง (*Carassius auratus*)

Effects of Carotenoids from Unicellular Algae on Pigmentation in Golden Fish (*Carassius auratus*)

พรชัย อนุชาติ¹ สุภฎา คีร์รัฐนิคม² ฤทธิพร พรหมขุนทอง³ และกิจการ ศุภมาตย์⁴

¹นักศึกษาลักสูตร วท.ม. สาขาวิชาสัตสตร์

³Dr. rer. nat. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์

⁴Dr. rer. nat. (Aquatic Animal Diseases) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

²Ph.D. (Biotechnology) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93110

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเร่งสี และองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในปลาทอง การทดลองที่ 1 ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหาร 6 สูตร ได้แก่ 1) อาหารทดลองที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์, 2) อาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลีนา, 3) อาหารเสริมฮีมาโตคอกคัส, 4) อาหารเสริมคลอเรลลา, 5) อาหารเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ และ 6) อาหารเสริมบีตา-แคโรทีนสังเคราะห์ในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์รวม ที่ระดับ 50 ppm เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2, สูตรที่ 4, สูตรที่ 5 และสูตรที่ 6 มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย, เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 และสูตรควบคุม ($p < 0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่ 2, สูตรที่ 4, สูตรที่ 5 และสูตรที่ 6 มีอัตราการแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัส จากการวัดสีตัวปลาด้วยระบบการวัดค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) และค่าความสว่าง (L^*) พบว่าการเสริมสไปรูลีนาในอาหารมีผลทำให้สีเหลืองและแดงของตัวปลาเพิ่มมากขึ้น มีค่า a^* และค่า b^* สูงสุด ($p < 0.05$) ผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อปริมาณและอัตราการสะสมแคโรทีนอยด์รวม พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลีนาในอาหารมีอัตราการสะสมของปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงสุด ($p < 0.05$) และมีค่าไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ ($p > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าปริมาณแอสตาแซนทีนของปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลีนา, ฮีมาโตคอกคัส, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีนมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลีนาในปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุด ($p < 0.05$) (17.47 ± 1.42 ppm)

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคโรทีนอยด์ ทดลองโดยเลี้ยงปลาทองด้วยอาหาร 5 สูตร ได้แก่ อาหารที่ไม่เสริมสไปรูลีนา และอาหารเสริมสไปรูลีนาที่ระดับ 25, 50, 100, 150 ppm เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลีนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นๆ ($p > 0.05$) มีค่า a^* และ b^* ไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลีนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 150

ppm ($p>0.05$) และมีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงสุด (16.34 ± 0.63 ppm) ดังนั้นการเสริมสไปรูลินาในอาหารปลาทองในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm จึงเป็นระดับที่เหมาะสมในการเร่งสี โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

Abstract

The effects of carotenoids from different kinds of unicellular algae were studied on growth, feed utilization efficiency, pigmentation, and carotenoid composition in goldfish (*Carassius auratus*). In experiment I, goldfish were fed 6 kinds of carotenoid feed including, 1) no carotenoid, 2) *Spirulina* sp. fortified feed, 3) *Haematococcus* sp., 4) *Chlorella* sp., 5) synthetic astaxanthin, and 6) beta-synthetic carotene fortified feed. Each of which contained 50 ppm total carotenoid. At the end of 6-week experimental period, percent weight gain, specific growth rate, and average individual weight were recorded in the fish fed with feed 2, 4, 5 and 6 higher than those fed with feed 3 and control ($p<0.05$). Higher FCRs and feed utilization efficiency were noted in the control fish, feed 2, 4, 5 and 6 than those fed with *Haematococcus* feed. Determination of fish body coloration on red (a^*) and yellow (b^*) and intensity (L^*) showed the *Spirulina* feed resulted in increased intensification of yellow and red body coloration. For effects of different kinds of carotenoid on concentration and accumulation of total carotenoid showed *Spirulina* feed yielded highest accumulation of total carotenoid ($p<0.05$) which was not different from those fed with synthetic astaxanthin feed ($p>0.05$). Further, no significant different was detected in astaxanthin concentration in the fish fed with *Spirulina*, *Haematococcus*, *Chlorella*, synthetic astaxanthin, and synthetic beta-carotene feeds. Highest beta-carotene concentration of 17.47 ± 1.42 ppm was recorded in fish with *Spirulina* feed ($p<0.05$).

Experiment II, optimum carotenoid concentration was evaluated in *Spirulina* feed. Five feed formulae were tested in feed without *Spirulina* (control) and feeds which contained *Spirulina* at 25, 50, 100 and 150 ppm were fed for 6-week period. The fish fed with 50 ppm *Spirulina* feed showed no difference on percent weight gain and specific growth rate as compared to other treatments ($p>0.05$). The a^* and b^* redness were not different from those fed with 150 ppm carotenoid feed ($p>0.05$) and highest content of astaxanthin at 50 ppm. (16.34 ± 0.63 ppm) In conclusion, the *Spirulina* feed containing 50 ppm carotenoid was the carotenoid level optimum for goldfish color enhancement without any effect on their growth.

บทนำ

ปลาทองเป็นปลาสวยงามที่ได้รับความนิยมจากผู้เลี้ยงมาเป็นเวลานาน แต่ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาทอง ได้แก่ การขาดแคโรทีนอยด์ในอาหารทำให้ปลาทองจากการเพาะเลี้ยงมีสีซีดจางไม่สวยงาม เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เองจำเป็นที่จะต้องได้รับจากอาหารโดยตรง (Goodwin, 1984) การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารเป็นแนวทางสำคัญที่จะช่วยให้ปลาทองมีสีสวยขึ้น โดยเฉพาะสีเหลือง, ส้ม และแดง ทั้งนี้แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีชีวภาพพร้อมใช้ในสัตว์น้ำ (bioavailability) แต่ชนิดแตกต่างกัน (Chien and Jeng, 1992) นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ชนิดเดียวกันก็ยังสามารถพบได้ทั้งในรูปของแคโรทีนอยด์อิสระและในรูปเอสเทอร์ ซึ่งให้ผลการใช้เป็นแหล่งของสารสีในสัตว์น้ำต่างกัน อย่างไรก็ตาม แคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์ เช่น บีตา-แคโรทีน และแอสตาแซนทีน ซึ่งมีราคาแพง ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถสร้างและสะสมแคโรทีนอยด์ได้ในปริมาณมาก เมื่อเทียบกับพืชและสัตว์อื่นๆ จึงเป็นแนวทางที่มีความเป็นไปได้สูง เช่น การใช้สาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina* sp.) หรือบีตา-แคโรทีนสกัดจากสาหร่ายดูนาเลียเอลลา (*Dunaliella* sp.) และแอสตาแซนทีนจากสาหร่ายฮีมาโตคอคคัส (*Haematococcus pluvialis*) เป็นต้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เพื่อใช้เป็นแหล่งของสารสีที่มีประสิทธิภาพในอาหารปลาทอง ทั้งในแง่การเร่งสี ตลอดจนศึกษาถึงระดับที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อเร่งสีปลาทองให้ตรงตามความต้องการของตลาด เป็นการปรับปรุงคุณภาพผลผลิต และเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาทองเพื่อการส่งออกได้เป็นอย่างดี

วิธีการศึกษา

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ ในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ผลต่อสีตัวปลา และองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในตัวปลาทอง

เลี้ยงปลาทองในถังทดลองปริมาตร 150 ลิตร จำนวน 24 ถังๆ ละ 15 ตัว จัดแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยถังทดลอง 3 ถัง วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Zar, 1984) เตรียมอาหารทดลองผสมสาหร่ายสไปรูไลนา, ฮีมาโตคอคคัส, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีนสังเคราะห์ และบีตา-แคโรทีนสังเคราะห์ในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm ส่วนอาหารชุดควบคุมจะไม่เสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร อัดเม็ดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มม. อบแห้งที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารที่เตรียมเสร็จแล้ว บรรจุในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

1.1 การศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ต่อการเจริญเติบโต

โดยชั่งน้ำหนักปลาทั้งถังทดลอง ทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกจำนวนตัว เพื่อบันทึกน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว, เปรอเซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโต

อัตราการแลกเปลี่ยน, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตาย บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้เพื่อนำมาคำนวณอัตราแลกเปลี่ยน

1.2 การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ นำปลา 12 ตัวจากแต่ละชุดการทดลอง มาวัดสีภายนอก โดยตรวจวัดความแตกต่างของค่าความสว่าง (L^*), ค่าสีแดง-เขียว (a^*) และค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*) ที่บริเวณผิวหนังตัวปลาเหนือครีบอก (Pectoral fin) โดยเครื่อง Colors meter (HunterLab®) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกของปลาในแต่ละชุดการทดลอง

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์

เก็บตัวอย่างสัตว์ทดลองจำนวน 5 ตัวต่อชุดการทดลอง ทุก 2 สัปดาห์ จนครบ 6 สัปดาห์ นำมาทำแห้งด้วยวิธี Freeze dried แล้วจึงนำไปสกัดแคโรทีนอยด์ และตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์รวมและปริมาณแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดตามวิธีการของ Britton และคณะ (1995)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมแคโรทีนอยด์จากแหล่งที่มีประสิทธิภาพในระดับต่างๆ ต่อ

อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ผลต่อสีตัวปลา และองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในปลาทอง

เตรียมปลาเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยเลี้ยงในถังทดลองขนาดความจุ้น้ำ 150 ลิตร แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยถังทดลอง 3 ถัง จำนวน 20 ถังๆ ละ 15 ตัว ซึ่งนำหนักปลาทุกถังก่อนเริ่มให้อาหารทดลองชุดต่างๆ เตรียมอาหารทดลองโดยเสริมสาหร่ายสไปรูลไลนาแห้งให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ระดับ 25, 50, 100, และ 150 ppm นำไปเลี้ยงปลาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ให้อาหารแก่ปลาทดลอง วันละ 2 มื้อ โดยให้จนอิ่มตลอดระยะเวลาการเลี้ยง และเมื่อเลี้ยงปลาชุดดังกล่าวครบ 6 สัปดาห์ ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง ได้แก่ ผลของระดับแคโรทีนอยด์ในอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโต ผลของระดับแคโรทีนอยด์ที่มีต่อสีตัว และปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาตามวิธีการข้างต้น วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) (Zar, 1984)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ ในอาหารต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ผลต่อสีตัวปลา และองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในตัวปลาทอง

1.1 การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลไลนา, คลอโรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีนมีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย, เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการ

เจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสีมาโตคอกคัส และสูตรควบคุม ($p<0.05$) ดังตารางที่ 1 และ 2 ปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีนมี อัตราการแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสีมาโตคอกคัส ($p<0.05$) ขณะที่ อัตราการรอดตายของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 6 สูตร ตั้งแต่เริ่มต้นทดลองจนถึง 6 สัปดาห์ ไม่แตกต่างกันทาง สถิติ ($p>0.05$) มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกสูตรอาหาร

ตารางที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g) ของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์¹

สูตรอาหาร	ระยะเวลา (สัปดาห์ที่)			
	0	2	4	6
1. ควบคุม	3.98±0.00 ^{ns}	5.44±0.08 ^b	7.06±0.04 ^b	8.93±0.09 ^b
2. สไปรูไลนา	3.95±0.01 ^{ns}	5.65±0.01 ^a	7.38±0.07 ^a	9.42±0.35 ^a
3. สีมาโตคอกคัส	3.97±0.02 ^{ns}	5.50±0.16 ^b	7.04±0.19 ^b	9.01±0.06 ^b
4. คลอเรลลา	4.02±0.07 ^{ns}	5.72±0.06 ^a	7.46±0.16 ^a	9.61±0.19 ^a
5. แอสตาแซนทีน	3.97±0.04 ^{ns}	5.66±0.06 ^a	7.40±0.06 ^a	9.47±0.04 ^a
6. บีตา-แคโรทีน	4.00±0.06 ^{ns}	5.77±0.04 ^a	7.52±0.16 ^a	9.50±0.32 ^a

¹ค่าเฉลี่ยของ 3 ซ้ำ ± SD

ค่าเฉลี่ยในแถวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 น้ำหนักอาหารที่กิน (g/ตัว), เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (%), อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ(%/วัน), อัตราการแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาทอง ที่เลี้ยงด้วย อาหารทดลองแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์¹

สูตรอาหาร	น้ำหนัก อาหาร ที่กิน (g/ตัว)	เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักตัวที่ เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการ เจริญเติบโต จำเพาะ (%/ วัน)	อัตราการ แลกเนื้อ	ประสิทธิภาพ การใช้อาหาร
1. ควบคุม	10.37±0.08 ^c	124.43±2.24 ^c	1.92±0.02 ^c	2.10±0.03 ^b	0.48±0.01 ^a
2. สไปรูไลนา	11.63±0.03 ^a	138.85±8.12 ^a	2.07±0.08 ^a	2.13±0.93	0.47±0.03 ^{ab}
3. สีมาโตคอกคัส	11.35±0.14 ^b	127.34±2.17 ^{bc}	1.96±0.02 ^{bc}	^{ab}	0.44±0.00 ^b
4. คลอเรลลา	11.38±0.05 ^b	139.34±2.80 ^a	2.08±0.03 ^a	2.25±0.02 ^a	0.49±0.01 ^a
5. แอสตาแซนทีน	11.32±0.03 ^b	138.47±3.61 ^a	2.07±0.04 ^a	2.03±0.06 ^b	0.49±0.01 ^a
6. บีตา-แคโรทีน	11.24±0.42 ^b	137.40±9.94 ^{ab}	2.06±0.10 ^{ab}	2.06±0.03 ^b	0.48±0.03 ^a
				2.08±0.11 ^b	

¹ค่าเฉลี่ยของ 3 ซ้ำ ± SD

ค่าเฉลี่ยในแถวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

1.2 การเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

จากลักษณะภายนอก พบว่าปลาที่มีสีส้มแดงและเหลืองทองอย่างชัดเจนบริเวณข้างลำตัวเมื่อได้รับอาหารเสริมแคโรทีนอยด์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนามีค่าความสว่างของสีตัว (L^*) ต่ำสุด ($p < 0.05$) ส่วนค่าระดับสีแดง (a^*) ในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนามีค่าเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีน ($p > 0.05$) ส่วนการวัดค่าระดับสีเหลือง (b^*) พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนา มีค่า b^* เพิ่มขึ้นสูงสุด ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์¹

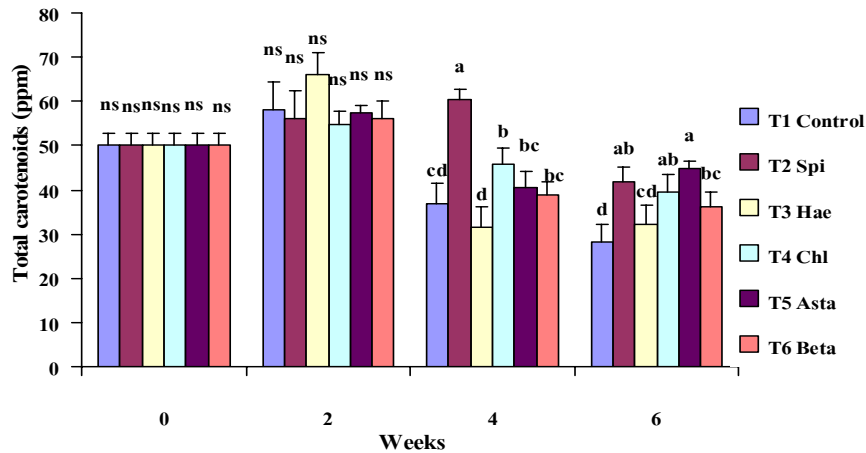
สูตรอาหาร	ค่าสี		
	ความสว่าง	สีแดง	สีเหลือง
1. ควบคุม	49.31±3.14 ^a	10.79±2.78 ^c	24.53±5.85 ^b
2. สไปรูไลนา 50 ppm	43.53±3.30 ^c	16.70±2.70 ^a	29.05±2.91 ^a
3. ฮีมาโตคอกคัส 50 ppm	47.13±2.31 ^{ab}	13.26±2.28 ^b	26.32±4.76 ^{ab}
4. คลอเรลลา 50 ppm	47.22±2.95 ^{ab}	12.14±1.85 ^{bc}	25.65±4.63 ^{ab}
5. แอสตาแซนทีน 50 ppm	46.19±1.61 ^b	15.58±2.65 ^a	24.92±3.20 ^b
6. บีตา-แคโรทีน 50 ppm	49.00±2.63 ^a	11.88±2.27 ^{bc}	23.92±3.51 ^b

¹ค่าเฉลี่ยของ 12 ซ้ำ ± SD

ค่าเฉลี่ยในแถวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

1.3 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในปลาทอง

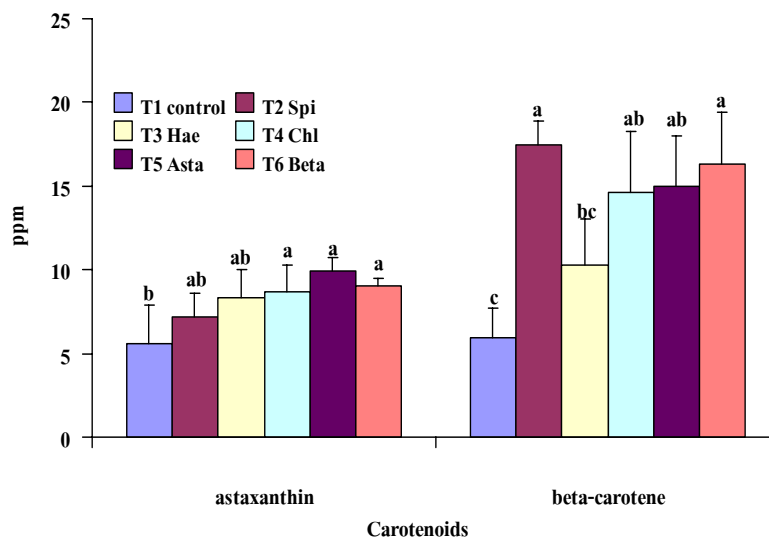
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา, และแอสตาแซนทีน มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในปลาทองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และมีค่ามากกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัสและปลาในชุดควบคุม ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนามีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงสุด ($p < 0.05$) รองลงมาคือในปลาที่ได้รับอาหารเสริมคลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีน มีค่าเท่ากับ 45.82±3.56, 40.35±3.78, 38.82±2.99 ppm ตามลำดับ และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัสมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวม น้อยที่สุดเท่ากับ 31.55±4.70 ppm ($p < 0.05$) และไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนา, ฮีมาโตคอกคัส, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีน มีค่าเท่ากับ 28.27±4.04, 41.84±3.43, 32.10±4.53, 39.34±4.27, 44.83±1.66 และ 36.05±3.32 ppm ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา และแอสตาแซนทีน มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และมีค่ามากกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัสและปลาในชุดควบคุม ($p < 0.05$) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

1.4 ปริมาณแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีนของปลาทอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 6 สัปดาห์ พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมสไปรูไลนามีปริมาณแอสตาแซนทีนไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัส, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และ บีตา-แคโรทีน ($p>0.05$) และมีปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุด ($p<0.05$) ขณะที่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีนน้อยที่สุด ($p<0.05$) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ปริมาณแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีน ในตัวปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรเป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของระดับของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสม ที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโต

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเร่งสี และองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ในปลาทอง

2.1 การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ปลาทองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25, 50 และ 150 ppm ($p>0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 100 ppm มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำสุด ($p<0.05$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 น้ำหนักอาหารที่กิน (g/ตัว), เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (%), อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน), อัตราการแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาทอง ที่เลี้ยงด้วย อาหารทดลองเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	น้ำหนักอาหารที่กิน (g/ตัว)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/ วัน)	อัตราการแลกเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร
1. ควบคุม	13.15±0.21 ^a	114.43±2.64 ^{ab}	1.82±0.03 ^{ab}	2.81±0.02 ^{ns}	0.36±0.00 ^{ns}
2. 25 ppm	13.14±0.01 ^a	125.13±2.73 ^a	1.93±0.03 ^a	2.62±0.07 ^{ns}	0.38±0.01 ^{ns}
3. 50 ppm	13.27±0.03 ^a	117.69±13.35 ^{ab}	1.85±0.14 ^{ab}	2.79±0.30 ^{ns}	0.36±0.04 ^{ns}
4. 100 ppm	12.59±0.07 ^c	106.83±3.35 ^b	1.73±0.04 ^b	2.91±0.09 ^{ns}	0.34±0.01 ^{ns}
5. 150 ppm	12.81±0.09 ^b	114.62±12.89 ^{ab}	1.82±0.14 ^{ab}	2.78±0.32 ^{ns}	0.36±0.04 ^{ns}

^aค่าเฉลี่ยของ 3 ซ้ำ ± SD

ค่าเฉลี่ยในแถวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2.2 การเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

พบว่าปลามีสีส้มแดงและเหลืองทองอย่างชัดเจนบริเวณข้างลำตัว เมื่อได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูไลนา โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีค่าความสว่าง (L*) น้อยที่สุด ($p<0.05$) แต่มีค่าสีแดง (a*) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25 ppm และ 100 ppm ($p<0.05$) แต่ไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 150 ppm ($p>0.05$) ส่วนค่าสีเหลือง (b*) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 150 ppm มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25 ppm และ 100 ppm ($p<0.05$) แต่ไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm ($p>0.05$) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ค่าสี (L*, a*, b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

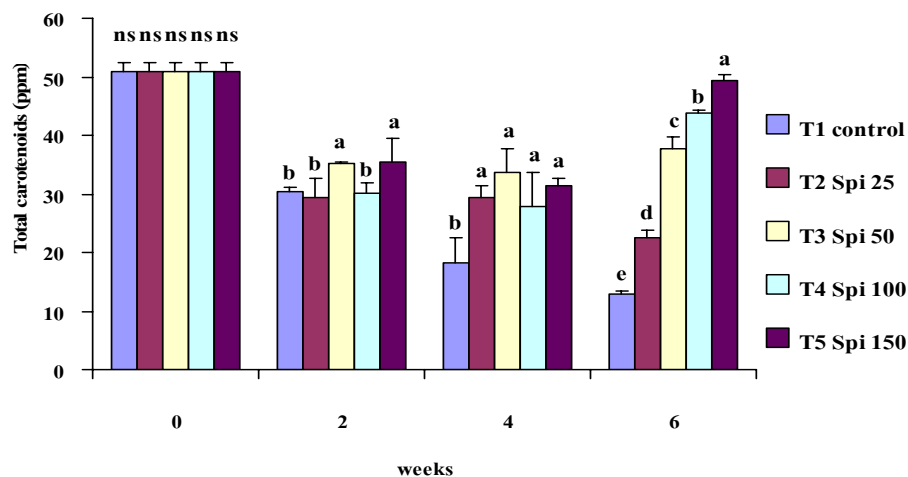
สูตรอาหาร	ค่าสี		
	ความสว่าง	สีแดง	สีเหลือง
1. ควบคุม	49.81±3.68 ^a	1.95±1.47 ^d	10.44±3.08 ^d
2. สไปรูไลนา 25 ppm	49.46±3.31 ^a	4.63±2.09 ^c	14.29±4.48 ^c
3. สไปรูไลนา 50 ppm	43.00±3.58 ^c	15.02±3.41 ^a	21.35±4.72 ^{ab}
4. สไปรูไลนา 100 ppm	46.25±3.43 ^b	11.44±2.89 ^b	19.68±3.05 ^b
5. สไปรูไลนา 150 ppm	46.45±2.35 ^b	13.11±3.48 ^{ab}	23.47±4.21 ^a

¹ค่าเฉลี่ยของ 12 ซ้ำ ± SD

ค่าเฉลี่ยในแถวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษต่างกันกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2.3 ปริมาณและอัตราการสะสมแคโรทีนอยด์รวมในปลาทอง

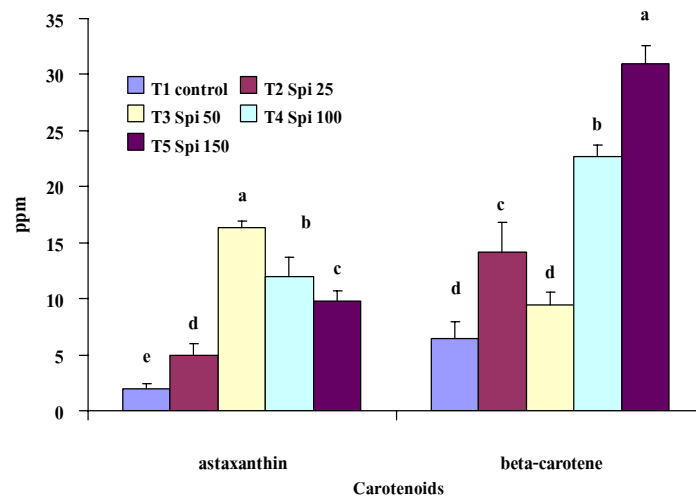
ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 และ 150 ppm มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25 และ 100 ppm ($p < 0.05$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาทั้ง 4 สูตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) และสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ($p < 0.05$) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ต่างกัน เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

2.4 ปริมาณแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีนของปลาทอง

พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณแอสตาแซนทีนต่ำสุด ($p < 0.05$) ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 150 ppm มีปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงที่สุด ($p < 0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีปริมาณบีตา-แคโรทีนต่ำและไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ปริมาณแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีน ในตัวปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์รวมระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีน ในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย, เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัส และสูตรควบคุม ส่วนอัตราการแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม, สูตรที่เสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีน มีอัตราการแลกเนื้อและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัส เห็นได้ว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัสในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์รวมที่ระดับ 50 ppm มีการเจริญเติบโตของปลาทองลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุการตายของปลาเมื่อเจริญไปเป็นซิสต์ (cyst cell) และเริ่มมีการสะสมแคโรทีนอยด์ จะมีผนังเซลล์ที่หนามาก อาจจะทำให้ขวางการดูดซึมแอสตาแซนทีนของปลาได้ (Choubert and Henrich, 1993) และการเสริม

สไปรูไลนาในอาหารปลาทอง มีผลทำให้สีเหลืองและแดงของตัวปลาเพิ่มมากขึ้น โดยที่ค่าความสว่างจะลดลง ซึ่งไม่แตกต่างกับปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ แสดงว่าการเสริมสไปรูไลนาในอาหารปลาทองมีผลทำให้สีแดงและสีเหลืองของตัวปลาทองเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาของ Ohkubo และคณะ (1999) พบว่าปลาทองสามารถเปลี่ยนลูทีนเอให้เป็นลูทีนบี, 4-ไฮดรอกซิล-ลูทีน (4-hydroxy-lutein) และ แอลฟาโดราดีแซนทีน (α -doradexanthin) ตามลำดับ และซีแซนทีนสามารถเปลี่ยนเป็นแอสตาแซนทีนโดย มีตัวกลางคือ 4-ไฮดรอกซิล-ซีแซนทีน (4-hydroxy-zeaxanthin), บีตา-โดราดีแซนทีน (β -doradexanthin) ดังนั้นปลาทองจึงสามารถเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ในอาหารและสะสมในรูปแอสตาแซนทีนและบีตา-แคโรทีน เป็นหลัก จึงทำให้เกิดสีส้ม-เหลืองในตัวปลาทอง สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์รวม พบว่าการเสริมสไปรูไลนา, คลอเรลลา และแอสตาแซนทีนในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของปลาทองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และมีค่ามากกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมฮีมาโตคอกคัสและสูตรควบคุม โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนามีอัตราการสะสมของแคโรทีนอยด์รวมสูงสุด ($p<0.05$) และมีค่าไม่ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีน ($p>0.05$) การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารให้ปลากินจะทำให้มีปริมาณและอัตราการสะสมของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากซีแซนทีนเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหลักในเซลล์สาหร่ายสไปรูไลนา (Liao และคณะ, 1993) และปลาทองสามารถเปลี่ยนซีแซนทีนไปเป็นแอสตาแซนทีนได้ แต่ปลาไม่สามารถใช้บีตา-แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นของแอสตาแซนทีนได้โดยตรง (สุทรวัดน์, 2548) สอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพร และอัญชลี (2548) ที่เสริมสไปรูไลนาในอาหารปลาตุ๊กตากลุ่มผสมทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวปลาเพิ่มขึ้น จากการทดลองครั้งนี้พบว่าปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสไปรูไลนา, ฮีมาโตคอกคัส, คลอเรลลา, แอสตาแซนทีน และบีตา-แคโรทีนมีปริมาณแอสตาแซนทีนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนามีปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุด ($p<0.05$) จากผลการทดลองสรุปได้ว่าแหล่งของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณของแคโรทีนอยด์ในตัวปลาทอง คือ สาหร่ายสไปรูไลนา อย่างไรก็ตามเมื่อนำปลาทองมาเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ระดับต่างๆ คือ 25, 50, 100, 150 ppm เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นๆ ($p>0.05$) โดยมีค่า a' และ b' ไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริมสไปรูไลนาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 150 ppm และมีปริมาณแอสตาแซนทีนสูงสุด แต่มีปริมาณของบีตา-แคโรทีนต่ำและไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปลาจะมีการสะสมแซนโทฟิลมากกว่าแคโรทีน ซึ่งมักพบในรูปของทาราแซนทีน, ลูทีน และแอสตาแซนทีน (Goodwin, 1951) สอดคล้องกับการทดลองของ Kalinowski และคณะ (2005) ที่ทดลองเสริมแอสตาแซนทีนในปลา red porgy ทำให้ปลามีสีแดงมากขึ้น และการทดลองในปลาเรดซีบรีม (Katayama *et al.* 1965; Tanaka *et al.*, 1976; Nakazoe *et al.*, 1984) ซึ่งพบว่าแอสตาแซนทีนในรูปเอสเทอร์มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับสะสมและเร่งสีของผิวหนังได้ดีกว่า

แอสตาแซนทีนอิสระ (Lorenz, 1998) ดังนั้นการเสริมสไปรูไลนาในอาหารปลาทองในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 50 ppm จึงเป็นระดับที่เหมาะสมในการเร่งสี โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา

เอกสารอ้างอิง

- วุฒิพร พรหมขุนทอง. และ อัญชลี พิพัฒน์วัฒนากุล. 2548. ผลของสาหร่ายสไปรูไลนาต่อการเจริญเติบโต และระดับแอนติบอดีในปลาดุกพันธุ์ผสม. ว.สงขลานครินทร์ วทท. 27(1): 115-132.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2548. เคมีและคุณภาพสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- Britton, G. 1983. The biochemistry of natural pigments. Cambridge University press. Cambridge. 366 p.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S. And Pfender, H. 1995. Carotenoids : Isolation and Analysis Vol 1A. Birkhauser Verlag. Basel. 368 p.
- Chien, Y. H. and Jeng, S. C. 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture 102: 333-346.
- Choubert, G. and Heinrich, O. 1993. Carotenoid pigments of the green alga *Haematococcus pluvialis* : assay on rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, pigmentation in comparison with synthetic astaxanthin and canthaxanthin. Aquaculture 112: 217-226.
- Goodwin, T.W. 1951. Carotenoids in fish. Chen. Publ. Co. Inc., New York. 559 pp.
- Goodwin, T.W. 1984. The Biochemistry of the Carotenoid. 2nd edn., Vol.II. Anamals Custacea. pp. 64-96. London: Chapman and Hall.
- Kalinowski, T., L.E. Robaina, H. Fernandez-Palacios, D. Schuschardt and M.S. Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. Aquaculture 244: 223-231.
- Katayama, T., Ikeda, N. and Harada, K. 1965. Carotenoids in sea breams, *Chrysophrys major* and *schlegel*. Bull.Jap. Soc. Sci. Fish. 31: 947-952.
- Liao, W. L., Nur-E-Borhan, S. A., Okada, S., Matsui, T. and Yamaguichi, K. 1993. Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a *Spirulina*- supplemented diet. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 59: 165-169.
- Lorenz, T.R. 1998. A review of astaxanthin as a carotenoid and vitamin source for sea bream. Naturerose Technical Bulletin, vol.052. Cyanotech, Hawaii, USA.

- Nakazoe, J., Ishii, S., Kamimoto, H. and Takeuchi, M. 1984. Effects of supplemental carotenoid pigments on the carotenoid accumulation in young red sea bream *Chrysophrys major*. Bull. TokaiReg. Fish. Res. Lab.113: 29-41.
- Ohkubo, M., Tsushima, M., Maoka, T. and Matsuno, T. 1999. Carotenoids and their metabolism in the goldfish *Carassius auratus* (Hibuna). Comp. Biochem. Physio. B 124: 333-340.
- Tanaka, Y., Matsuguchi, H., Katayama, T., Simpson, K. L. and Chichester, C. O. 1976. The biosynthesis of astaxanthin. XVIII. The metabolism of the carotenoids in the prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 42: 197-202.
- Zar, J. H. 1984. Biostatistical Analysis. 2nd ed. Prentice-Hall, New York.