ศักยภาพของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *Caloglossa beccarii* Di Toni ในการเป็นสารเร่งสีปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) และปลาซิวใบไผ่ (*Davario regina*)

Potential of Carotenoid from Freshwater Red Alga, *Caloglossa beccarii* DeToni on Color Enhancement in Harleguin Rasbosa(*Trigonostigma espei*) and Blue Danio (*Davario regina*)

สุริยะ จันทร์แก้ว[1*], จิราพร วรรณะ[2], เพ็ญศรี เพ็ญประไพ[3], วรรณิณี จันทร์แก้ว[2]

Suriya Chankaew[1*], Jiraporn Wanna[2], Pensri Penprapai[3], Wanninee Chankaew[2]

(Received: November 20, 2019; Revised: January 3, 2020; Accepted: January 29, 2020)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *Caloglossa beccarii* De Toni ที่เสริมในอาหารสำเร็จรูปในการเร่งสี การเจริญเติบโต และอัตรารอดของปลาซิวข้างขวานเล็ก(*Trigonostigma espei*) และปลาซิวใบไผ่ (*Davario regina*) ทำการเสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายในอาหารสำเร็จรูป 5 ระดับๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่ 0 15 30 60 และ 120 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยเลี้ยงปลาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงสี การเจริญเติบโตและอัตรารอด รวมทั้งเก็บเนื้อปลา ครีบและเกล็ดของปลา เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลการศึกษาพบว่าการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลาทั้งสองชนิดของทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) การเปลี่ยนแปลงสีทุกชุดการทดลองของปลาซิวข้างขวานเล็กแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในปลาซิวใบไผ่ การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารในแต่ชุดการทดลองไม่มีผลต่อการเพิ่มสีผิวของปลาข้างขวานเล็กแต่มีผลในปลาซิวใบไผ่ การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารมีผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อและครีบของปลาซิวข้างขวานเล็ก แต่ในปลาซิวใบไผ่ทำให้สีผิวสีเหลืองของปลาเพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาพบว่ามีแนวโน้มว่าควรใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ระดับ 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เสริมในอาหารของปลาซิวทั้ง

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

[1]Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University

[2]คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

[2]Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya

[3]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

[3]Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya

[*]Corresponding author: suriya_chan@yahoo.com

สองชนิด การศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการประยุกต์ใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* ให้เกิดประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในอนาคต

คำสำคัญ: สาหร่ายสีแดงน้ำจืด แคโรทีนอยด์ ปลาซิวข้างขวานเล็ก ปลาซิวใบไผ่

Abstract

The objective of this study was to consider the effect of total carotenoid from freshwater red alga, *Caloglossa beccarii* Di Toni added in artificial feed on pigmentation, growth and survival rate of harleguin rasbosa (*Trigonostigma espei*) and blue danio (*Davario regina*). Five levels with three replication of total carotenoid; 0, 15, 30, 60 and 120 mg/kg were added in to the artificial feed. The color value, growth, survival rates was measured and the fish flesh, fin and scale were collected for carotenoid analysis after 8 weeks of feeding trial. The results found that both two species fed diet of all treatment had no significantly different ($p>0.05$) on growth and survival rate. The harleguin rasbosa was no significant differences ($p>0.05$) in pigmentation among treatment, while those significant differences ($p<0.05$) in blue danio. The addition of the carotenoid in artificial feed could improve the cumulative carotenoid content in flesh and fin of harleguin rasbosa, but could improve the skin pigmentation (yellow clolor) of blue danio. These suggested that the optimum of concentration of total carotenoid for both species color enhancer diets can be used at 30 mg/kg. This first information obtained will be useful in providing basic information about total carotenoid from *C. beccarii* and applying for aquaculture in the future.

Keywords: Freshwater red algae, Carotenoid, Harleguin rasbosa, Blue danio

บทนำ

สาหร่ายสีแดงน้ำจืดเป็นกลุ่มของสาหร่ายที่มีจำนวนชนิดน้อย โดยมีประมาณ 200 ชนิด สาหร่ายกลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำไหลที่มีอุณหภูมิของน้ำต่ำ (Kumano, 2002) สำหรับสาหร่ายสีแดงชนิด *Caloglossa beccarii* นั้นมีรายงานแพร่กระจายในหลายภูมิภาคของประเทศไทยรวมทั้งในแหล่งน้ำไหลของภาคใต้ (Naulcharoen, Sangkaew, Naulcharoen, Peerapornpisal, & Kumano, 2007) และเป็นชนิดเด่นในแหล่งน้ำไหลและพบปริมาณมากในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารค่อนข้างสูง (Chankaew, Sakset, Chankaew, & Kumano, 2015) เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีปริมาณมาก

ในแหล่งน้ำแต่ยังไม่มีรายงานการนำมาบริโภค อย่างไรก็ตามรายงานของ Chankaew, Amornlerdpisan, & Laillerd (2017) ได้ทำการศึกษาพิษเฉียบพลันแล้ว และได้รายงานว่ามีความปลอดภัยสามารถนำเป็นเป็นอาหารคนและสัตว์ได้ นอกจากนี้สาหร่ายชนิดนี้ยังมีรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น ลูทีน ซีแซนทิน และเบต้า-แคโรทีน รวมถึงมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านเสริมในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ (Luealae, 2019)

การใช้ประโยชน์จากปลาน้ำจืดขนาดเล็กมาเป็นปลาสวยงามส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมเก็บรวบรวมและนำมาดูแลในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยอาหารธรรมชาติและอาหารสำเร็จรูป ซึ่งก่อนการบรรจุปลาเพื่อการจำหน่ายมีการคัดขนาดปลาและคัดเลือกคุณภาพปลาด้วยลักษณะความสวยงามของสีสัน ดังนั้นเกษตรกรจึงต้องเพิ่มมูลค่าปลาด้วยการให้อาหารที่สามารถพัฒนาสีปลาให้สวยงามขึ้น สำหรับปลาซิวข้างขวานเล็กนั้นเป็นปลาสวยงามพื้นถิ่นของภาคใต้ สามารถพบได้ตามลุ่มน้ำทางภาคตะวันออกและภาคใต้ (Seanjundaeng, 2004) มีรายงานพบมากในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี (Chumdum, Ngamaane, & Arthainsee, 2006) ปลาซิวข้างขวานเป็นปลาสวยงามที่มีมูลค่าการส่งออกสูง ซึ่งติดอันดับรายชื่อปลาสวยงามที่ส่งออก 140 อันดับแรก (Sermwatanaku & Poompoung, 2005) สำหรับปลาซิวใบไผ่นั้นก็เป็นกลุ่มปลาที่มีสีสันสวยงาม การแพร่กระจายมากในแหล่งน้ำไหล ที่สามารถนำมาเพาะพันธุ์และอนุบาลได้ (Chankaew, 2007a, b) สามารถพัฒนาเป็นปลาสวยงามเชิงพาณิชย์ได้ อย่างไรก็ตามปัญหาหลักของปลาสวยงามคือปลามีสีซีดจาง ส่งผลให้ปลามีราคาถูกและมีสีสันไม่ตรงตามความต้องการของตลาด (Anuchart, Kiriratnikom, Phromkunthong, & Supamattaya, 2008) ทั้งนี้เนื่องมาจากปลาขาดสารสีหรือรงควัตถุในอาหารทำให้ปลาไม่มีสีสันที่ตลาดต้องการ รวมทั้งปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหารโดยตรง

สำหรับสารสีที่นิยมใช้เร่งสีปลาสวยงามนั้นมักเป็นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ เพื่อให้ปลามีสีสวยสด สีแดงเข้ม หรือสีส้มเข้ม ส่วนใหญ่เป็นแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่มีราคาแพง ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น ที่ผ่านมานักวิจัยทางด้านอาหารปลาสวยงามได้มีการศึกษาการใช้สาหร่ายผสมในอาหารปลาสวยงาม เช่น สาหร่ายเกลียวทอง(*Spirulina platensis*) สาหร่ายไก (*Cladophora* sp.) ซึ่งได้ผลการศึกษาว่าสาหร่ายดังกล่าวสามารถช่วยในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและปรับปรุงสีทำให้สีบนตัวปลาทองมีสีแดงและสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น (Kumprom, Promya, Meag-Umphan, Whangchai, & Chitmanat, 2011) นอกจากนี้มีการใช้สาหร่ายเกลียวทองสดและผงเป็นอาหารเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ฟ ซึ่งสาหร่ายเกลียวทองมีผลทำให้การเจริญเติบโต ดัชนีการเจริญพันธุ์ สารสีแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น (Promya, Ungsethaphan, & Srinuansom, 2007) นอกจากนี้ยังมีการสาหร่ายชนิดอื่น ๆ เช่น คลอเรลลา (*Chlorella*) และฮีมาโตคอคคัส (*Haematococcus*) มาเร่งสีปลาทอง ซึ่งพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย

สามารถเร่งสีปลาทองได้ และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญโตของปลา (Anuchart, Kiriratnikom, Phromkunthong, & Supamattaya, 2008) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสาหร่ายหลายชนิดสามารถนำมาใช้ในการเลี้ยงปลาสวยงามได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในกลุ่มสาหร่ายสีแดงน้ำจืด ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีการศึกษาเพื่อให้ได้องค์ความรู้ใหม่ในการเร่งสีกลุ่มปลาซิวสวยงามสองชนิดจากการประยุกต์ใช้แคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดเป็นแหล่งของสารสีธรรมชาติ เพื่อเป็นทางเลือกที่สามารถนำสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* มาใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเลี้ยงปลาสวยงามเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาศักยภาพของการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *Caloglossa beccarii* ในการเร่งสีปลาซิวสวยงามสองชนิด ได้แก่ ปลาซิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) และปลาซิวใบไผ่ (*Davario regina*)

วิธีการวิจัย

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแคโรทีนอยด์ ในอาหารเม็ดลูกกบสำเร็จรูป ที่ต่างกัน 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ไม่ผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ (สูตรควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 15 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 120 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

การเตรียมปลาทดลอง

นำปลาซิวข้างขวานเล็กซึ่งได้จากรับซื้อจากเกษตรกรในจังหวัดตรัง มีขนาดความยาว 2.44±0.36 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.28±0.037 กรัม และปลาซิวใบไผ่ ซึ่งได้จากการรับซื้อจากเกษตรกรในจังหวัดนครศรีธรรมราช มีขนาดความยาว 2.98±0.93 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.38±0.19 กรัม ทำการสุ่มปลาที่มีขนาดและสีผิวใกล้เคียงกัน ก่อนทำการทดลองได้ฝึกให้ปลากินอาหารที่ใช้ในการทดลองคืออาหารสำเร็จรูปชุดควบคุม และให้ปลาปรับสภาพในบ่อซีเมนต์ทรงกลมปริมาตรน้ำ 80 ลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การเตรียมอาหารทดลอง

1. ทำเก็บสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *Caloglossa beccarii* (ภาพที่ 1ก) อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช (08°09.051 N, 099°44.786 E) มาทำความสะอาด จำแนกชนิดตาม Kumano (2002) และ Necchi (2016) จากนั้นนำมาผึ่งลม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนสาหร่ายแห้ง นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า

2. นำผงสาหร่ายที่บดละเอียดแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (ดัดแปลงจาก KMUTT, 2001; de Quiros & Costa, 2006) โดยชั่งน้ำหนักแห้งสาหร่าย 5 กรัม เติมเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร แล้วเติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 60 เปอร์เซ็นต์ 5 มิลลิลิตร แล้วนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิค เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมไดเอทิลอีเทอร์ 75 มิลลิลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์ 9 เปอร์เซ็นต์ 75 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้น เก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ นำสารละลายที่ได้นำไปกลั่นระเหยสุญญากาศเพื่อเอาตัวทำละลายออก หลังจากนั้นคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์รวม นำสารสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Biodrop) แล้วบันทึกผลและคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ดังสมการของ KMUTT (2001) ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (mg/g cell dry weight)} = \frac{\text{A450 X 25 X 1000}}{\text{260 X mg cell dry weight}}$$

3. นำสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมที่คำนวณได้แต่ละชุดการทดลองไปปรับปริมาณกับเอทานอลให้ได้ปริมาณที่เท่ากันทุกชุดการทดลองเพื่อเตรียมอาหารทดลองนั้นได้ใช้อาหารทดลองโดยใช้อาหารไฮเกรด (อาหารสำหรับลูกกบ) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 4 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ เตรียมอาหารจำนวน 4 ชุดการทดลอง ผสมกับสารสกัดจากสาหร่ายที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยการฉีดพ่นบนอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่แผ่กระจายบาง ๆ บนแผ่นพลาสติกให้ทั่ว แล้วผึ่งลมที่อุณหภูมิห้องในที่มืดที่มีอากาศถ่ายเท เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่ออาหารแห้งแล้วบรรจุในถุงซิปล็อกสีทึบเพื่อลดการสัมผัสกับอากาศและแสง เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดลองเลี้ยงปลา

เมื่อปลาคุ้นเคยกับอาหารชุดควบคุมแล้ว จึงทำการสุ่มปลาจัดใส่หน่วยทดลอง (ซ้ำ) ๆ ละ 20 ตัว ซึ่งได้ทำการชั่งน้ำหนักรวมของปลาของทุกซ้ำ ทำการเลี้ยงปลาในกล่องพลาสติกเกรดดี (Dragon ware) ที่ทนอุณหภูมิได้ตั้งแต่ -10 ถึง 100 องศาเซลเซียส ขนาด 20 x 30 x 18 เซนติเมตร ซึ่งกล่องพลาสติกได้

พ่นสีดำไว้ทุกด้านยกเว้นด้านหน้า โดยแต่ละซ้ำมีปริมาตรน้ำ 6 ลิตร และมีออกซิเจนอย่างเพียงพอทุกชุดการทดลอง การให้อาหารปลา วันละ 2 มื้อ (เช้า เวลา 08.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00) วิธีการให้อาหารจนปลาอิ่ม ช่วงระหว่างทดลองเลี้ยงได้ทำการวัดค่าคุณภาพน้ำพารามิเตอร์ที่สำคัญ ได้แก่ อุณหภูมิน้ำ (เทอร์โมมิเตอร์) ส่วนค่าออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเป็นด่าง ความกระด้างรวม และแอมโมเนียรวม ใช้เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำชนิดหลายพารามิเตอร์(Portable Multi Parameter Photometer, MD600; Lovibond, ประเทศเยอรมัน)

การเก็บรวบรวมข้อมูล

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการชั่งน้ำหนักปลาเฉลี่ย วัดความยาว และนับจำนวนปลา นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

ก. น้ำหนักปลาเฉลี่ย (กรัม/ตัว)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด (กรัม)}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด (ตัว)}}$$

ข. ความยาวปลาเฉลี่ย (เซนติเมตร/ตัว)

$$= \frac{\text{ความยาวปลาทั้งหมด (เซนติเมตร)}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด (ตัว)}}$$

ค. อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ (ตัว)} \times 100}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อย (ตัว)}}$$

ง. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีผิวตัวของปลา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ไม่สามารถสุ่มปลามาวัดสีในแต่ละสัปดาห์ได้เนื่องจากปลามีขนาดเล็กมาก) ทำการประเมินสีผิวตัวภายนอก โดยทำวัดสีผิวของปลาในทุกตัวในทุกซ้ำ ปลาชิวข้างขวานเล็กทำการวัดสีส้มแดง 2 ตำแหน่งต่อตัวบริเวณแถบสีส้มเหนือเส้นสีดำของรูปขวานและบริเวณสีส้มแดงหน้ารูปขวานดำ (ภาพที่ 1ข) วัดด้วย SalmoFan Lineal ที่มีคะแนนสีที่ไล่ระดับหมายเลข 20 - 34 โดยใช้สายตาในการเทียบกับผิวหนังของปลา ซึ่งประยุกต์วิธีการจาก Ljungqvist et al. (2012) สำหรับปลาชิวใบไผ่นั้นเนื่องจากปลามีสีผิวสีเหลืองตามแนวยาวบริเวณเส้นข้างตัวสองเส้นคือด้านบนและด้านล่างของแถบน้ำเงินดำ (ภาพที่ 1ค) จึงได้ทำการวัดสีเหลืองด้วย Yolk Color Fan ซึ่งมีขนาดการไล่ระดับสีหมายเลข 1-15 ทำการวัดโดยใช้สายตาในการเทียบกับผิวหนังของปลาทำการวัด 2 ตำแหน่งต่อตัว รวมทั้งได้ทำการวัดสีด้วยเครื่อง Chroma meter (Minolta CR-400) โดยทำการสอบเทียบเครื่องวัดสีตามคู่มือแนะนำก่อนการใช้งาน ตั้งหมวดการวัดค่าสีเป็นระบบ CIE LAB; *L*a*b**

จ. การศึกษาปริมาณการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อ เกล็ด ครีบของปลา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำปลามาแล่เนื้อปลาโดยตัดเอาเฉพาะกล้ามเนื้อ เนื้อปลานำมาบดในถ้วยบดให้ละเอียด ส่วนเกล็ดและครีบ (ประกอบด้วยครีบหลัง ครีบหางและครีบก้น) ใช้กรรไกรตัดและนำมาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำส่วนของเนื้อปลา เกล็ดและครีบที่ได้มาผึ่งลมที่อุณหภูมิห้องจนหมาดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนแห้งแล้วนำมาใส่ในตู้ดูดความชื้น หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมโดยประยุกต์ใช้วิธีการของ KMUTT (2001)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย ความยาวเฉลี่ยสุดท้าย ร้อยละอัตราการรอด สีผิว และปริมาณการสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบและเนื้อไปวิเคราะห์ทางสถิติใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน One Way Analysis of Variance พร้อมทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลผลิตตามวิธีการของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป

(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 1 สาหร่ายสีแดงน้ำจืด *Caloglossa beccarii* (ก) ปลาชิวข้างขวานเล็ก (ข) ปลาชิวใบไผ่ (ค) ที่ใช้ในการทดลอง

ผลการวิจัย

1. ผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดง *Caloglossa beccarii* De Toni ในการเร่งสีปลาชิวข้างขวานเล็ก

1.1 การเจริญเติบโตและการอัตรารอดของปลา

ปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *C. beccarii* 4 ระดับ ได้แก่ 15 30 60 และ 120 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายต่อตัว และอัตราการรอดของปลามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนของความยาวเฉลี่ยต่อตัว พบว่า ชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุด คือ 2.96±0.20 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 2 3 และ 5 ส่วนความยาวของปลาในการทดลองที่ 4 ความยาวเฉลี่ย

สุดท้ายของปลา มีค่าน้อยที่สุด อัตรารอดตายของปลาทั้งห้าชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1)

1.2 การเปลี่ยนแปลงสีผิวและการสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบ และเนื้อปลา

จากการประเมินสีผิวปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดที่ระดับต่างกัน พบว่าค่าระดับสีผิวของปลาทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ 15 และ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 23.33±0.57 (ตารางที่ 1)

การศึกษาปริมาณการสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบ และเนื้อของปลาชิวข้างขวานเล็ก พบว่าการสะสมในเกล็ดของปลามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในส่วนครีบของปลาพบว่า ปลาทั้งห้าชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับชุดควบคุม โดยพบว่าทุกชุดการทดลองที่ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์มีค่าการสะสมแคโรทีนอยด์ที่ครีบมากกว่าชุดควบคุม โดยชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ที่ 30 และ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในครีบปลาสูงสุดเท่ากับ 0.18±0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และพบว่าชุดควบคุมมีค่าต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 0.07±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สะสมในเนื้อของปลาพบว่าเมื่อเสริมปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นมีผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อเพิ่มขึ้น ซึ่งปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุด เท่ากับ 0.09±0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และน้อยที่สุดในชุดควบคุมและชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ 15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 1)

2. ผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดง *Caloglossa beccarii* ในการเร่งสีปลาชิวใบไผ่

2.1 การเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลา

การทดลองเลี้ยงปลาชิวใบไผ่ที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *C. beccarii* ที่ระดับ 15 30 60 และ 120 มิลลิกรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายต่อตัว ความยาวเฉลี่ยต่อตัวและอัตราการรอดของปลาชิวใบไผ่ที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงที่ระดับต่างกันทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 5 ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายและความยาวสุดท้ายมากที่สุด ส่วนชุดการทดลองที่ 3 ปลามีอัตรารอดสูงสุด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 น้ำหนักสุดท้าย ความยาวสุดท้าย อัตราการรอด ระดับสีผิวปลาและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบ และเนื้อของปลาซิวข้างขวานเล็กที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดง *C. beccarii* เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ระดับแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)				
	0	**15**	**30**	**60**	**120**
น้ำหนักสุดท้าย (ก.)	0.30±0.03	0.31±0.01	0.28±0.03	0.31±0.01	0.32±0.01
ความยาวสุดท้าย (ซม.)	2.96±0.20^{a}	2.86±0.05^{ab}	2.80±0.10^{ab}	2.73±0.57^{b}	2.80±0.00^{ab}
อัตรารอด (ร้อยละ)	98.33±2.88	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
สีผิวปลา	23.00±1.00	23.33±0.57	22.33±0.57	23.33±0.57	23.00±0.00
แคโรทีนอยด์ในเกล็ด (มก./ก.นน.แห้ง)	0.04±0.02	0.03±0.02	0.01±0.00	0.02±0.02	0.01±0.00
แคโรทีนอยด์ในครีบ (มก./ก.นน.แห้ง)	0.07±0.01^{b}	0.09±0.04^{b}	0.18±0.05^{a}	0.10±0.01^{b}	0.18±0.01^{a}
แคโรทีนอยด์ในเนื้อ (มก./ก.นน.แห้ง)	0.02±0.00^{b}	0.02±0.01^{b}	0.09±0.02^{a}	0.06±0.01^{a}	0.08±0.04^{a}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าเฉลี่ยในแถวของแต่ละชุดการทดลองที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

2.2 การเปลี่ยนแปลงสีผิวและการสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบ และเนื้อปลา

การเปลี่ยนแปลงสีผิวของปลาซิวใบไผ่จากการวัดแถบสีเหลืองบริเวณเส้นข้างตัว ด้วย Yolk sac fan พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ทุกระดับมีค่าระดับสีของปลาเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม และพบว่าชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าของสีผิวปลาสูงที่สุดเท่ากับ 9.55±2.08 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ 15, 60 และ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 2)

สำหรับค่าสีผิวของปลาจากการวัดด้วยระบบ *L*a*b** พบว่าค่า L* (ค่าความสว่าง) ทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยพบว่า ชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าความสว่างสูงที่สุด 56.73±4.33 ส่วนค่า a* (ค่าสีแดง) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 มีค่าสีแดงน้อยที่สุดและมีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ 15 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีค่าเท่ากับ -0.97±0.84, -1.44±0.33 และ -0.72±0.84 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

การสะสมแคโรทีนอยด์รวมในเกล็ดของปลาซิวใบไผ่ที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ที่ระดับต่างกัน พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเกล็ดปลาในชุดควบคุมมีค่าต่ำสุดเท่ากับ

0.01±0.0 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีค่าสูงที่สุด อย่างไรก็ตามทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) การสะสมแคโรทีนอยด์รวมในครีบปลา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุด เท่ากับ 0.25±0.05 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ 15, 60 และ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเท่ากับ 0.08±0.07, 0.04±0.03, 0.02±0.01 และ 0.05±0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อของปลาชิวใบไผ่พบว่า ชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 0.16±0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ส่วนชุดการทดลองที่เสริมแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในเนื้อมากที่สุด เท่ากับ 0.08±0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 น้ำหนักสุดท้าย ความยาวสุดท้าย อัตราการรอด ระดับสีผิวปลา ค่าระดับสี (L*a*b*) ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเกล็ด ครีบและเนื้อของปลาชิวใบไผ่ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดง *C.beccarii* เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ระดับแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)				
	0	**15**	**30**	**60**	**120**
น้ำหนักสุดท้าย (ก.)	0.65±0.08	0.43±0.38	0.65±0.02	0.39±0.33	0.72±0.08
ความยาวสุดท้าย (ซม.)	3.22±0.16	2.62±2.27	3.92±0.04	3.47±2.14	3.92±0.17
อัตรารอด (ร้อยละ)	51.00±3.46	46.67±40.52	64.33±7.50	49.00±42.93	55.66±21.36
สีผิวปลา	7.04±2.99^{b}	9.13±2.99^{a}	9.55±2.08^{a}	9.47±2.35^{a}	9.28±1.42^{a}
L*	53.19±1.88	35.77±30.97	53.60±0.35	36.08±31.25	56.73±4.33
a*	-0.85±0.27^{a}	-0.34±0.34^{a}	-0.61±0.28^{a}	-0.59±0.51^{a}	-1.89±0.33^{b}
b*	-3.26±0.82^{b}	-0.97±0.84^{a}	-1.44±0.33^{a}	-0.72±0.84^{a}	-4.23±1.61^{b}
แคโรทีนอยด์ในเกล็ด (มก./ก.นน.แห้ง)	0.01±0.00	0.02±0.01	0.08±0.07	0.02±0.02	0.02±0.03
แคโรทีนอยด์ในครีบ (มก./ก.นน.แห้ง)	0.08±0.07^{b}	0.04±0.03^{b}	0.25±0.05^{a}	0.02±0.01^{b}	0.05±0.03^{b}
แคโรทีนอยด์ในเนื้อ (มก./ก.นน.แห้ง)	0.16±0.06^{a}	0.05±0.05^{b}	0.08±0.01^{ab}	0.02±0.02^{b}	0.04±0.04^{b}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเฉลี่ยในแถวของแต่ละชุดการทดลองที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

3. คุณภาพน้ำ

ค่าคุณภาพน้ำในช่วงของการทดลองเลี้ยงปลาซิวทั้งสองชนิด พบว่า มีค่าอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 28.20-29.80 องศาเซลเซียส ออกซิเจนละลายน้ำ 4.14-5.57 mg/l ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.08-7.64 ความเป็นด่าง 12.24-19.88 mgas$CaCO_3$/l ความกระด้างรวม 45.22-50.25 mgas$CaCO_3$/l และแอมโมเนียรวม 0.02-0.04 mg/l

อภิปรายผล

1. การเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลาซิวข้างขวานเล็กและปลาซิวใบไผ่

จากผลการศึกษาในการเลี้ยงปลาซิวข้างขวานเล็กและปลาซิวใบไผ่ที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดง *C. beccarii* พบว่าทั้งน้ำหนักสุดท้าย ความยาวสุดท้ายและอัตราการรอดของปลาซิวทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงถึงการเสริมแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงชนิดนี้ที่ระดับต่างกันในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาซิวทั้งสองชนิด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานหลายเรื่องที่พบว่าการเสริมแคโรทีนอยด์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง เช่น รายงานของ Phaichamnan & Wattanakul (2000) ซึ่งได้ศึกษาผลของรงควัตถุแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากใบมะยมต่อสีปลาสอดแดง ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 20 40 และ 80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งพบว่าในส่วนของน้ำหนักเฉลี่ย ความยาวเฉลี่ย และอัตรารอดตาย ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) รวมทั้งสอดคล้องกับรายงานของ Kraisurasre, Kraisurasre & Paladim (2008) ที่ได้รายงานผลของแคโรทีนอยด์ในอาหารต่อสีตัวของปลากระแหโดยใช้แคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ เบต้า-แคโรทีนสังเคราะห์ แคนทาแซนทินและเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า พบว่าแคโรทีนอยด์ทุกชนิดไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา ทั้งในด้านน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตรารอด รวมทั้งการเลี้ยงปลาการ์ตูนแดงด้วยแคโรทีนอยด์สังเคราะห์หลายชนิด เช่น เบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทิน ซึ่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ดังกล่าวไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา (Samranrat, 2018)

เมื่อพิจารณาจากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าน้ำหนักสุดท้ายของปลาซิวใบไผ่ในบางชุดการทดลองมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม มีแนวโน้มว่าความชอบในอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ของปลาซิวใบไผ่มีน้อยกว่าหรือการปรับตัวในการกินอาหารได้น้อยกว่าปลาซิวข้างขวานเล็ก รวมถึงเมื่อพิจารณาอัตรารอดก็พบว่าปลาซิวข้างขวานเล็กมีอัตรารอดสูงกว่าปลาซิวใบไผ่นั้นอาจเป็นเพราะการปรับตัวยังได้ไม่ดีของปลาซิวใบไผ่ซึ่งเคยอาศัยในแหล่งน้ำไหลเมื่อมาอยู่ในหน่วยทดลองที่เป็นพื้นที่แคบ จึงเป็นเหตุให้มีอัตรารอดต่ำ

2. การเปลี่ยนแปลงสีผิวของปลาชิวข้างขวานเล็กและปลาชิวใบไผ่

การเปลี่ยนแปลงสีปลาของปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเสริมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่การสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เป็นไปในทำนองเดียวกับการรายงานการเพิ่มสีปลาคาร์พด้วยสาหร่ายยูกลีนา (*Euglena*) และ สไปรูลินา (*Spirulina*) ซึ่งพบว่าไม่มีผลต่อสีแดงและสีเหลืองที่ผิวตัว แต่มีผลต่อการเพิ่มสีแดงในเนื้อปลาคาร์พ (Srinuausom, Prasertsom, Witayawarawat, Montien-Art, & Promya, 2011) แต่ต่างกับรายงานของ Kiriratnikom, Kiriratnikom, & Chokswadikorn (2013) ซึ่งได้ผสมแคโรทีนอยด์ กลุ่มแอสตาแซนทีนในอาหารในระดับ 100 – 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าไม่มีผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาเพิ่มขึ้นทั้งนี้จะต่างกับปลาชิวใบไผ่ที่บริเวณแถบสีเหลืองบริเวณเส้นข้างตัวมีสีเหลืองเข้มกว่าชุดควบคุมและทุกระดับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ โดยเฉพาะบริเวณครีบหางของปลานั้นมีสีเหลืองเข้มขึ้น ทั้งนี้เมื่อพิจารณารงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสีแดงชนิดนี้มีรงควัตถุกลุ่มแซนโธฟิลล์ ชนิดลูทีน และซีแซนทิน เท่ากับ 4.708±0.36 และ 0.146±0.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณของลูทีนมากกว่าซีแซนทิน ซึ่งสอดคล้องกับ Peerapornpisal (2003) ที่รายงานว่ารงควัตถุชนิดลูทีนนั้นส่วนใหญ่จะพบในกลุ่มของสาหร่ายสีแดง จึงมีความเป็นไปได้ว่าปลาชิวใบไผ่สามารถดูดซึมและสะสมลูทีนได้ดีกว่าปลาชิวข้างขวานเล็กมีผลให้ปลาชิวใบไผ่มีสีแถบสีเหลืองบริเวณข้างตัวและครีบหางสีเข้มขึ้น ส่วนปลาชิวข้างขวานเล็กมีความแนวโน้มว่าไม่สามารถเปลี่ยนซีแซนทินให้เป็นแอสซาแทนทินได้จึงส่งผลให้สีส้มแดงของปลาไม่เพิ่มขึ้น ซึ่งต้องศึกษาในรายละเอียดต่อไป

สำหรับแถบสีเหลืองมีสีเข้มขึ้นในปลาชิวใบไผ่นั้นผลที่ได้จากการวัดด้วย Yolk Color Fan ซึ่งสอดคล้องกับ b*(ค่าสีน้ำเงิน-สีเหลือง) ที่มีแนวโน้มสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มสารสกัดแคโรทีนอยด์ (ค่าติดลบลดลง) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม มีแนวโน้มว่าในสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* มีลูทีนและซีแซนทิน ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับงานวิจัยของ Phromkunthong & Pipattanawattanakul (2003) ซึ่งได้พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาซึ่งมีแคโรทีนอยด์ในรูปแบบซีแซนทีนและเบต้า-แคโรทีนมีผลให้เนื้อและผิวหนังปลาดุกมีสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการดูดซึมและสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวปลาขึ้นอยู่กับชนิดของแคโรทีนอยด์ที่มีในอาหาร ในกรณีที่ปลาได้รับอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ตรงกับแคโรทีนอยด์ชนิดหลักที่สะสมในตัวตามธรรมชาติก็จะมีประสิทธิภาพการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวสูงขึ้นเพราะไม่ต้องนำแคโรทีนอยด์ในอาหารไปผ่านกระบวนการดัดแปลงโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ที่ปลาต้องการ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kiriratnikom, Zaau, & Suwanpugdee, (2005) ที่รายงานว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่าย

สไปรูลินาในระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ มีสีเหลืองและสีแดงสูงกว่ากลุ่มปลาทองที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสาหร่ายสไปรูลินาสามารถเร่งการสร้างสีเหลืองของปลาได้มากกว่าการเร่งสีแดง โดยเฉพาะปลาทองที่มีองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในกลุ่มเบต้า-แคโรทีนที่ให้สีเหลืองและแอสตาแซนทินที่ให้สีแดงทั้งนี้เนื่องจากแคโรทีนอยด์หลักที่พบในสาหร่ายสไปรูลินาคือ เบต้า-แคโรทีนและซีแซนทีน จึงมีแนวโน้มว่า เบต้า-แคโรทีน จะถูกดูดซึมและนำไปสะสมในผิวหนังของปลาทองได้อย่างรวดเร็ว

สำหรับการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีด้วยระบบ L*a*b* พบว่าปลาชิวใบไผ่มีค่าความสว่าง(ค่า L*) มากที่สุดที่ระดับการเสริมแคโรทีนอยด์สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับค่าที่วัดด้วยสายตาด้วย Yolk Color Fan บริเวณแถบสีเหลืองมีค่ามากขึ้น อย่างไรก็ตามค่าติดลบนั้นจะลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมจึงมีความเป็นไปได้ว่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับแคโรทีนอยด์ในอาหารยกเว้นชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มากที่สุด ซึ่งชุดการทดลองนี้อาจมีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มากเกินไป เมื่อพิจารณาค่า b* พบว่ามีค่าค่อนไปสีน้ำเงิน (ค่าติดลบ) ทั้งนี้เนื่องจากสีพื้นผิวของตัวปลามีสีน้ำเงินและมีแถบสีเหลืองเป็นพื้นที่แคบ ๆ รวมทั้งปลามีขนาดค่อนข้างเล็กซึ่งการวัดด้วยระบบนี้อาจจะทำให้มีความคลาดเคลื่อนได้บ้าง

3. การสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ด ครีบ และเนื้อของปลาชิวข้างขวานเล็กและปลาชิวใบไผ่

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในการเร่งสีปลาสวยงามกลุ่มปลาชิว จึงได้ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพิจารณาว่าการสะสมแคโรทีนอยด์ในเกล็ดและครีบของปลาด้วยเพื่อเป็นแนวทางทำให้ทราบว่าการเสริมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายในอาหารเมื่อปลากินเข้าไปจะสะสมอยู่ส่วนไหนบ้าง ซึ่งพบว่าในส่วนของเกล็ดปลาชิวข้างขวานและชิวใบไผ่มีแนวโน้มไม่มีการสะสมแคโรทีนอยด์ แต่ในส่วนของครีบปลาพบว่าปลาชิวข้างขวานมีการสะสมเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่เพิ่มขึ้น ส่วนปลาชิวใบไผ่มีการสะสมเพิ่มขึ้นในระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งระดับนี้ทำให้ปลาชิวใบไผ่มีแถบสีเหลืองเข้มขึ้นและมีการสะสมในเนื้อปลามากกว่าระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ด้วย ดังนั้นคาดว่าระดับความเข้มข้นนี้ปลาสามารถรับเข้าสู่ร่างกายปลาได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับอัตรารอดตายของปลาก็ดีที่สุดเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารแคโรทีนอยด์ในอาหารสำหรับเป็นอาหารของปลาชิวข้างขวานจะไปสะสมที่ครีบของปลามากกว่าที่ความเข้มข้นไม่สูงมากนัก กล่าวคือที่ระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทำนองเดียวกับรายงานการเร่งสีในปลากระดี่นางฟ้า (*Trichogaster trichopterus*) ด้วยดอกดาวเรืองผงที่ระดับ 0.5, 1.5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลามีการสะสมแคโรทีนอยด์รวมในกล้ามเนื้อมากที่สุดที่ระดับแคโรทีนอยด์ต่ำ (1.5 เปอร์เซ็นต์) และการสะสมแคโรทีนอยด์ในผิวหนังที่พบสูงที่สุดที่ระดับ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (Jorjani & Rohani, 2018)

ปลาชิวข้างขวานเล็กมีแนวโน้มว่าสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ใช้เป็นอาหารของปลามีผลต่อการสะสมในกล้ามเนื้อและส่วนของครีบปลาเพิ่มขึ้นตามระดับที่ผสมในอาหาร (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Phromkunthong & Pipattanawattanakul (2003) ซึ่งได้รายงานผลของสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina*) ต่อการเจริญเติบโตปลาดุกพันธุ์ผสม พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาซึ่งมีแคโรทีนอยด์ในรูปแบบซีแซนทีนและเบต้า-แคโรทีน ส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มสูงขึ้นและสอดคล้องกับการเสริมกลีบดอกดาวเรืองในอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ผสมกลีบดอกดาวเรืองที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในเนื้อสูงสุดแตกต่างจากกลุ่มอื่น ($p<0.05$) (Paibulkichakul, Biaolek, Hiransuchalert, & Paibulkichakul (2016) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการเลี้ยงปลานิลแดงด้วยการเสริมสาหร่ายสไปรูลิน่าสดพบว่าเนื้อปลามีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสาหร่ายสไปรูลินาที่เพิ่มขึ้นในอาหารทดลอง อย่างไรก็ตามระดับการผสมสาหร่ายในอาหารปลาแต่ละชนิดมีระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาและการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาแต่ละชนิด (Promya, Ungsethaphan, & Srinuansom (2007) ทั้งนี้การในการศึกษาครั้งนี้ใช้ระดับของแคโรทีนอยด์สูงสุด 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีแนวโน้มว่าแคโรทีนอยด์จะไปสะสมที่กล้ามเนื้อและครีบมากกว่าที่สีผิวของตัวปลาข้างขวานเล็ก

เมื่อพิจารณาการสะสมแคโรทีนอยด์ในกล้ามเนื้อ ครีบ ในปลาชิวใบไผ่พบว่า ไม่ได้เพิ่มขึ้นตามระดับของแคโรทีนอยด์ที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ประสิทธิภาพการดูดซึมและสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวปลาขึ้นอยู่กับชนิดของแคโรทีนอยด์ที่มีในอาหาร ในกรณีที่ปลาได้รับอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ตรงกับแคโรทีนอยด์ชนิดหลักที่สะสมในตัวตามธรรมชาติก็จะมีประสิทธิภาพการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวสูงขึ้น เพราะไม่ต้องนำแคโรทีนอยด์ในอาหารไปผ่านกระบวนการดัดแปลงโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ที่ปลาต้องการ มีความเป็นไปได้ว่าแคโรทีนอยด์ในอาหารจะไปมีผลให้ผิวหนังของปลาชิวใบไผ่สะสมได้ดีกว่าในเนื้อและครีบปลาโดยเฉพาะสีเหลืองซึ่งมีแนวโน้มว่ามาจากสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์รวมชนิดลูทีนในสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาในรายละเอียดต่อไป

สรุป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดชนิด *C. beccarii* เสริมในอาหารสำเร็จรูปที่ระดับแตกต่างกันสำหรับเลี้ยงปลาชิวสวยงามทั้งสองชนิดนั้นสามารถนำมาเลี้ยงปลาได้มีผลให้ปลาเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกัน ในปลาชิวข้างขวานเล็กนั้นแคโรทีนอยด์ช่วยเสริมการสะสมในเนื้อและครีบของปลา ส่วนปลาชิวใบไผ่นั้นแคโรทีนอยด์ช่วยปรับปรุงสีทำให้สีผิวและครีบของปลามีสีเหลืองเพิ่มขึ้นแต่ไม่สะสมในเนื้อปลา ที่ระดับความเข้มข้น

ของแคโรทีนอยด์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาซิวทั้งสองชนิดโดยที่ระดับนี้ทำให้ปลาซิวข้างขวานเล็กมีแคโรทีนอยด์รวมสะสมในครีบและในเนื้อสูงสุด และในปลาซิวใบไผ่ระดับนี้ทำให้สีผิวสีเหลืองและการสะสมในครีบของปลาสูงสุด อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์จากแคโรทีนอยด์รวมของสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *C. beccarii* นั้นขึ้นอยู่กับความต้องการใช้ประโยชน์และมีแนวโน้มว่าการเร่งสีเหลืองของปลาสวยงามน่าจะให้ผลชัดกว่าปลาที่มีสีแดงหรือสีส้ม

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกที่นำสารสกัดแคโรทีนอยด์มาใช้การเร่งสีปลาซิวสวยงาม สำหรับปลาซิวข้างขวาน นั้นซึ่งเป็นปลาขนาดเล็กและช่วงการสืบพันธุ์นั้นปลาเพศผู้จะมีสีผิวลำตัวสีส้มแดง อาจมีผลกระทบต่อผลการศึกษาได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งต่อไปจำเป็นต้องศึกษาในรายละเอียดมากขึ้น เช่นผลของเพศปลาต่อการเร่งสีด้วยสารแคโรทีนอยด์ รวมทั้งการเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยง สำหรับปลาซิวใบไผ่นั้นในการศึกษาครั้งนี้อัตรารอดยังต่ำแม้ว่าจะมีการพักปลาที่เก็บมาจากธรรมชาตินานเป็นเวลา 4 สัปดาห์แล้วแต่ปลายังคงมีอัตรารอดต่ำกว่าปลาซิวข้างขวานเล็ก ดังนั้นการทดลองครั้งต่อไป อาจต้องใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพปลาเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากโครงการวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2561 ของมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช เรื่อง การพัฒนาสีปลาซิวสวยงามด้วยสารสีสกัดจากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด (*Caloglossa beccarii*) และ สาหร่ายไฟ (*Chara zeylanica*)

รายการอ้างอิง (References)

Anuchart, P., Kiriratnikom, S., Phromkunthong, W. & Supamattaya, K. (2008). Effect of carotenoids from unicellular algae on pigmentation in gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Fisheries Technology Research* (2): 55-67.

Chankaew, S. (2007a). Breeding of *Devario regina* (1939).The proceeding of Kasetsart University Annual Conferrence. (In Thai)

Chankaew, S. (2007b). Nursing of *Rosbosa paviei* (1885), *Esomus metallicus* (Ahi,1924) and *Devario regina* (Fowler,1939).*Journal of Fisheries Technology Research*.1(2):130-138.

Chankaew, W., Sakset, A., Chankaew, S. & Kumano, S. (2015). Possibility of freshwater red algae as bioindicator for water quality of streams in Nakhon Si Thammarat province, Thailand. *International Journal of Agricultural Technology.* 11:1349-1358.

Chankaew, W.,Amornlerdpisan,D. & Laillerd, N. (2017). Diversity and toxicological evaluation of freshwater red algae around Banthad mountain. p.11 *In* The 8th National conference on algae and plankton. (In Thai)

Chundum, S. Ngamaane,P. & Arthainsee, A. (2006). Habitat use by lambchop rasbosa (*Trigonostigma espei*) in the stream of Klung district, Chantaburi province, Thailand. *RMUTSV research journal*. 8(2):289-298.

de Quiros, A.R. & Costa, H.S. (2006). Analysis of carotenoids in vegetable and plasma sample: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19. 97-111.

Jorjani, M. & Rohani M. S. (2018). Pigmentation and growth performance in the blue gourami (*Trichogaster trichopterus*) fed Marigold (*Calendula officinalis*) powder a natural carotenoid source. *Journal of the World Aquaculture Society*.

KMUTT. (2001). Laboratory instruction: A workshop on mass cultivation of *Spirulina*, 8 – 11 January, 2001. King Monkut's University of Technology, Thonburi, Bangkok, Thailand. (In Thai)

Kiriratnikom, S., Zaau, R. & Suwanpugdee, A. (2005). Effect of various levels of *Spirulina* on growth performance and pigmentation in goldfish (*Carassius aurarus*). *Songklanakarin J.Sci.Tecnnol*. 27:133-139.

Kiriratnikom, S., Kiriratnikom, A. & Chokswadikorn, P. (2013). Effect of dietary carotenoids on pigmentation of tin foil barb (*Baebonymus schwanenfeldii*). Research report, Faculty of Science, Thaksin University. (In Thai)

Kraisurasre, A., Kraisurasre, S. & Paladim, J. (2008). Experiment on culture *Trigonostigma espei* broodstock, Technical Paper No.36/2008. Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (In Thai)

Kumano, S. (2002). Freshwater red algae of world. Biopress Limited, Bristol, England.

Kumprom, T., Promya, J., Meag-Umphan,Whangchai, N. & Chitmanat, C. (2011). Effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* sp. on immunity stimulating capacity and color improvement of goldfish (*Carassius auratus*). *KKU Res J*. 16(6): 612-621. (In Thai)

Ljungqvist, M.G., Dissing, B.S., Nielsen, M. E., Ersbøll, B. K., Clemmensen, L. H. & Frosch, S. (2012). Classification of astaxanthin colouration of Salmonid fish using spectral imaging and tricolour measurement. (online). Retrieved from 5 February 2019 from https://www. Orbit. Dt u.dk/fedora/ objects/orbit:114466/datastreams/file_10 664366/content.

Luealae, W. (2019).Potential of freshwater red alga, *Caloglossa beccarii* De Toni for cosmetic application. Thesis of master science. Rajamangala University of Technology Srivijaya. (In Thai)

Naulcharoen, M., Sangkaew, C., Naulcharoen, P., Peerapornpisal, Y. & Kumano, S. (2007). Diversity and distribution of freshwater red algae (Rhodophytes) in southern Thailand. *J. Sci. Res. Chulalongkorn Univ*. 6:95-105. (In Thai)

Necchi, Jr. O. (2016). Red algae (Rhodophyta). pp. 65-92. *In* Necchi (Eds.). River algae. Springer, Switzerland.

Paibulkichakul, C., Biaolek, C.,Hiransuchalert, R., & Paibulkichakul, B. (2016). Effect of marigold petal supplementation in commercial diet on pigmentation in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *KhonKaen Agr.J*. 44(3):461-468. (In Thai)

Peerapornpisal, Y. (2003). Phycology. Faculty of Science, Chiang Mai University. (In Thai)

Phaichamnan, U. & Wattanakul, W. (2000). Effect of carotenoid pigment from star gooseberry (*Phyllanthua acidus*) leaf on color of swordtail (*Xiphophorus variatus*). RMUTSV Research report. (In Thai)

Phromkunthong, W., & Pipattanawattanakul, A. (2003). Effect of *Spirulina* sp. on growth performance and antibody levels in hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus* (Burchell). *Songklanakarin J.Sci.Tecnnol*. 27:115-132.

Promya, J., Ungsethaphan, T. & Srinuansom, K. (2007). Effect of raw *Spirulina* on growth performance, nutrition values and carotenoid in red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Fisheries Technology Research*. 1(1): 30-41.

Samranrat, N. (2018). Effect of synthetic carotenoid on the pigmentation of spine-cheek anemonefish (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790). Master degree Thesis. Burapha University. (In Thai)

Seanjundaeng, P. (2004). The encyclopedia of freshwater fishes of Thailand. Khon Kaen. (In Thai)

Sermwatanakul, A. & Pumpuang, P. (2005). Oramental fish trade. Technical paper 6/2005. Inland Fisheries Research and Development Division, Department of Fisheries. (In Thai)

Srinuausom, K., Prasertsom, N., Witayawarawat, C., Montien-Art, B. & Promya, J. (2011). Comparison of effects of *Euglena sanguinea* and *Spirulina platensis* as food supplement on enhancing fancy carp (*Cyprinus carpio*) color. The Proceeding of 49th Kasetsart University Annual Conference, 1-4 February 2011. (In Thai)