รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

รูปแบบ การสะสมสารสี ของสัตว์ทะเลกลุ่มเอคไคโนเดิร์ม

Pigment accumulation profiles in Echinoderms

ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ดร.รวิวรรณ วัฒนดิลก

คณะผู้วิจัย

ดร.อมรรัตน์ กนกรุ่ง

ดร.คคนางค์ รัตนานิคม

นางสาวศิริวรรณ ชูศรี

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

รหัสโครงการ 2559A 10803015

สัญญาเลขที่ 5/2559

โครงการวิจัย

รูปแบบ การสะสมสารสี ของสัตว์ทะเลกลุ่มเอคไคโนเดิร์ม

Pigment accumulation profiles in Echinoderms

ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ดร.รวิวรรณ วัฒนดิลก

คณะผู้วิจัย

ดร.อมรรัตน์ กนกรุ่ง

ดร.คคนางค์ รัตนานิคม

นางสาวศิริวรรณ ชูศรี

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากแหล่งเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 5/2559

คณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้เล็งเห็นความสำคัญของการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถพัฒนาการความรู้ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ซึ่งส่งผลถึงแนวทางในการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคม ด้วยการใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณคณะทำงานวิจัยของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้อย่างดีและต่อเนื่อง จนทำให้งานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อมรรัตน์ กนกรุ่ง
หัวหน้าโครงการวิจัย

Abstract

This study aimed to study carotenoid and anthocyanin in 9 species of starfish, namely *Linckia multiflora*, *Protoreaster nodosus*, *Pentaceraster gracilis*, *Linckia laevigata*, *Linckia guildingi*, *Linckia laevigata*, *Culcita schmideliana*, *Anthenea pentagonula* and *Luidia maculate* as well as 3 species of sea cucumber, including *Stichopus horrens* Selenka, 1867 *Holothuria leucospilota*, Brandt 1985 and *Cercodemas anceps*, Selenka 1867. All samples were collected from natural sources in the southern and the eastern part of Thailand. The analysis method using High Performance Liquid Chromatography proposed by Brition et al. (1995) was operated to determined types and contents of carotenoids. It was found that the astaxanthin content was the higher than that of another 5 carotenoids (beta-carotene, cantaxanthin, echineneone, zeaxanthin and lutein) in starfish and sea cucumber samples. The highest astaxanthin content was found as 27881.92 µg/g of wet weight in *L. laevigata* while the lowest astaxanthin content was found in *L. maculate* (13.59 µg/g of wet weight). Among the sea cucumber samples, the *C. anceps* had the highest content of astaxanthin (167.51 µg/g of wet weight). In this study, beta-carotene, cantaxanthin and echinenone contents were much lower than astaxanthin, zeaxanthin and lutein. In addition, in the anthocyanin study *C. schmideliana* and *C. anceps* had the highest total anthocyanin content (4.49 µg/g and 1.5 µg/g of we weight, respectively).

บทคัดย่อ

ศึกษาสารสีแคโรทีนอยด์และสารสีแอนโทไซยานินรวมในสัตว์ทะเลกลุ่มดาวทะเลและกลุ่มปลิงทะเล โดยมีการศึกษาในดาวทะเล จำนวน 9 ชนิด คือ *Linckia multiflora*, *Protoreaster nodosus*, *Pentaceraster gracilis*, *Linckia laevigata*, *Linckia guildingi*, *Linckia laevigata*, *Culcita schmideliana*, *Anthenea pentagonula* และ *Luidia maculate* ส่วนในปลิงทะเลที่ทำการศึกษา จำนวน 3 ชนิด คือ ปลิงหินหนาม (*Stichopus horrens* Selenka, 1867) ปลิงทะเลสีดำ (*Holothuria leucospilota*, Brandt 19835) และ ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง (*Cercodemas anceps*, Selenka 1867) ซึ่งตัวอย่างที่ทำการศึกษาในครั้งนี้เก็บจากแหล่งธรรมชาติบริเวณภาคใต้และภาคตะวันออกของประเทศไทย ในการศึกษาชนิดและปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์โดยใช้วิธีการวิเคราะห์หาชนิดละปริมาณสารสีด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Britton และคณะ (1995)

จากการศึกษาพบว่าสารสี astaxanthin เป็นแคโรทีนอยด์ที่พบในปริมาณสูงกว่าแคโรทีนอยด์อีก 5 ชนิด ที่ทำการศึกษา (beta-carotene, cantaxanthin, echineneone, zeaxanthin และ lutein) ในสัตว์ทะเลกลุ่มดาวทะเลและปลิงทะเล โดย astaxanthin พบในปริมาณสูงสุดเมื่อทำการศึกษาในดาวทะเล *Linckia laevigata* คือ 27881.92 µg/g ของน้ำหนักเปียก และพบต่ำสุดในดาวแสงอาทิตย์ *Luidia maculate* (13.59 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ส่วนในปลิงทะเลพบมีปริมาณสูงในปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู (167.51 µg/g ของน้ำหนักเปียก) สารสีแคโรทีนอยด์ชนิด zeaxanthin และ lutein พบว่าแคโรทีนอยด์ทั้งสองชนิดนี้พบมากสุดในดาวทะเลเหลืองแดง (*Linckia multiflora*) คือ 41.74 µg/g ของน้ำหนักเปียก ส่วนในปลิงทะเลพบว่ามีปริมาณสารสีแคโรทีนอยด์ชนิดนี้สูงสุดในปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู (2.58 µg/g ของน้ำหนักเปียก)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสีแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene, cantaxantthin และ echinenone พบในปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับ astaxanthin, zeaxanthin และ lutein ส่วนในการศึกษาสารสีแอนโทไซยานินรวมในสัตว์ทะเลกลุ่มดาวทะเลและปลิงทะเลนั้นพบว่ามีปริมาณของแอนโทไซยานินรวมสูงสุดเมื่อทำการศึกษาในดาวทะเลหมอนปักเข็ม คือ 4.49 µg/g ของน้ำหนักเปียก และในการศึกษาสารแอนโทไซยานินในสัตว์ทะเลกลุ่มปลิงทะเล พบว่ามีปริมาณสูงสุดในปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู คือ 1.5 µg/g ของน้ำหนักเปียก

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิติกรรมประกาศ

บทคัดย่อ ก

สารบัญเรื่อง ค

สารบัญภาพ ง

สารบัญตาราง จ

บทที่ 1 บทนำ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตของโครงการวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

สถานที่ทำการวิจัย 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 9

การวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC 10

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม 11

โดยวิธี pH diferential method

สถานที่ทำทดลอง 12

บทที่ 4 ผลการศึกษา 13

ผลการศึกษา ชนิด และ ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ 13

ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด

ผลการศึกษา ชนิด และ ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ 14

ในปลิงทะเลจำนวน 3 ชนิด

ผลการศึกษาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม 15

ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด

ผลศึกษาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม 15

ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด

แสดงรูปภาพสัตว์ในการศึกษา 16

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา 21

เอกสารอ้างอิง 24

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ดาวทะเลเหลืองแดง (*Linckia multiflora*) 16
ภาพที่ 2 ดาว Chocholate chip seastars (*Protoreaster nodosus*) 16
ภาพที่ 3 ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (*Pentaceraster gracilis*) 16
ภาพที่ 4 ดาว Blue seastars (*Linckia laevigata*) 16
ภาพที่ 5 ดาว Yellow seastars (*Linckia guildingi*) 16
ภาพที่ 6 ดาว Pink seastars (*Linckia laevigata*) 16
ภาพที่ 7 ดาวหมอนปักเข็ม (*Culcita schmideliana*) 17
ภาพที่ 8 ดาว Orange-coloured Cake (*Anthenea pentagonula*) 17
ภาพที่ 9 ดาวแสงอาทิตย์ (*Luidia maculate*) 17
ภาพที่ 10 ปลิงหนาม (*Stichopus horrens*) 17
ภาพที่ 11 ปลิงทะเลดำ (*Holothuria leucospilota*) 17
ภาพที่ 12 ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู (*Cercodemas anceps*) 17

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณของสารสีแคโรทีนอยด์ ชนิด Astaxanthin, Beta-carotene , Cathaxanthin, Echinenone , Zeaxanthin และ Lutein ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด และปลิงทะเลจำนวน 3 ชนิด 18

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของสารสีแอนโทไซยานิน ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด และปลิงทะเล จำนวน 3 ชนิด 19

ตารางที่ 3 แสดงรายชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของดาวทะเล และปลิงทะเล ที่ใช้ในการศึกษา 20

บทที่ 1
บทนำ

โดยทั่วไปในการเลี้ยงกุ้งตัวตลก (Harlequin shrimp, *Hymenocera picta*) นับเป็นกุ้งทะเลสวยงามที่ได้รับความสนใจจากผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการจัดแสดงในตู้แสดง ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบทั้งหมด 1 ชนิด กุ้งตัวตลกเป็นกุ้งขนาดเล็ก ขนาดความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เกือบทั้งหมดพบในเขตแนวปะการังและกองหินใต้น้ำ โดยอาหารของกุ้งตัวตลกคือสัตว์ในกลุ่มดาวทะเล ในPhylum Echinodermata, Class Asteroidea เช่น ดาวแดง (*Linckia* sp.),Crown of thorns sea star (*Acanthaster planci*), ดาว Chocolate Chip โดยพ่อแม่พันธุ์กุ้งตัวตลก 1 คู่ สามารถกิน ดาว Chocolate Chip ขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ และกินหมดภายในระยะ 2 สัปดาห์ (Fossa and Nilsen, 2000; http://www.reefpedia.com/index.php/Harlequin_shrimp) หรือดาวทะเลขนาดเล็กสกุล *Asterinai* spp. รวมถึงดาวชนิดอื่นๆ ซึ่งได้แก่ *Archaster typicus*, *Fromia imdica* อีกทั้งยังมีรายงานว่ากุ้งตัวตลกนี้อาจจะกินขาเดินของเม่นทะเลขนาดเล็กด้วย (Raabe and Raabe, 2007)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงปริมาณของสารสีที่อยู่ในสัตว์กลุ่ม แอคไคโนเดิร์ม เพื่อให้ทราบถึงชนิดของสารสี และปริมาณของสารสีที่สะสมในสัตว์กลุ่มนี้ (Takao Matsuno, 2001) เพราะว่าในการคัดเลือกวัตถุดิบที่ใช้ประกอบการผลิตอาหารสำเร็จรูปนั้นสิ่งสำคัญผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูปจะต้องรู้ถึงองค์ประกอบที่สำคัญของวัตถุดิบที่จะเลือกใช้ สัตว์กลุ่มแอคไคโนเดิร์มเป็นอาหารของกุ้งตัวตลกเพราะฉะนั้นในการผลิตอาหารสำเร็จรูปเลือกใช้สัตว์กลุ่มนี้จะเป็นการเลือกใช้วัตถุดิบอาหารกุ้งตัวตลกที่ใกล้เคียงกับพฤติกรรมการกินของกุ้งตัวตลก สารสีที่มีในกลุ่มแอคไคโนเดิร์มจะส่งผลถึงการพัฒนาสีของกุ้งตัวตลก เนื่องจากสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์หรือทำการสร้างสารสีด้วยตัวเองได้ (Anderson *at al*, 2003) เพราะฉะนั้นการที่สัตว์มีสีสวยงามนั้นจะได้จากการกินอาหารเข้าไปเท่านั้น ในการศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ และชนิดของการสะสมสารสีในสัตว์กลุ่มเอคไคโนเดิร์ม จำนวน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มของดาวทะเล และ ปลิงทะเล โดยวิเคราะห์จำแนกชนิดของสารสีแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสีที่อยู่ในดาวทะเล และ ปลิงทะเล เพื่อนำมาพัฒนางานวิจัยเพื่อให้เกิดประโยชน์อย่างแท้จริงในส่วนของการเลือกใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสำเร็จรูปเพื่อในการเลี้ยงกุ้งตัวตลก เพื่อเป็นการลดปัญหาของการล่าจับดาวทะเลมาเพื่อขายหรือจำหน่ายให้กับผู้ที่สนใจในการเพาะเลี้ยงกุ้งการ์ตูนไม่ว่าในส่วนของการเลี้ยงเพื่อความสวยงามหรือจะเป็นการเลี้ยงเพื่อจำหน่าย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อให้ทราบถึงรูปแบบของการสะสมสารสี ในสัตว์กลุ่มของ Echinodermata ที่อยู่ในคลาส (class) ดาวทะเล และ ปลิงทะเล ที่สามารถนำมาเป็นองค์ประกอบของอาหารสำเร็จรูปกุ้งตัวตลก

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาชนิดและปริมาณสารสีในสัตว์ทะเลกลุ่ม Echinodermata จำนวน 12 ชนิด คือ ดาวทะเล จำนวน 9 ชนิด และปลิงทะเล จำนวน 3 ชนิด จากแหล่งเก็บตัวอย่างทางภาคใต้และภาคตะวันออกของประเทศไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงรูปแบบของแคโรทีนอยด์ แอนโทไซยานิน ในสัตว์ทะเล Echinodermata เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิจัยขั้นถัดไป และการนำไปใช้ประโยชน์ต่อการประกอบธุรกิจอาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์น้ำสวยงามหรืออาหารสัตว์น้ำ

สถานที่ทำการวิจัย

งานวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์และพืชทะเล และงานวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ฝ่ายวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา 169 ถนนลงหาดบางแสน ต. แสนสุข อ. เมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี 20131

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แคโรทีนอยด์มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตและยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสัตว์น้ำหลายชนิด แคโรทีนอยด์มีหลายชนิดซึ่งในแต่ละชนิดมีความสำคัญและบทบาทที่แตกต่างกันไป สัตว์น้ำเหล่านี้ไม่สามารถสร้างมาจากภายในร่างกายของตัวมันเองได้ แต่จะได้รับจากการกินอาหารเข้าไปเท่านั้น ซึ่งอาหารของสัตว์น้ำพวกนี้เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ แคโรทีนอยด์จะถูกนำมาเข้าสู่สัตว์น้ำโดยการกินแพลงก์ตอนสัตว์ และแพลงก์ตอนสัตว์ก็จะได้รับแคโรทีนอยด์จากการกินสาหร่ายขนาดเล็กและซึ่งสาหร่ายขนาดเล็กจะเป็นตัวตั้งต้น(precursor) ของแคโรทีนอยด์ และเมื่อสัตว์ได้รับเข้าไปในร่างกายแล้วจะเกิดการสะสมของแคโรทีนอยด์ในรูปแบบที่แตกต่างกัน (Anderson *at al*, 2003)

ปลิงทะเล (sea cucumber)

ปลิงทะเลเป็นสัตว์น้ำเค็มชนิดหนึ่งซึ่งได้รับความนิยมในการนำมาบริโภค อีกทั้งได้รับความนิยมกันอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะการได้รับความนิยมบริโภคของชาวจีน ปลิงทะเลเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ชอบอาศัยอยู่ตามพื้นของท้องทะเล มีการขุดเพื่อฝังตัวอยู่ในโคลน ทราย หรืออาศัยอยู่ตามพื้นทะเลที่มีการแพร่กระจายของสาหร่ายทะเล เป็นการอาศัยอยู่แบบพลางตัวสาหร่ายใหญ่ที่มีปริมาณมากพอที่จะพรางสัตรูให้กับปลิงทะเลได้ดี ปลิงทะเลมีรูปร่างทางด้านความยาวแตกต่างกัน ลักษณะลำตัวโดยทั่วไปแล้วมีรูปร่างทรงกระบอก ยาวคล้ายถุง มีปากและช่องขับถ่ายอยู่ที่ปลายส่วนหัวและหาง บริเวณรอบปากของปลิงมีส่วนที่ยื่นออกมาเรียกว่าหนวด (tentacles) ซึ่งหนวดของปลิงทะเลเป็นอวัยวะอย่างหนึ่งที่สามารถใช้ในการจำแนกกลุ่มของปลิงทะเล ปลิงทะเลมีลักษณะของผิวด้านนอกนุ่มแต่ลักษณะผิวจะมีความหยาบ มีลักษณะบางโปร่งแสง หรือหนาทึบแสง แต่มีปลิงบางชนิดที่มีลักษณะผิวเรียบ ซึ่งที่บริเวณผิวของปลิงทะเลจะมีปุ่มยื่นออกมาทำให้มีลักษณะนูนติดกันที่ผิวด้านนอก และบริเวณผิวด้านนอกของปลิงจะมีส่วนที่ยื่นออกมาเราเรียกว่าสปิคุล (spicules) ลักษณะของสปิคุลมีความจำเป็นในการจำแนกกลุ่มใช้ในการจำแนกชนิดของปลิงทะเล เพราะปลิงทะเลแต่ละชนิดจะมีจำนวนของสปิคุลที่แตกต่างกันและมีลักษณะที่แตกต่างกัน

ปลิงทะเลมีลักษณะการกินอาหารแบบกรองกิน อาหารที่ปลิงกินเป็นประเภทสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อาศัยอยู่ตามพื้นที่ปลิงอาศัยอยู่ หรือไปหาอาหารกินบริเวณนั้น เช่น โปรโตซัว แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ที่ชอบอาศัยหรือมีการเจริญเติบโตอยู่ตามพื้น เวลากินอาหารปลิงจะใช้หนวดที่อยู่บริเวณรอบปากจับอาหารโดยอาศัยเมือกเหนียวที่มีอยู่ตามผิวหนวด คอยดักเก็บกรองอาหารที่ผ่านมากับน้ำทะเล อาหารที่ปลิงทะเลกรองกินนั้นมีลักษณะเป็นเหมือนสารแขวนลอย เช่น อินทรีย์สารที่ล่องลอยอยู่ตามกระแสน้ำ หรือตกอยู่ตามพื้นท้องทะเลซึ่งมักจะปนไปกับโคลนและทราย เป็นบริเวณที่ปลิงทะเลมีการฝังตัวอยู่ ปลิงทะเลมีลักษณะนิสัยชอบอาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลซึ่งมี

ระดับความลึกของน้ำอยู่ระหว่าง 20-30 เมตร เรามักจะพบปลิงทะเลเหล่านี้ตามบริเวณหาดทรายปนเลนหรือบริเวณที่มีทราย (ทิพามาศ และ วีระชาติ, 2551) อีกทั้งตามบริเวณที่มีกระแสน้ำไหลอยู่ตลอดเวลา เช่น บริเวณเกาะที่มีแนวปะการัง อีกทั้งยังมีรายงานว่าปลิงทะเลจะชอบเจริญเติบโตในบริเวณที่มความเค็มไม่สูงมาก และสามารถงอกส่วนที่ขาดได้ภายในระยะเวลา 2 เดือน (chen jia xin, 1990) และการพัฒนาของปลิงทะเลระยะวัยอ่อนนั้นจะมีพัฒนาการที่เริ่มลงสู่พื้นในระยะ Perdactula เมื่อวัยอ่อนปลิงทะเลมีอายุประมาณ 12 วัน การอยู่อาศัยของปลิงทะเลชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มืดหรือแสงสว่างน้อย ไม่ชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีแสงสว่าง และปลิงทะเลชอบออกหาอาหารในเวลากลางคืน

ดาวทะเล (seastars)

ดาวทะเล เป็นสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังอยู่ในกลุ่มเดียวกับปลิงทะเล ดาวทะเลมีลักษณะลำตัวที่มีส่วนของร่างกายที่แยกเป็นห้าแฉกคล้ายรูปดาวเราเรียกส่วนที่แยกออกมาแบบนี้ของดาวทะเลว่า แขน บริเวณส่วนกลางของลำตัวดาวทะเลมีลักษณะเป็นจานกลม ผิวด้านหลังมีตุ่มหินปูนขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป ส่วนบริเวณปากของดาวทะเลจะอยู่ทางด้านล่างของลำตัว เมื่อทำการหงายตัวดาวทะเลขึ้นเราจะพบบริเวณที่เป็นปากของดาวทะเล อยู่ที่จุดกึ่งกลางของ ลำตัว ซึ่งบริเวณใต้แขนของดาวทะเลแต่ละข้างมีหนวดสั้น มีลักษณะการเรียงตัวหนวดสั้นเหล่านี้ ตามส่วนยาวของแขนที่ยื่นออกมาจากลำตัวของดาวทะเลโดยมีการเรียงตัวแบบเป็นคู่ มีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อที่เหนียวและแข็งแรง ซึ่งบริเวณนี้จะมีการขับเมือกออกมาจากตัวดาวทะเลเพื่อใช้สำหรับยึดเกาะกับเคลื่อนที่ โดยบริเวณเหล่านี้จะมีลักษณะของสีที่มีความแตกต่างกัน เช่น ขาว, ชมพู, แดง, ดำ, ม่วง หรือน้ำเงิน เป็นต้น ดาวทะเลเหล่านี้มักจะถูกพบที่บริเวณชายฝั่งทะเล โขดหิน แต่โดยส่วนใหญ่แล้วมักจะพบตามบริเวณท้องทะเลลึก อาหารของดาวทะเลส่วนมากมักจะกินหอยสองฝา เช่น หอยนางรม หรือหอยลาย เป็นต้น

การสืบพันธุ์ของดาวทะเลมีกระบวนการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ แบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ โดยมีทั้งเพศผู้และเพศเมีย การปฏิสนธิของดาวทะเลจะเกิดภายนอกตัว ซึ่งในระยะแรกตัวอ่อนที่กำลังมีการพัฒนาในระยะดาวทะเลวัยอ่อนเหล่านี้จะมีการดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอน คือการที่ตัววัยอ่อนของดาวทะเลระยะนี้มีการล่องลอยตามกระแสน้ำ จากนั้นดาวทะเลวัยอ่อนจะมีการพัฒนาการเจริญเติบโตในระยะที่มีการพัฒนาสำหรับลงเกาะ เมื่อการพัฒนาตัวอ่อนในระยะนี้แล้วจึงปล่อยตัวอ่อนของดาวทะเลระยะนี้เพื่อลงเกาะตามพื้น หลังจากการหาพื้นที่ลงเกาะแล้วดาวทะเลระยะนี้จะมีการพัฒนาเพื่อให้มีการเจริญเติบโตเป็นดาวทะเลที่มีลักษณะเหมือนพ่อแม่ หรือเราจะเรียกกันว่าระยะตัวเต็มวัย ส่วนในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนั้นจะเกิดขึ้นในกรณีที่ดาวทะเลตัวเต็มวัยถูกศัตรูทำให้บริเวณแขนขาด ดาวทะเลจะมีการพัฒนาบริเวณนั้นขึ้นมาใหม่ อีกทั้งสามารถที่จะพัฒนาตรงส่วนนั้นกลายเป็นดาวทะเลตัวใหม่เกิดขึ้น และตัวที่ขาดก็จะงอกชิ้นใหม่ขึ้นมาได้จนสมบูรณ์

การเคลื่อนที่ของดาวทะเล จะมีการเคลื่อนที่ด้วยระบบท่อน้ำ ซึ่งท่อน้ำจากท่อวงแหวนจะมีท่อน้ำแยกออกไปในแขน มีการหดยืดของท่อและลำตัวจึงทำให้เกิดการเคลื่อนที่ได้ ดาวทะเลในปัจจุบันนี้พบอยู่ด้วยประมาณ 1,800 ชนิด ดาวทะเลที่พบตามธรรมชาติเราสารถพบได้ทั้งชนิดที่มีขนาดเล็กประมาณ 1 เซนติเมตร และขนาดใหญ่ซึ่งอาจจะมีความยาวได้เกือบถึง 1 เมตร ดาวทะเลมีเปลือกแข็งห่อหุ้มลำตัว มีผิวลักษณะเป็นหนามตามลำตัว ดาวทะเลไม่มีโครงสร้างเพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ แต่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยการใช้เท้าหรือส่วนที่เราเรียกกันว่าแขน (tube feet) โดยทำการดูดและปล่อยแรงดันของน้ำออกมาจากบริเวณดังกล่าวจึงทำให้ดาวทะเลสามารถเคลื่อนที่ได้ ปลิงทะเลมีชอบอาศัยอยู่ตามบริเวณหาดหินชอบอาศัยอยู่ในบริเวณเขตน้ำขึ้นน้ำลง และมีลักษณะเป็นแนวปะการัง เพราะตามแอ่งน้ำที่อยู่โดยรอบของปะการังทำให้มีความอุดมสมบูรณ์ของอาหารสำหรับปลิงทะเล

อนุกรมวิธานของดาวทะเล

อาณาจักร (Kingdom)	Animalia
ไฟลัม (Phylum)	Echinodermata
ชั้น (Class)	Asteroidea

อนุกรมวิธานของปลิงทะเล

อาณาจักร (Kingdom)	Animalia
ไฟลัม (Phylum)	Echinodermata
ชั้น (Class)	Holothuroidea
อันดับ (Order)	Aspidochirotida

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Baron M. และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมสารสีจากแหล่งต่าง 3 แหล่ง คือ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ (Lucantin Pink), ผงจากน้ำสกัดบีทรูท (ซึ่งมีสารสีกลุ่ม balatin เป็นหลัก) และ ผงสกัดจาก Overseal Carantho (ซึ่งให้สารสีกลุ่ม astrocyanin เป็นหลัก) ในอาหาร ซึ่งทำการทดลองในปลา Colisa lalai โดยการให้ปลากอาหารที่มีการเสริมสารสีจากแหล่งต่างๆและเปรียบเทียบความเข็มของสีและพฤตอกรรมของปลาที่ได้รับสารสีเสริมกับกลุ่มปลาควบคุม พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสีกลุ่มแอสตาแซนทินสังเคราห์ (Lucanthin Pink) จะมีสีแดงที่เข็มและชัดเจนมากขึ้นที่ผิวของปลา ซึ่งตรงกันข้ามกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสีกลุ่มอื่นๆ และเมื่อสังเกตพฤติกรรมการก่อนช่วงผสมพันธุ์ พบว่าปลาเพศเมียจะถูกดึงดูดด้วยปลากลุ่มที่ได้รับสารสีเสริมที่เป็นแอสตาแซนทินสังเครห์มากกว่ากลุ่มอื่น

Johnson และ Cartwright (1996) ได้กล่าวถึงลักษณะของดาวมงกุฎหนามในระยะแรกจะมีลักษณะล่องลอยเหมือนแพลงก์ตอนอยู่ในมวลน้ำเมื่อดาวมงกุฎหนามมีการพัฒนาการเจริญเติบโตใกล้เคียงพ่อแม่จะเริ่มลงเกาะพื้น โดยมีลักษณะการกินอาหารตามพื้นที่อยู่อาศัย อีกทั้งยังพบว่าการลงเกาะพื้นของดาวหนามมงกุฎมีความสัมพันธ์กับสาหร่ายขนาดเล็ก กลุ่ม coralline

ทิพามาศ และวีระชาติ (2515) ทำการศึกษาพบว่ากลุ่มเอคไคโนเดิร์มมีความหลากหลายทางชนิดสูง พบ 21 ชนิดใน 9 วงศ์ ได้แก่ดาวทะเล (Asteroidea) จำนวน 5 ชนิด ดาวขนนก (Crinoidea) จำนวน 6 ชนิด เม่นทะเล (Echinoidea) จำนวน 5 ชนิด และปลิงทะเล (Holothuroidea) จำนวน 5 ชนิด สัตว์กลุ่มนี ส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่ สามารถ สังเกตเห็นได้ง่าย ยกเว้นกลุ่มดาวขนนก ซึ งการจำแนกชนิดในภาคสนามกระทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจาก ดาวขนนกแต่ละชนิดมีความผันแปรของรูปแบบสีและมักหลบซ่อนอยู่ตามซอกปะการัง ทำให้ลักษณะเด่นที่ ใช้ในการจำแนกเห็นไม่ชัดเจน การศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงบันทึกรูปแบบสีและบันทึกภาพ

Baker และคณะ (2002) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของการเสริมสารสีชนิดแอสตาแซนทินและแคนตาแซนทินในปลา ชนิด Atlantic salmon โดยการเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีการเสริมสารสี พบว่าการเพิ่มขึ้นของสีในเนื้อปลาจะสอดคล้องกับปริมาณของสารสีที่ปลาได้รับเสริมเข้าไป โดยกลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมสารสีแอสตาแซนทินและแคนตาแซนทิน จะมีปริมาณสารสีสะสมในเนื้อปลาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่สูงกว่ากลุ่มควบคุม และพบว่าความเข็มของสีของเนื้อปลาที่ผ่านการแปรรูปแล้วในกลุ่มที่มีการเสริมสีสีทั้งสองประเภทจะมีความเข็มของสีที่ใกล้เคียงกับสีที่ต้องการของตลาด

Barbosa M. J. และคณะ (1999) ทำการศึกษาปริมาณสารสีชนิดแอสตาแซนทินในซีรัมปลา rainbow trout โดยการเปรียบเทียบการเสริมสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Haematococcus pluvualis* หรือ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ (CAROPHYILL Pink) ในอาหารที่มีความเข็มข้นของไขมันสองระดับที่แตกต่างกัน โดยพบว่าการให้อาหารสัตว์ที่มีปริมาณไขมันสูงจะส่งผลให้มีการสะสมของแอสตาแซนทินในซีรัมที่สูงขึ้นทั้งกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินจากธรรมชาติและสังเคราะห์ และพบว่าปริมาณของแอสตาแซนทินในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินทั้งสองประเภทจะมีปริมาณแอสตาแซนทินที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Lucas (1982) ได้ทำการเพาะเลี้ยงดาวมงกุฎหนาม (*Acanthaster planet*) ในระยะวัยอ่อนที่ระยะ bipinnaria และ ระยะ brachiolaria ด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Dunaliella primolecta* Butcher ที่มีความหนาแน่นเซลล์แตกต่างกัน 5 ระดับ โดยเริ่มตั้งแต่ความหนาแน่นเซลล์ 5×10^2 ถึง 5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และทำการวัดขนาดของการเจริญเติบโตเมื่อทำการเลี้ยงได้ 24 ชั่วโมง อีกทั้งในการศึกษาครั้งนี้ผู้ที่ทำการศึกษาได้ศึกษาอัตราการกรองกินอาหารของ ดาวมงกุฎหนามวัยอ่อนระยะดังกล่าวนี้ด้วย จากการศึกษาในส่วนนี้พบว่า ตัวอ่อนทั้งสองระยะของดาวมงกุฎหนาม มีอัตราการกรองกินสูงขึ้นตามระดับความหนาแน่นเซลล์สาหร่าย *Dunaliella primolecta* Butcher ในดาวมงกุฎหนามวัยอ่อนทั้งสองระยะนี้

Nicola, M. D. (1953) ได้ทำการศึกษาแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล Echinoderm *Ophidiaster ophidianus* จากการศึกษาพบว่ามีแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene, cryptoxanthin และ astaxanthin ในปริมาณที่แตกต่างกัน แคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นคือ astaxanthin โดยพบในปริมาณสูงกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น คือ 57.3 % of total pigmenmnts ส่วน beta-carotene พบในปริมาณที่น้อยมากทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก beta-carotene ได้มีการเปลี่ยนโดยขบวนการเมตาโบลิซึมซึ่งจะถูกเปลี่ยนเพื่อเก็บไว้ในรูปของ astaxanthin

Delgado-Vargas, F. และคณะ (2000) ได้กล่าวถึงรงควัตถุที่ให้สีตามธรรมชาติมีกลุ่มแคโรทีนอยด์ และแอนโทไซยานิน สิ่งมีชีวิตที่มีสีสันสวยงามเกิดจากการเก็บสะสมและการแสดงออกของรงควัตถุสารสีในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดนั้น สิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีการพัฒนาสร้างความสวยงามขึ้นมาเพื่อให้เกิดความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งรงวัตถุสารสีที่ปรากฏขึ้นเพื่อเพิ่มความสวยงามนั้นส่วนใหญ่แล้วจะเกิดกับสัตว์มากกว่าเกิดกับมนุษย์ โดยเฉพาะสัตว์ทะเลการสร้างสีสันของสัตว์เหล่านี้เพื่อป้องกันภัยให้กับตนเองโดยให้มีสีใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย การสังเคราะห์รงควัตถุนี้อันดับแรกมาจากพืชเป็นรงควัตถุหลายชนิดเช่น แคโรทีนอยด์ แอนโทไซยานิน และ betalains

Griffiths, M. and Perrott, P. (1976) ทำการศึกษาแคโรทีนอยด์ที่พบในปลิงทะเล *Strongylocentrotus drobachiensis* โดยทำการศึกษาอวัยวะที่เป็นส่วนของรังไข่ และไข่ ของปลิงทะเลชนิดนี้ในช่วงที่เป็นฤดูกาลที่มีการขยายพันธุ์ จากการศึกษาพบว่าปลิงทะเลมีแคโรทีนอยด์

หลายชนิด คือ echinenone, beta-carotene, zeaxanthin, isocryptoxantthin และ fucoxanthin ซึ่ง fucoxanthin พบปริมาณน้อยมากที่บริเวณส่วนของกระเพาะปลิงทะเลจากการวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมีของแคโรทีนอยด์พบ fucoxanthin, beta-carotene และ zeaxanthin

Eernisse, D. J. and คณะ (2010) ทำการศึกษาปลิงทะเลที่พบในบริเวณชายฝั่งทะเลแปซิฟิกของทวีปอเมริกาเหนือ ถึงบริเวณทางใต้ของ Ensenada, Baja California ประเทศแมกซิโก จากการศึกษาพบว่าดาวทะเลที่มีระยะเป็นตัวเต็มวัยมีขนาดของตัวเล็ก การแสดงออกของสีดาวทะเลที่พบในบริเวณนี้มีลักษณะที่เป็นวงรัศมีรอบลำตัวดาวทะเล ดาวทะเลมีลักษณะการขยายพันธุ์โดยการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาหลังจากนั้นแล้วเซลล์พันธุ์เหล่านี้จะถูกปล่อยล่องลอยเป็นอิสระตามกระแสน้ำทะเล และปล่อยตัวลงเกาะตามพื้นที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะนี้ หลังจากนั้นจะมีการพัฒนาการเจริญเติบโตของลำตัวแบบรัศมีวงกลม

Tsushima and Mutsuno (1990) ทำการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีทางด้านแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเลกลุ่ม Echinodermata โดยทำการศึกษาในส่วนของที่เป็น gonad และ หนาม (spine) ของเม่นทะเลเพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ว่ามีโครงสร้างเป็นลักษณะโครงสร้างแบบ regular หรือรูปแบบ irregular จากการศึกษาพบว่ากลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่มีลักษณะโครงสร้างแบบ irregular มากกว่าโครงสร้างแบบ regular สัตว์ชนิดนี้มีกระบวนการเมตาโบลิซึมที่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ให้เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ด้วยกระบวนการภายในตัวของเม่นทะเลแคโรทีนอยด์ที่พบ คือ β, β-carotene, β-echinenone และ (6’R)-α-echinenone ในส่วนของการศึกษายังพบว่า astaxanthin เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นของเม่นทะเล

Tsushima and Kawakami (1993) ทำการศึกษากระบวนการเมตาโบลิซึมของแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล เม่นทะเล *Pseudocentrotus depressus* โดยทำการเลี้ยงเม่นทะเลด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิดที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ β, β-carotene, canthaxanthin และ astaxanthin จากการศึกษาเม่นทะเลชนิดนี้เมื่อทำการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิด canthaxanthin และ astaxanthin จากการศึกษาพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอดย์ทั้งสองชนิดนี้และเมื่อมีการเปรียบเทียบความแตกต่างทางด้านสถิติพบว่าการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างทางด้านสถิติ ส่วนเม่นทะเลที่ทำการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิด β, β-carotene เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากระบวนการเมตาโบลิซึมของเม่นทะเลได้เปลี่ยนจากแคโรทีนอยด์ β, β-carotene เปลี่ยนเป็นการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิด β-carotene ในสัตว์ทะเลชนิดนี้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1.1 วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ทำวิจัยในการศึกษา

1.1.1 ถังเก็บตัวอย่าง

1.1.2 ตัวดูดสารละลายอัตโนมัติ (automatic pipette)

1.1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง

1.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (analytical balance) Alsep EU- 198 No. 700142

1.1.5 โกร่งบดตัวอย่าง

1.1.6 UV-Visible spectrophotometer

1.1.7 Centrifuge

1.1.8 Drying oven

1.1.9 Magnetic stirrer

1.1.10 โถดูดความชื้น

1.1.11 กระบอกตวงขนาด 10,50 และ100 มิลลิลิตร

1.1.12 บีกเกอร์ขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

1.1.13 หลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.1.14 เครื่อง centrifuge แบบควบคุมอุณหภูมิ

1.1.15 ชุดกรองสาร (suction flask และ ปั๊ม)

1.1.16 เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromotography)

1.1.17 คอลัมน์ C18 (dimensions 5 X 250 mm)

1.1.18 คอลัมน์ C18 (dimensions 5 X 150 mm)

1.1.19 ขวดน้ำกลั่น

1.1.20 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.1.21 Analytical balance บริษัทผู้ผลิต A&D, Japan

1.1.22 เครื่องปั่นแยกสารแบบควบคุมอุณหภูมิ บริษัทผู้ผลิต Tomy Seiko, Japan

1.1.23 เครื่องระเหยสาร บริษัทผู้ผลิต Buchi, Switzerland

1.1.24 ขวดแก้วก้นกลม ขนาด 100 และ 200 มิลลิลิตร

1.1.25 Separated funnel

1.1.26 พาสเจอร์ปิเปตขนาดเส้นผ่าศูนย์ 5 มิลลิเมตร

1.1.27 กรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซ็นติเมตร

1.1.28 กรวยแยกสาร (separatory funnel) ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.1.29 ขวดใส่ตัวอย่างสีชาฝาเกลียวขนาดบรรจุ 2 มิลลิลิตร

1.1.30 Filter membranes, PTFE Pore Size 45 μm

1.1.31 Syringe Filter Nylon membrane, Nylon Pore Size 0.22 μm ของ CNW® Technologies

1.1.32 Syring กรองตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

1.1.33 เข็มฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC

1.2 สารเคมีที่ใช้ทำวิจัยในการศึกษา

1.2.1 Acetone, AR grade

1.2.2 Hexane, AR grade

1.2.3 Methanol, AR grade

1.2.4 Petroleum ether, AR grade

1.2.5 Ethanol, AR grade

1.2.6 Chloroform, AR grade

1.2.7 Diethyl ether, AR grade

1.2.8 Acetone, HPLC grade

1.2.9 Hexane, HPLC grade

1.2.10 Acetonitrile, HPLC grade

1.2.11 Methanol, HPLC grade

1.2.12 Dichloromethane, HPLC grade

1.2.13 Nitrogen (N_2)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

ทำการศึกษา รูปแบบ และ ชนิด ของสารสีในสัตว์กลุ่มเอคไคโนเดิร์มซึ่งทำการเก็บตัวอย่างมาจากธรรมชาติบริเวณภาคตะวันออก และภาคใต้ ของประเทศไทย

1.1 ทำการเก็บตัวอย่างสัตว์ที่อยู่ในกลุ่มเอคไคโนเดิร์มจากชายหาดของภาคตะวันออกและภาคใต้ของประเทศไทย

1.2 ตัวอย่างที่ทำการเก็บนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างไว้ในถังเก็บตัวอย่างที่มีอุณหภูมิประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง

1.3 ทำการเตรียมตัวอย่างก่อนที่จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสี โดยทำการล้างตัวอย่างให้สะอาดไม่ให้มีทรายและเมือกติดที่ตัวอย่าง หลังจากนั้นจึงทำการเก็บตัวอย่างที่เตรียมแล้วใส่ในตู้เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80° C

1.4 ก่อนทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาชนิดและปริมาณสารสี ให้ทำการแยกส่วนของ ตัวอย่างออกเป็นส่วนๆ ทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 5-10 กรัม

1.5 หลังจากนั้นตัดตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนแล้วค่อยทำการเติมสารตัวทำละลายประมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างจากนั้น ทำการคนตัวอย่างด้วยแท่งแก้วแล้วจึงนำไปสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonic เพื่อให้มีการกระจายของตัวอย่างเพื่อสัมผัสกับตัวทำละลายได้ดีขึ้น ประมาณ 10–15 นาที

1.6 นำเอาตัวอย่างไปทำการ centrifuge ด้วยความเร็วรอบประมาณ 3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วจึงทำการดูด เอาส่วนสารละลายใสชั้นบน แล้วทำซ้ำจนสารละลายที่ได้ไม่มีสีของตัวอย่างระเหยตัวทำ ละลายออกด้วยเครื่องระเหยสาร แต่ในส่วนที่เป็นตัวอย่างที่ทำการสกัดด้วยเมททานอล และเอททานอลนั้นจะทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที

1.7 นำตัวอย่างที่ได้ไปทำการตรวจวัดหาค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer เพื่อหาชนิดของสารสีที่ค่าการดูดกลืนแสงของช่วงคลื่นที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์

1.8 เมื่อทราบชนิดของสารสีแล้วจึงทำการตรวจวัดหาปริมาณสารสีด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Britton และคณะ (1995) และ วิธีของ Ku และคณะ (2009)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม โดยวิธี pH diferential method

2.1 ทำการเตรียมตัวอย่างโดยการบดตัวอย่างให้ละเอียด

2.2 ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม แล้วน ามาบดในโกร่งโดยใช้ ethanol เป็นตัวทำละลาย และนำตัวอย่างที่ได้ไปทำการ sonicate ด้วยเครื่องเป็นเวลา30 นาที เพื่อให้ตัวทำละลายสามารถทำการสกัดสารแอนโทไซยานินออกจากตัวอย่างให้มากที่สุด

2.3 นำตัวอย่างใส่ในหลอดที่ใช้สำหรับเข้าเครื่องปั่นเหวียง หลังจากนั้นจึงนำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที

2.4 ทำการดูดส่วนสารละลายที่อยู่ด้านบนมาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ KCl, pH 1.0 และ sodium acetate buffer, pH 4.5 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 4 (สารสกัด 1 ส่วน และ บัฟเฟอร์ 4 ส่วน)

2.5 จากนั้นจึงนำสารผสมที่ได้จากข้อที่ 2.4 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ทำการจดบันทึกค่าที่ได้

2.6 ทำการคำนวณหาค่าแอนโทไซยานิน ตามสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalents, mg/L)} = (A \times MW \times DF \times 103) / (\varepsilon)$$

เมื่อ MW = มวลโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside ซึ่งมีค่า 449.2 g/mol

DF = dilution factor

ε = Extinction coefficient ซึ่งมีค่า 26900

$A = (A520\text{-}A700)_{pH1.0} - (A520\text{-}A700)_{pH4.5}$

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางสถิติ (Analysis of Variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS for windows และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง ด้วยวิธี multiple range test

สถานที่ทำการทดลอง

งานวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์และพืชทะเล งานวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ฝ่ายวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเล สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา 169 ถนนลงหาดบางแสน ต. แสนสุข อ. เมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี 20131 และคณะวิทยาศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์

บทที่ 4
ผลการศึกษา

1. ศึกษา ชนิด และ ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ ในดาวทะเล จำนวน 9 ชนิด คือ Comet seastars, Chocolate chip seastars , ดาวะเลปุ่มใหญ่, Blue seastars, Yellow seastars, Pink seastars, ดาวหมอนปักเข็ม, Orange-coloured Cake seastars และดาวแสงอาทิตย์

ทำการศึกษาชนิดและปริมาณของสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในดาวทะเลทั้ง 9 ชนิด โดยจำแนกเป็นดาวทะเลที่เก็บตัวอย่างจากทางภาคใต้ของประเทศไทย กับดาวทะเลที่มาจากแหล่งเก็บตัวอย่างทางภาคตะวันออกของประเทศไทย ซึ่งดาวทะเลที่มีแหล่งเก็บตัวอย่างจากทางภาคใต้มีจำนวน 7 ชนิด คือ Comet seastars (*Linckia multiflora*) , Chocolate chip seastars (*Protoreaster nodosus*) , ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (*Pentaceraster gracilis*), Blue seastras (*Linckia laevigata*) Yellow seastras (*Linckia guildingi*), Pink seastars (*Linckia laevigata*) และ ดาวหมอนปักเข็ม หรือดาวซาลาเปา (*Culcita schmideliana*) ส่วนดาวทะเลที่มาจากทางภาคตะวันออกมี 2 ชนิด คือ Orange-coloured Cake seastars (*Anthenea pentagonula*) และดาวแสงอาทิตย์ (*Luidia maculate*)

จากการศึกษาชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วยระบบของเครื่อง HPLC ซึ่งมีสารมาตรฐานเทียบ 6 ชนิด คือ สารมาตรฐาน Astaxanthin , Beta-carotene, Canthaxanthin, Echinenone, Zeaxanthin และ Lutein พบว่า สารสีชนิด Astaxanthin มีปริมาณสูงสุดในดาวทะเลชนิด Bleu seastars (27881.22 µg/g ของน้ำหนักเปียก) พบรองลงมาคือ Chocolate chip seastars (1801.57 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , ดาวทะเลเหลืองแดง (1156.70 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , Pink seastars (295.38 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , ดาวหมอนปักเข็ม (817.66 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Orang-Coloured cake seastars (401.31 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Yellow seastars (313.48 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (75.24 µg/g ของน้ำหนักเปียก) และดาวแสงอาทิตย์ (13.59 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สารสี Beta-carotene พบมีปริมาณสูงสุดในดาวหมอนปักเข็ม (0.68 µg/g ของน้ำหนักเปียก) รองลงมาคือ Blue seastars (0.64 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลเหลืองแดง (0.23 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Chocolate chip seastars (0.11 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Yellow seastars (0.09 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (0.07 µg/g ของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนในดาวทะเลชนิด Pink seastars และ Orange – Coloured cake seastars ไม่สามารถตรวจวัดหาปริมาณสารสี Beta-carotene ได้

สารสี Zeaxanthin และ Lutein พบว่ามีปริมาณสูงสุดในดาวทะเลเหลืองแดง (41.74 µg/g ของน้ำหนักเปียก) พบมีปริมาณรองลงมาคือ ดาวหมอนปักเข็ม (29.49 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Orange – Coloured cake seastars (27.15 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Chocolate chip seastars (26.69 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (26.54 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Blue seastars (24.75 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Pink seastars (19.18 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Yellow seastars (24.75 µg/g ของน้ำหนักเปียก) และดาวแสงอาทิตย์ (2.84 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ

สารสี Echinenone จากการศึกษาพบว่าสารสีชนิดนี้มีปริมาณมากในดาวทะเลชนิด ดาวหมอนปักเข็ม คือ 4.34 µg/g ของน้ำหนักเปียก มีปริมาณสารสีชนิดนี้รองลงมา คือ Blue seastars (1.81 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวแสงอาทิตย์ (1.43 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Pink seastars (0.98 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (0.62 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Chocolate chip seastars (0.33 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Yellow seastars (0.16 µg/g ของน้ำหนักเปียก) และ Orange-coloued cake seastars (0.07 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างดาวทะเลชนิด ดาวทะเลเหลืองแดง (comet seastars) สารสี Echinenone ไม่สามารถทำการตรวจวัดปริมาณได้

สารสี Cantaxanthin พบปริมาณสูงสุดในดาวทะเลชนิด ดาวทะเลหมอนปักเข็ม คือ 0.69 µg/g ของน้ำหนักเปียก พบในปริมาณรองลงมา คือ ดาวทะเลเหลืองแดง (0.50 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , Blue seastars (0.42 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (0.29 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Orange-coloued cake seastars (0.29 µg/g ของน้ำหนักเปียก) , Chocolate chip seastars (0.25 µg/g ของน้ำหนักเปียก) และดาวทะเลแสงอาทิตย์ (0.10 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณสารสีชนิดนี้ในดาวทะเล Yellow seastars และ Pink seastars ไม่สามารถตรวจวัดหาปริมาณได้ในดาวทั้งสองชนิดนี้

2. ศึกษา ชนิด และ ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ ในปลิงทะเล จำนวน 3 ชนิด คือ ปลิงหินหนาม (*Stichopus horrens Selenka*,1867) ปลิงทะเลสีดำ (*Holothuria leucospilota*, Brandt 19835) และ ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง (*Cercodemas anceps*, Selenka 1867)

จากการศึกษาปริมาณของ สารสีแคโรทีนอยด์ชนิด Astaxanthin พบว่ามีปริมาณสูงสุดในปลิงชนิดปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู คือ 167.51 µg/g ของน้ำหนักเปียก พบรองลงมาคือ ปลิงทะเลสีดำ ในปริมาณ 5.62 µg/g ของน้ำหนักเปียก และพบปริมาณต่ำสุดในปลิงหินหนาม คือ 1.07 µg/g ของน้ำหนักเปียก สารสีแคโรทีนอยด์ชนิด Cantaxanthin ในการศึกษาครั้งนี้สามารถตรวจวัดหา

ปริมาณได้ในปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู คือ 0.32 µg/g ของน้ำหนักเปียก ส่วนสารสีแคโรทีนอยด์ชนิด Cantaxanthin ไม่สามารถตรวจวัดหาปริมาณได้ในปลิงทะเลสีดำ และปลิงหินหนาม

สารสีแคโรทีนอยด์ ชนิด Beta-carotene พบว่ามีปริมาณมากในปลิงหินหนาม คือ 0.52 µg/g ของน้ำหนักเปียก พบรองลงมาคือ ปลิงทะเลสีดำ พบในปริมาณ 0.11 µg/g ของน้ำหนักเปียก ส่วนปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู ไม่พบสารสี Beta-carotene ในปลิงชนิดนี้ ในการวิเคราะห์หาสารสี Zeaxanthin และ Lutein ในปลิงทะเลที่ทำการศึกษาทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีปริมาณสารสีชนิดนี้สูงสุดในปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู คือ 2.58 µg/g ของน้ำหนักเปียก พบในปริมาณรองลงมาคือ ปลิงทะเลสีดำ 1.35 µg/g ของน้ำหนักเปียก และ ปลิงหินหนาม 1.23 µg/g ของน้ำหนักเปียก ตามลำดับ ส่วนในการศึกษาสารสีแคโรทีนอยด์ชนิด Echinenone นั้นจากการศึกษาในปลิงทะเลทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีสารสีชนิดนี้ในปลิงหินหนาม 0.03 µg/g ของน้ำหนักเปียก ส่วนในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถตรวจวัดหาปริมาณสารสี Echinenone ได้ ในปลิงทะเลสีดำและปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู

3. ศึกษาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม ในดาวทะเล จำนวน 9 ชนิด คือ Comet seastars, Chocolate chip seastars , ดาวะเลปุ่มใหญ่, Blue seastars, Yellow seastars, Pink seastars, ดาวหมอนปักเข็ม, Orange-coloured Cake seastars และดาวแสงอาทิตย์

เมื่อทำการศึกษาสารสีแอนโทไซยานินรวมในดาวทะเลทั้ง 9 ชนิด พบว่ามีปริมาณสารสีแอนโทไซยานินสูงสุดเมื่อทำการศึกษาในดาวทะเลชนิดดาวหมอนปักเข็ม ปริมาณ 4.49 µg/g ของน้ำหนักเปียก รองลงมาพบในดาวทะเลชนิด ดาวแสงอาทิตย์ (1.39 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Yellow seastars (0.98 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Orange-coloured cake seastars (0.86 µg/g ของน้ำหนักเปียก), ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (0.73 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Chocolate chip seastars (0.50 µg/g ของน้ำหนักเปียก), Blue seastars (0.30 µg/g ของน้ำหนักเปียก) และ Pink seastars (0.04 µg/g ของน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสีแอนโทไซยานินไม่สามารถตรวจพบได้ในดาวทะเลเหลืองแดง หรือ Comet seastars

4. ศึกษาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินรวม ในปลิงทะเล จำนวน 3 ชนิด คือ ปลิงหินหนาม (*Stichopus horrens Selenka*, 1867) ปลิงทะเลสีดำ (*Holothuria leucospilota*, Brandt 19835) และ ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง (*Cercodemas anceps*, Selenka 1867)

จากการศึกษาสารสีแอนโทไซยานินรวมในกลุ่มของปลิงทะเลทั้ง 3 ชนิด พบว่า มีปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินรวมสูงสุดในปลิงทะเลชนิด ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง คือ 1.58 µg/g ของน้ำหนักเปียก พบปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินรองลงมา คือ ปลิงทะเลสีดำ ในปริมาณ 0.26 µg/g ของน้ำหนักเปียก อีกทั้งในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าไม่สามารถตรวจหาสารสีแอนโทไซยานินรวมได้ในปลิงทะเลชนิดปลิงหินหนาม

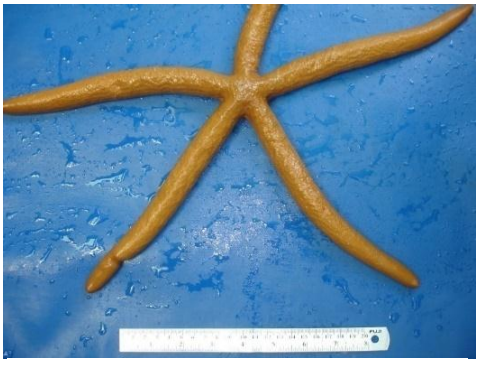
แสดงรูปภาพสัตว์ที่ใช้ในการศึกษา

รูปภาพที่1 ดาวทะเลเหลืองแดง

รูปภาพที่2 ดาว Chocholate chip seastars

รูปภาพที่3 ดาวทะเลปุ่มใหญ่

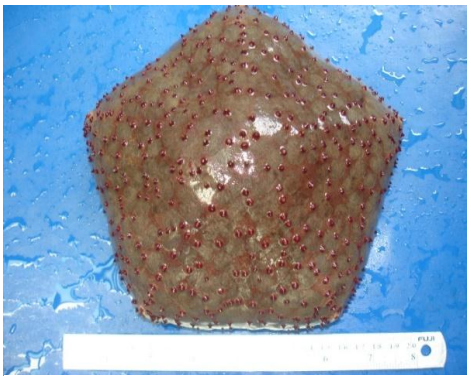
รูปภาพที่4 ดาว Blue seastars



รูปภาพที่5 ดาว Yellow seastars

รูปภาพที่6 ดาว Pink seastars

แสดงรูปภาพสัตว์ที่ใช้ในการศึกษา



รูปภาพที่7 ดาวหมอนปักเข็ม

รูปภาพที่8 ดาว Orange-coloued cake

รูปภาพที่9 ดาวแสงอาทิตย์

รูปภาพที่10 ปลิงหนาม

รูปภาพที่11 ปลิงทะเลสีดำ

รูปภาพที่12 ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพู

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณของสารสีแคโรทีนอยด์ ชนิด Astaxanthin, Beta-carotene , Cathaxanthin, Echinenone , Zeaxanthin และ Lutein ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด และปลิงทะเลจำนวน 3 ชนิด

ชนิดของสัตว์	**Astaxanthin µg/g ของน้ำหนักเปียก**	**Beta-carotene µg/g ของน้ำหนักเปียก**	**Canthaxanthin µg/g ของน้ำหนักเปียก**	**Echinenone µg/g ของน้ำหนักเปียก**	**Zeaxanthin and Lutein µg/g ของน้ำหนักเปียก**
ดาวทะเลเหลือง (Comet seastars)	1156.70	0.23	0.50	nd	41.74
Chocolate chip seastars	1801.57	0.11	0.25	0.33	26.69
ดาวทะเลปุ่มใหญ่	75.24	0.07	0.29	0.62	26.54
Blue seastars	27881.92	0.64	0.42	1.81	24.75
Yellow seastars	313.48	0.09	nd	0.16	12.67
Pink seastars	925.38	nd	nd	0.98	19.18
ดาวหมอนปักเข็ม	817.66	0.68	0.69	4.34	29.49
Orange-Coloued Cake seastars	401.31	nd	0.29	0.07	27.15
ดาวแสงอาทิตย์	13.59	nd	0.10	1.43	2.84
ปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู	167.51	nd	0.32	nd	2.58
ปลิงหินหนาม	1.07	0.52	nd	0.03	1.23
ปลิงทะเลสีดำ	5.62	0.11	nd	nd	1.35

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของสารสีแอนโทไซยานิน ในดาวทะเลจำนวน 9 ชนิด และปลิงทะเล จำนวน 3 ชนิด

ชนิดของสัตว์	**Total anthocyanin µg/g ของน้ำหนักเปียก**
ดาวทะเลเหลือง (Comet seastars)	nd
Chocolate chip seastars	0.50
ดาวทะเลปุ่มใหญ่	0.73
Blue seastars	0.30
Yellow seastars	0.98
Pink seastars	0.04
ดาวหมอนปักเข็ม	4.49
Orange-Coloued Cake seastars	1.39
ดาวแสงอาทิตย์	0.86
ปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู	1.58
ปลิงหินหนาม	nd
ปลิงทะเลสีดำ	0.26

ตารางที่ 3 แสดงรายชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของดาวทะเล และปลิงทะเล ที่ใช้ในการศึกษา

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
Comet seastars ดาวทะเลเหลืองแดง	*Linckia multiflora* (Lamarck, 1816)
Chocolate chip seastars ดาวทะเลปุ่มใหญ่	*Protoreaster nodosus* (Linnaeus, 1758)
Pentaceraster gracilis ดาวทะเลปุ่มใหญ่	*Pentaceraster gracilis* (Lütken, 1871)
Blue seastars ดาวทะเลสีน้ำเงิน	*Linckia laevigata* (Linnaeus, 1758) *blue type*
Yellow seastars ดาวทะเลสีทอง	*Linckia guildingi* Gray, 1840
Pink seastars ดาวทะเลสีน้ำเงิน (ผันแปรสีชมพู)	*Linckia laevigata* (Linnaeus, 1758) *pink type*
Pin cushion seastars ดาวหมอนปักเข็ม ดาวซาลาเปา	*Culcita schmideliana* (Retzius, 1805)
Orange-coloured Cake Sea Stars	*Anthenea pentagonula* (Lamarck, 1816)
ดาวแสงอาทิตย์	*Luidia maculata* Müller & Troschel
ดาวทราย	*Astropecten polyacanthus*
Sea cucumber ปลิงหินหนาม	*Stichopus horrens* Selenka, 1867
Sea cucumber ปลิงทะเลสีดำ	*Holothuria (Mertensiothuria) leucospilota* (Brandt, 1835)
Sea cucumber ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง	*Cercodemas anceps* (Selenka, 1867)

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ทำการศึกษาชนิดและปริมาณของสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในดาวทะเลทั้ง 9 ชนิด โดยจำแนกเป็นดาวทะเลที่เก็บตัวอย่างจากทางภาคใต้ของประเทศไทย กับดาวทะเลที่มาจากแหล่งเก็บตัวอย่างทางภาคตะวันออกของประเทศไทย ซึ่งดาวทะเลที่มีแหล่งเก็บตัวอย่างจากทางภาคใต้มีจำนวน 7 ชนิด คือ Comet seastars (*Linckia multiflora*), Chocolate chip seastars (*Protoreaster nodosus*) , ดาวทะเลปุ่มใหญ่ (*Pentaceraster gracilis*), Blue seastras (*Linckia laevigata*) Yellow seastras (*Linckia guildingi*), Pink seastars (*Linckia laevigata*) และ ดาวหมอนปักเข็ม หรือดาวซาลาเปา (*Culcita schmideliana*) ส่วนดาวทะเลที่มาจากทางภาคตะวันออกมี 2 ชนิด คือ Orange-coloured Cake seastars (*Anthenea pentagonula*) และดาวแสงอาทิตย์ (*Luidia maculate*) ปลิงทะเลจำนวน 3 ชนิด คือ ปลิงหินหนาม (*Stichopus horrens Selenka*,1867) ปลิงทะเลสีดำ (*Holothuria leucospilota*, Brandt 19835) และ ปลิงทะเลหนวดกิ่งไม้สีชมพูเหลือง (*Cercodemas anceps*, Selenka 1867)

ในการศึกษาดาวทะเลได้มีการตรวจวิเคราะห์หาแคโรทีนอยด์ จำนวน 5 ชนิด เพื่อทำการเทียบตรวจสอบกับสารมาตรฐานแคโรทีนอยด์ คือ Beta-carotene, Canthaxanthin, Zeaxanthin, Lutein และ Astaxanthin พบว่าสารสีแคโรทีนอยด์ Zeaxanthin และ Lutein พบว่ามีปริมาณสูงสุดในดาวทะเลเหลืองแดง (41.74 µg/g ของน้ำหนักเปียก) พบมีปริมาณรองลงมาคือ ดาวหมอนปักเข็ม (29.49 µg/g ของน้ำหนักเปียก) คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Mariutti, L.R.B. และ คณะ (2012) ที่ทำการศึกษารูปแบบของแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล กลุ่ม Echinoderm *Marthasterias glacialis* L. โดยทำการตรวจหาแคโรทีนอยด์ด้วยคอลัมน์ C_{30} ด้วยเครื่อง HPLC แต่ละตัวอย่างทำการฉีดเข้าเครื่อง HPLC เป็นเวลา 50 นาที ที่ 450 nm พบว่า มีการตรวจสอบแคโรทีนอยด์หลายชนิดและพบ Zeaxanthin ในสัตว์ทะเล Echinoderm การศึกษาของFerreres, F. และคณะ (2010) ทำการศึกษารูปแบบของแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล กลุ่ม Echinoderm *Marthasterias glacialis* ผลการวิเคราะห์หาแคโรทีนอยด์พบ Zeaxanthin, astaxanthin และ Lutein ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ คือ ในการศึกษาเพื่อตรวจหาสารสีแคโรทีนอยด์ในดาวทะเล ทั้ง 9 ชนิด เราพบว่ามีแคโรทีนอยด์ที่เห็นปริมาณได้ชัดคือ astaxanthin, zeaxanthin และ lutein โดยจะพบแคโรทีนอยด์ทั้งสามชนิดนี้ในปริมาณที่สูงกว่าแคโรทีนอยด์ beta-carotene และ canthaxanthin คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Griffiths, M. and Perrott, P. (1976) ทำการศึกษาแคโรทีนอยด์ที่พบในปลิงทะเล *Strongylocentrotus drobachiensis* โดยทำการศึกษาอวัยวะที่เป็นส่วนของรังไข่ และไข่ของปลิงทะเลชนิดนี้ในช่วงที่เป็นฤดูกาลที่มีการขยายพันธุ์ จากการศึกษาพบว่าปลิงทะเลมีแคโรที

นอยด์หลายชนิด คือ echinenone, beta-carotene, zeaxanthin, isocryptoxantthin และ fucoxanthin ซึ่ง fucoxanthin พบปริมาณน้อยมากที่บริเวณส่วนของกระเพาะปลิงทะเลจากการวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมีของแคโรทีนอยด์พบ fucoxanthin, beta-carotene และ zeaxanthin

แคโรทีนอยด์ beta-carotene ที่ทำการตรวจสอบหาในสัตว์ทะเลกลุ่มดาวทะเล และปลิงทะเล ทั้งสามชนิด จะเห็นได้ว่าช่วงที่ทำการศึกษาจะพบว่าดาวทะเล และ ปลิงทะเล มีการเก็บสะสมแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene ในสัตว์ทะเลกลุ่มนี้น้อยมากซึ่งบางตัวอย่างไม่สามารถตรวจสอบหา beta-carotene ได้ เช่นในดาวทะเล Pink seastars (*Linckia laevigata*) ดาวทะเล Orange-Coloued Cake seastars (*Anthenea pentagonula*) ดาวแสงอาทิตย์ (*Luidia maculate*) และปลิงทะเลปลิงทะเลกิ่งไม้สีชมพู (*Cercodemas anceps*) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแคโรทีนอยด์ beta-carotene สามารถที่จะถูกกระบวนเมตาโบลิซึมภายในร่างกายของสัตว์ทะเลกลุ่มนี้มีกระบวนการเปลี่ยนรูปแบบโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene ไปเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ซึ่งมีงานวิจัยของ Nicola,M.D (1953) ได้ทำการศึกษาแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล Echinoderm *Ophidiaster ophidianus* จากการศึกษาพบว่ามีแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene, cryptoxanthin และ astaxanthin ในปริมาณที่แตกต่างกัน แคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นคือ astaxanthin โดยพบในปริมาณสูงกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น คือ 57.3 % of total pigmenmnts ส่วน beta-carotene พบในปริมาณที่น้อยมากทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก beta-carotene ได้มีการเปลี่ยนโดยขบวนการเมตาโบลิซึมซึ่งจะถูกเปลี่ยนเพื่อเก็บไว้ในรูปของ astaxanthin

แคโรทีนอยด์ astaxanthin จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า astaxanthin เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่พบในสัตว์ Echinoderm กลุ่มของดาวทะเล 9 ชนิด และปลิงทะเล 3 ชนิด astaxanthin เป็นแคโรทีนยอด์ที่สามารถพบได้ในสัตว์ทะเล Echinoderm ในการตรวจสอบหาปริมาณของสารสีแคโรทีนอยด์ชนิดนี้พบในดาวทะเลทั้ง 9 ชนิด และยังพบแคโรทีนอยด์ชนิดนี้ในกลุ่มของปลิงทะเล 3 ชนิด ซึ่งมีการศึกษาในสัตว์กลุ่ม Echinoderm เป็นสัตว์ทะเล กลุ่มเม่นทะเล ทำการศึกษาโดย Tsushima and Kawakami (1993) ทำการศึกษากระบวนการเมตาโบลิซึมของแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล เม่นทะเล *Pseudocentrotus depressus* โดยทำการเลี้ยงเม่นทะเลด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิดที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ β,β-carotene, canthaxanthin และ astaxanthin จากการศึกษาเม่นทะเลชนิดนี้เมื่อทำการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิด canthaxanthin และ astaxanthin จากการศึกษาพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอดย์ทั้งสองชนิดนี้และเมื่อมีการเปรียบเทียบความแตกต่างทางด้านสถิติพบว่าการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างทางด้านสถิติ ส่วนเม่นทะเลที่ทำการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์ชนิด β,β-carotene เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากระบวนการเมตาโบลิซึมของเม่นทะเลได้

เปลี่ยนจากแคโรทีนอยด์ β,β-carotene เปลี่ยนเป็นการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิด β-carotene ในสัตว์ทะเลชนิดนี้ Tsushima and Mutsuno (1990) ทำการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีทางด้านแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเลกลุ่ม Echinodermata โดยทำการศึกษาในส่วนของที่เป็น gonad และ หนาม (spine) ของเม่นทะเลเพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ว่ามีโครงสร้างเป็นลักษณะโครงสร้างแบบ regular หรือรูปแบบ irregular จากการศึกษาพบว่ากลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่มีลักษณะโครงสร้างแบบ irregular มากกว่าโครงสร้างแบบ regular สัตว์ชนิดนี้มีกระบวนการเมตาโบลิซึมที่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ให้เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ด้วยกระบวนการภายในตัวของเม่นทะเลแคโรทีนอยด์ที่พบ คือ β,β-carotene, β-echinenone และ (6'R)-α-echinenone ในส่วนของการศึกษายังพบว่า astaxanthin เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นของเม่นทะเลส่วนใหญ่แล้วในการศึกษาของสัตว์ทะเล Echinoderm แคโรทีนอยด์ที่ทำการตรวจสอบพบในสัตว์กลุ่มนี้จะพบแคโรทีนอยด์หลักคือ astaxanthin จากการศึกษาของ Tanaka, Y. and Katayama, T. (1976) ทำการศึกษาชีวเคมีแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล Echinodermata เพื่อศึกษาโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ astaxantthin ในดาวทะเล ในการศึกษาพบว่าastaxanthin เป็นแคโรทีนอยด์ชนิดที่เด่นในดาวทะเล astaxanthin มีโครงสร้างหลายรูปแบบ ในสัตว์ทะเลโดยเฉพาะในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ astaxanthin ดาวทะเลมีกระบวนการเปลี่ยนแคโรทีนอยด์ชนิด beta-carotene เป็น การเก็บสะสมในรูปแบบของแคโรทีนอยด์ astaxanthin ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ 7,8-didehydroastaxanthin ซึ่งกระบวนเมตาโบลิซึมในสัตว์ Echinodermata สามารถเปลี่ยนโครงสร้าง (metabolic pathway) จากแคโรทีนอยด์ ***β***-carotenoid สามารถเปลี่ยนรูปแบบเป็น astaxanthin

สรุปผลการศึกษา

ในการศึกษาพบว่าสัตว์ทะเล Echinodermata มีรูปแบบของแคโรทีนอยด์เหมือนกันทุกชนิด ทั้งกลุ่มของดาวทะเล และ ปลิงทะเล มีรูปแบบการเก็บสะสมแคโรทีนอยด์รูปแบบสุดท้ายของการเก็บสะสมแคโรทีนอยด์คือ astaxanthin การที่สัตว์กลุ่มนี้รับอาหารเข้าไปแล้วจะผ่านกระบวนการ metabolic pathway ของภายในสัตว์เก็บสะสมสารสีแคโรทีนอยด์รูปแบบสุดท้ายคือ astaxanthin

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษา รูปแบบ การสะสมสารสี ของสัตว์ทะเลกลุ่มเอคไคโนเดิร์ม ซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างจากทางภาคใต้ และภาคตะวันออกของประเทศไทย ได้ผลการศึกษาครั้งนี้ดังที่กล่าวมาแล้ว เพื่อการวิจัยทางด้านนี้มีประโยชน์มากขึ้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้หรือทำวิจัยต่อยอดเพื่อเป็นการพัฒนางานวิจัยทางด้านนี้มากขึ้น จึงขอนำเสนอข้อเสนอแนะในการทำวิจัยลำดับถัดไป

1. ควรการศึกษารูปแบบของแคโรทีนอยด์ในสัตว์ทะเล Echinodermata ชนิดอื่น เช่น เม่นทะเล เพื่อให้เกิดความรู้ทางด้านนี้มากขึ้นเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการทำวิจัย

2. ควรมีการศึกษาทางด้านการนำไปใช้ประโยชน์ของสัตว์ทะเล Echinodermata โดยเฉพาะในกลุ่มของดาวทะเลที่พบปริมาณของแคโรทีนอยด์ astaxanthin สูง

เอกสารอ้างอิง

ทิพามาศ อุปน้อย และวีระชาติ เพ็งจำรัส. 2551. ความชุกชุมของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในระบบนิเวศแนวปะการัง ของเกาะบริวารด้านใต้เกาะภูเก็ต. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลชายฝั่งทะเลและป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. เอกสารวิชาการฉบับที่ 18/2551. 31 หน้า

Andersson, M., Nieuwerburgh, L.V., and Snoeijs, P. 2003. pigment transfer from phytoplankton to zooplankton with emphasis on astaxanthin production in the Baltic Sea food web. Marine Ecology Progress Series. 254: 213-224.

Baker, R.T.M., Pfeiffer, A.M., Schoner, F.J. and Smith-Lemmon, L. 2002. Pigmenting efficacy of astaxanthin and canthaxanthin in fresh-water reared Atlantic salmon, Salmosalar. Animal Feed Science and Technology. 99(1-4): 97-106.

Barbosa M.J., Morais R. and G. Choubert. 1999. Effect of carotenoid source and dietary content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. 176: 331-341.

Baron M., Daviles S., Alexander L., Snellgrove and K.A. Sloman. 2008. The effect of dietary pigments on the coloration and behavior of flam-red dwarf gourami, Colisa lali. *Animal Behaviour*. 75: 1041-1051.

Clark, R.J.H., Rodley, G.A., Drake, A.F., Church, R.A. and Zaqalsky, P.F. 1990. The carotenoproteins of the starfish *Linckia laevigata* (Echinodermata : asteroidean): A resonance raman and circular dichroism study. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 95 (4) : 847-853.

Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R. and Paredes-Lopez, O. 2010. Natural pigment:Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains Characteristics, Biosynthesis, processing, and stability. *Journal Critical reviews in food science and nutrition*. 40: 173-289.

Eernisse, D.J., Strathmann, M.F. and Strathmann, R.R. 2010. *Henricia pumila* sp. Nov.:A brooding seastar (Asteroidae) from the coastal northeastern Pacific. *Zootaxa*. 2329: 22-36.

Ferreres, F., Pereira, D.M., Gil-Izquierdo, A., Valentao, P.,botelho, J., Mouga, T. and Andrade, P.B. 2010. HPLC-PAD-atmospheric pressure chemical ionization-MS metabolite profiling of cytotoxic carotenoids from the echinoderm Marthasterias glacialis (spiny sea-star). *J. Sep. Sci*. 33: 2250-2257.

Griffiths, M. and Perrott, P. 1976. Seasonal changes in the carotenoids of the sea urchin *Strongylocentrotus drobachiensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 55(3): 435-441.

Howell, K.L., Billett, D.S.M., Tyler, P.A. and Davidson, R. 2004. Feeding ecology of deep-sea seastars (Echinedermata: ASteroidea): a pigment biomarker approach. *Marine Ecology Progress Series*. 266: 103-110.

Johnson, C.R. and Sutton, D.C. 1994. Bacteria on the surface of crustose coralline algae induce metamorphosis of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci. Marine Biology. 120: 305-310.

Johnson L.G., and Cartwricht, C.M. 1996. Thyroxine-Accelerated larval development in the grown-of-Thorns starfish, Acanthaster planci. Biological Bullatin. 190: 299:301.

Lorenz, R.T. and Cysewski, G.R. 2000. Comercial potential for haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Sciencedirect Trends in Biotechnology. 18(4): 160-167.

Lucas, J.S. 1982. Quantitative studies of feeding and nutrition during larval development of the coral reef asteroid Acanthaster planci (L). Journal of experimental marine biology and ecology. 65(2): 173-193.

Maoka, T. 2011. Carotenoids in marine animal. *Marine Drugs*.9: 278-293; doi: 10.3390/md9020278. ISSN 1660-3397.

Mariutti, L.R.B., Pereira, D.M., Mercadante, A.Z., Valentao, N.T. and Andrde P.B. 2012. Further insights on the carotenoid profile of the Echinoderm *Marthasterias glacialis* L. *Marine Drugs*. 10:1498-1510; doi:10.3390/md10071498.ISSN 1660-3397.

Matsuno, T. 2001. Aquatic animal carotenoids. *Fisheries science*. 67: 771-783.

Nicola, M.D. 1956. Astaxanthin in asteroid echinoderms *Asterina panceri*. Experimental Cell Research. 10 (2) : 441-446.

Schuepp, W., and Schierle, J. 1995. Example 9: Astaxanthine. Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and premixs. In: Carotenoids. Vol. 1A: Isolation and Analysis (ed. by G. Brition, S. Liaaen-Jensen & H. Pfander). 273-276. Birkhauser, Brasel.

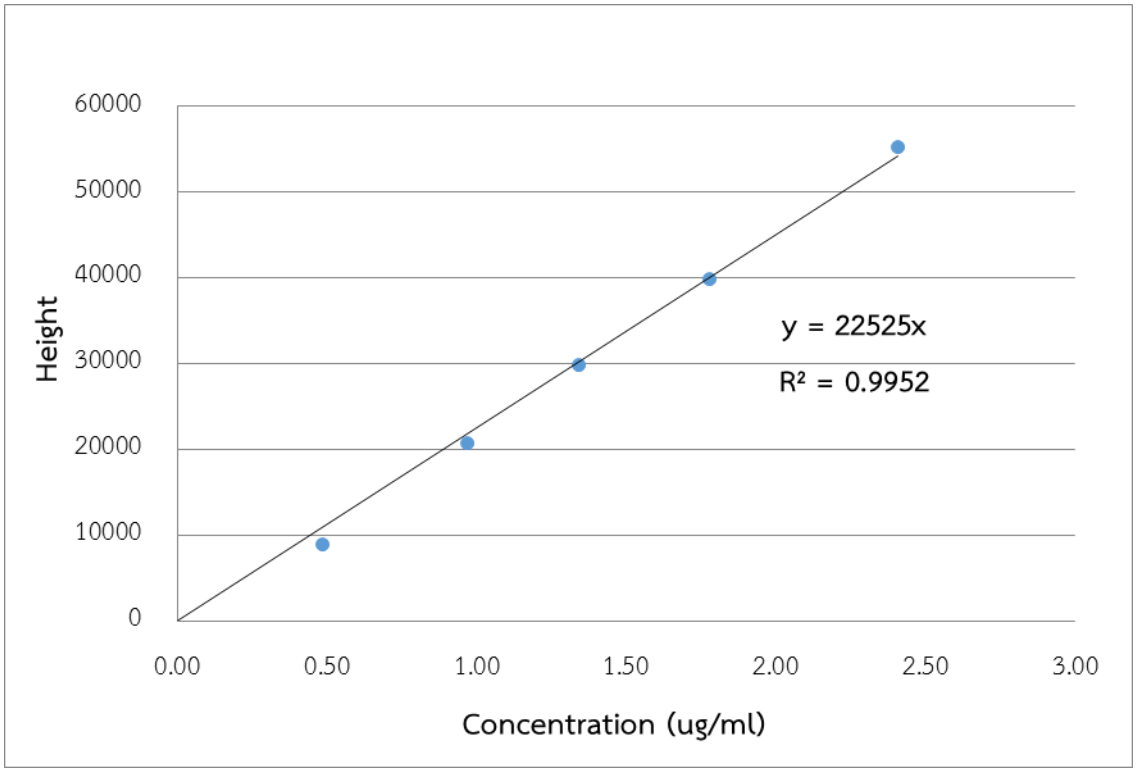
Tsushima, M. and Kawakami, T. 1993. Metabolism of carotenoids in sea-urchin *Pseudocentrotus depressus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 106 (3): 737-741.

Tsushima, M. and Matsuno, T. 1990. Comparative biochemical studies of carotenoids in sea – urchins. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 95(4): 801-810.

Tsushima, M. and Matsuno, T. 1995. Comparative biochemical studies of carotenoids in sea cucumbers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 111(4): 597-605.

Yuan, X., Yang, H., Wang, L. Zhou, Y. and Howaida, R.G. 2010. Effeccts of salinity on energy budget in pond-cultured sea cucumber Apostichopus japonicas (Selenka) (Echinodermata:Holothuroidea). Aquaculture. 306: 348-351.

ภาคผนวก

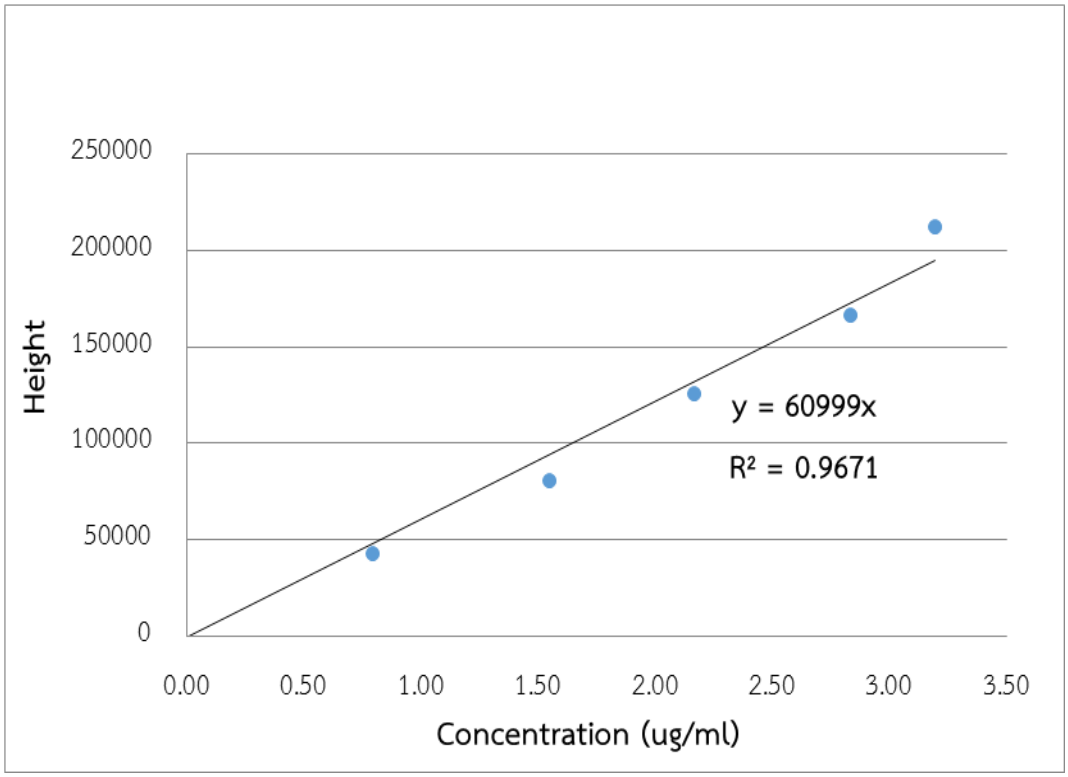


รูปภาพภาคผนวกที่ 1 แสดงการวัดค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Beta-carotene

จากกราฟมาตรฐานของ สารมาตรฐาน Beta-carotene (รูปภาพภาคผนวกที่ 1) ได้สมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

สารมาตรฐาน Beta-carotene มีสูตรสมการเส้นตรง คือ

$y = 22525x \quad (r^2 = 0.9952)$

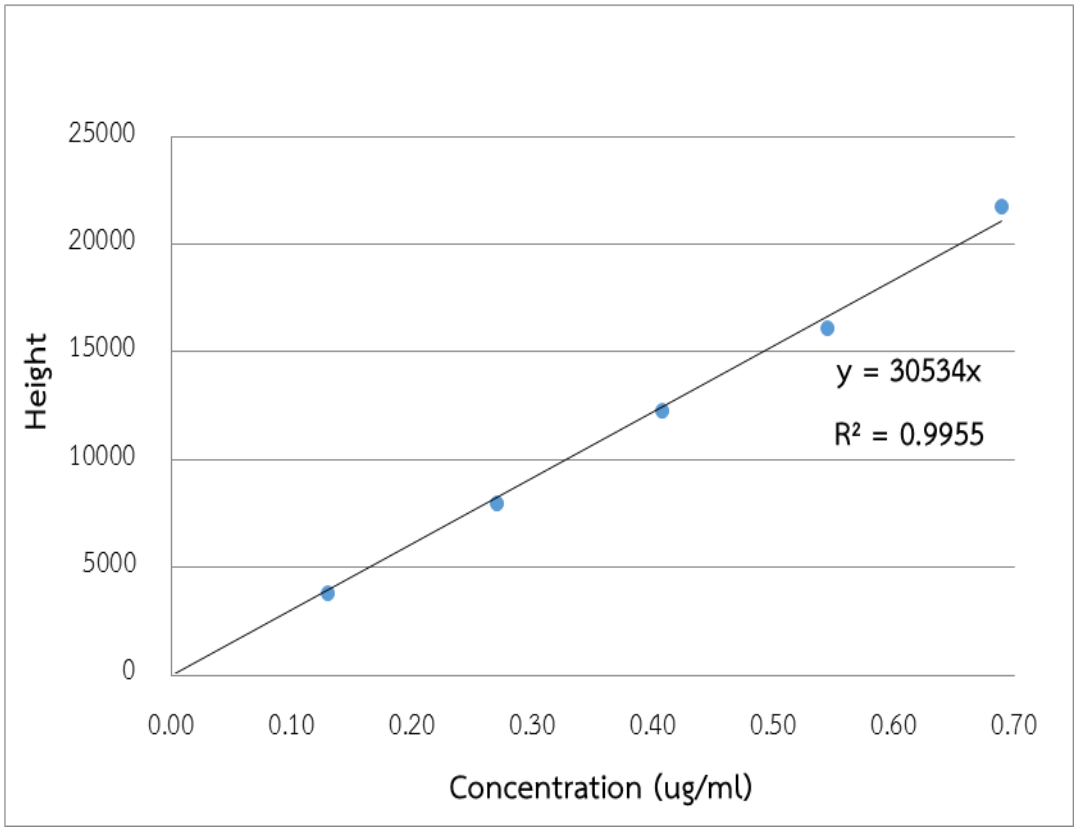


รูปภาพภาคผนวกที่ 2 แสดงการวัดค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Canthaxanthin

จากกราฟมาตรฐานของ สารมาตรฐาน Canthaxanthin (รูปภาพภาคผนวกที่ 2) ได้สมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

สารมาตรฐาน Canthaxanthin มีสูตรสมการเส้นตรง คือ

$y = 60999x \quad (r^2 = 0.9671)$

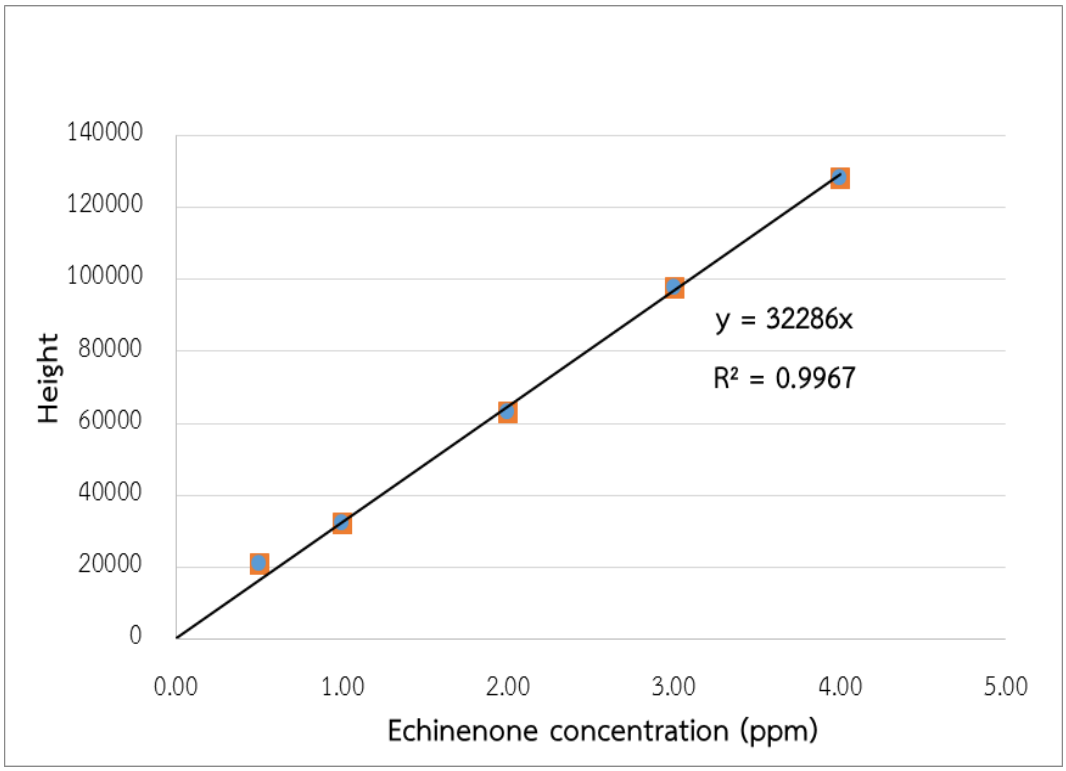


รูปภาพภาคผนวกที่ 3 แสดงการวัดค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Lutein

จากกราฟมาตรฐานของ สารมาตรฐาน Lutein (รูปภาพภาคผนวกที่ 3) ได้สมการเส้นตรง ดังต่อไปนี้

สารมาตรฐาน Lutein มีสูตรสมการเส้นตรง คือ

$y = 30534x \quad (r^2 = 0.9955)$

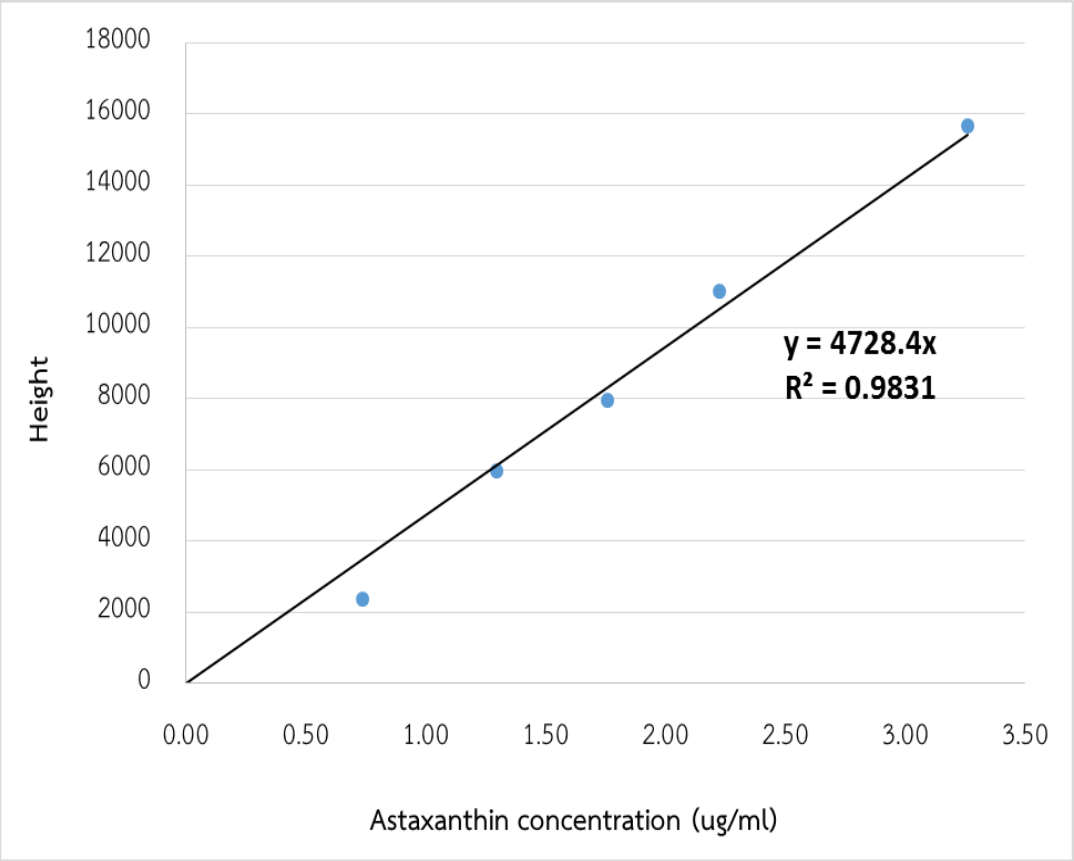


รูปภาพภาคผนวกที่ 4 แสดงการวัดค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Echinenone

จากกราฟมาตรฐานของ สารมาตรฐาน Echinenone (รูปภาพภาคผนวกที่ 3) ได้สมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

สารมาตรฐาน Echinenone มีสูตรสมการเส้นตรง คือ

$y = 32286x \quad (r^2 = 0.9967)$

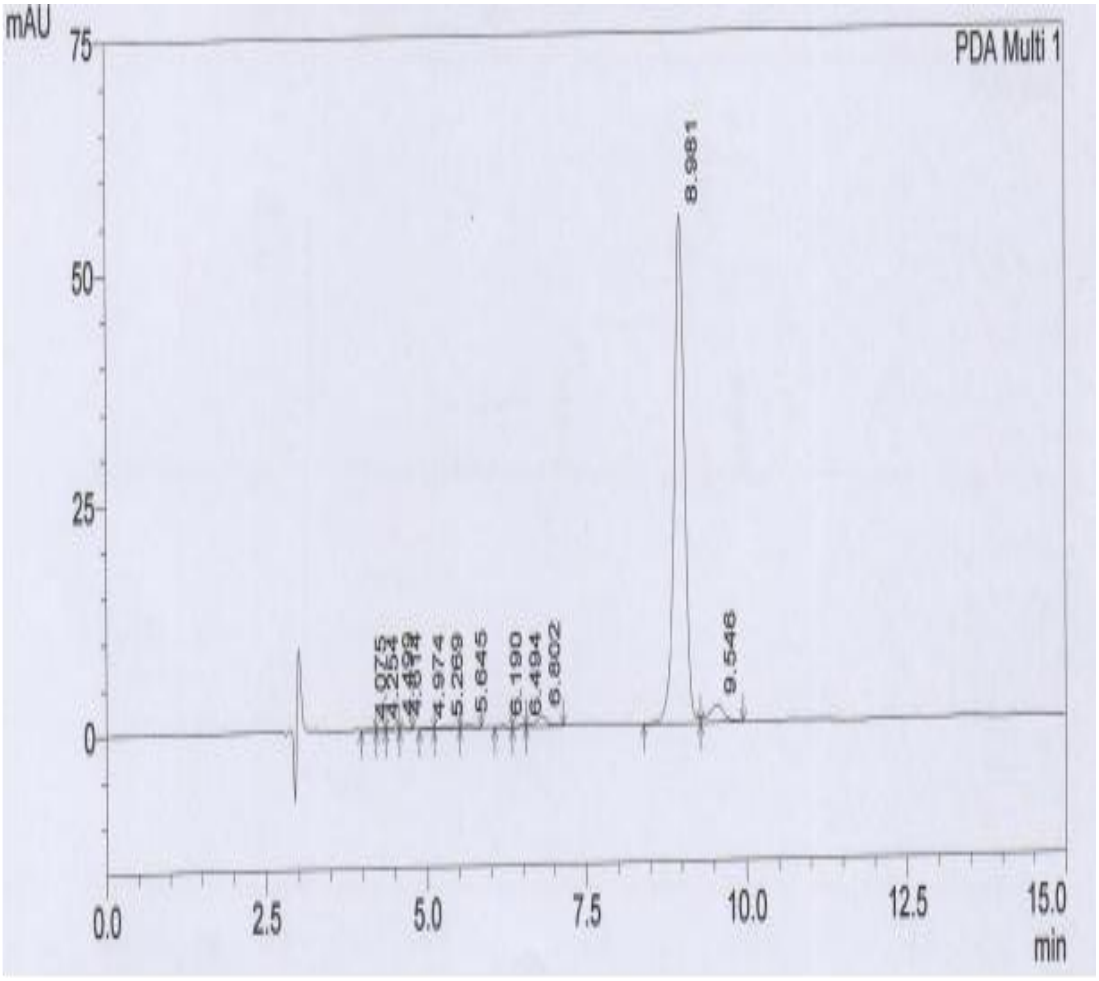


รูปภาพภาคผนวกที่ 5 แสดงการวัดค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Astaxanthin

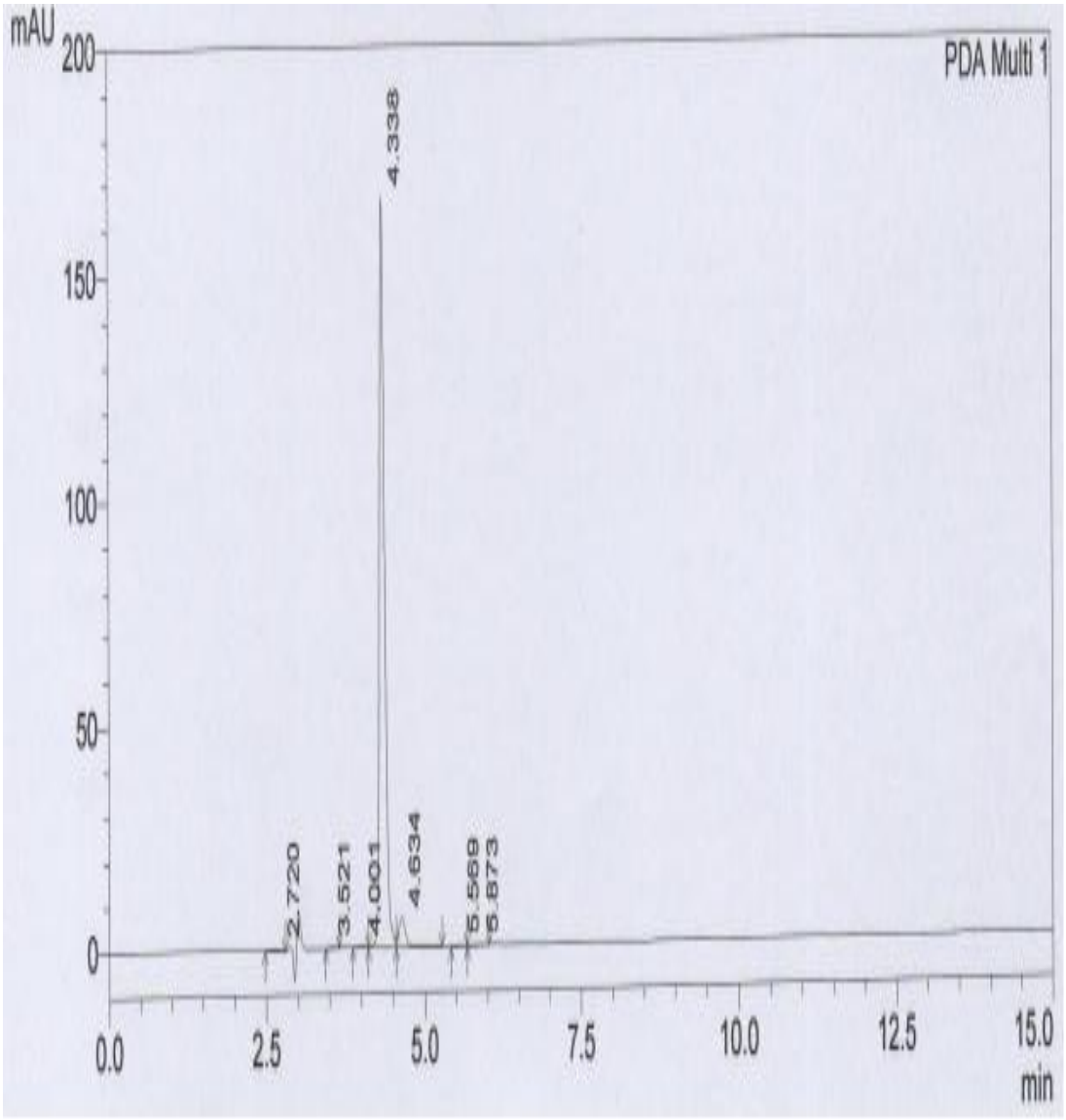
จากกราฟมาตรฐานของ สารมาตรฐาน Astaxanthin (รูปภาพภาคผนวกที่ 3) ได้สมการเส้นตรงดังต่อไปนี้

สารมาตรฐาน Astaxanthin มีสูตรสมการเส้นตรง คือ

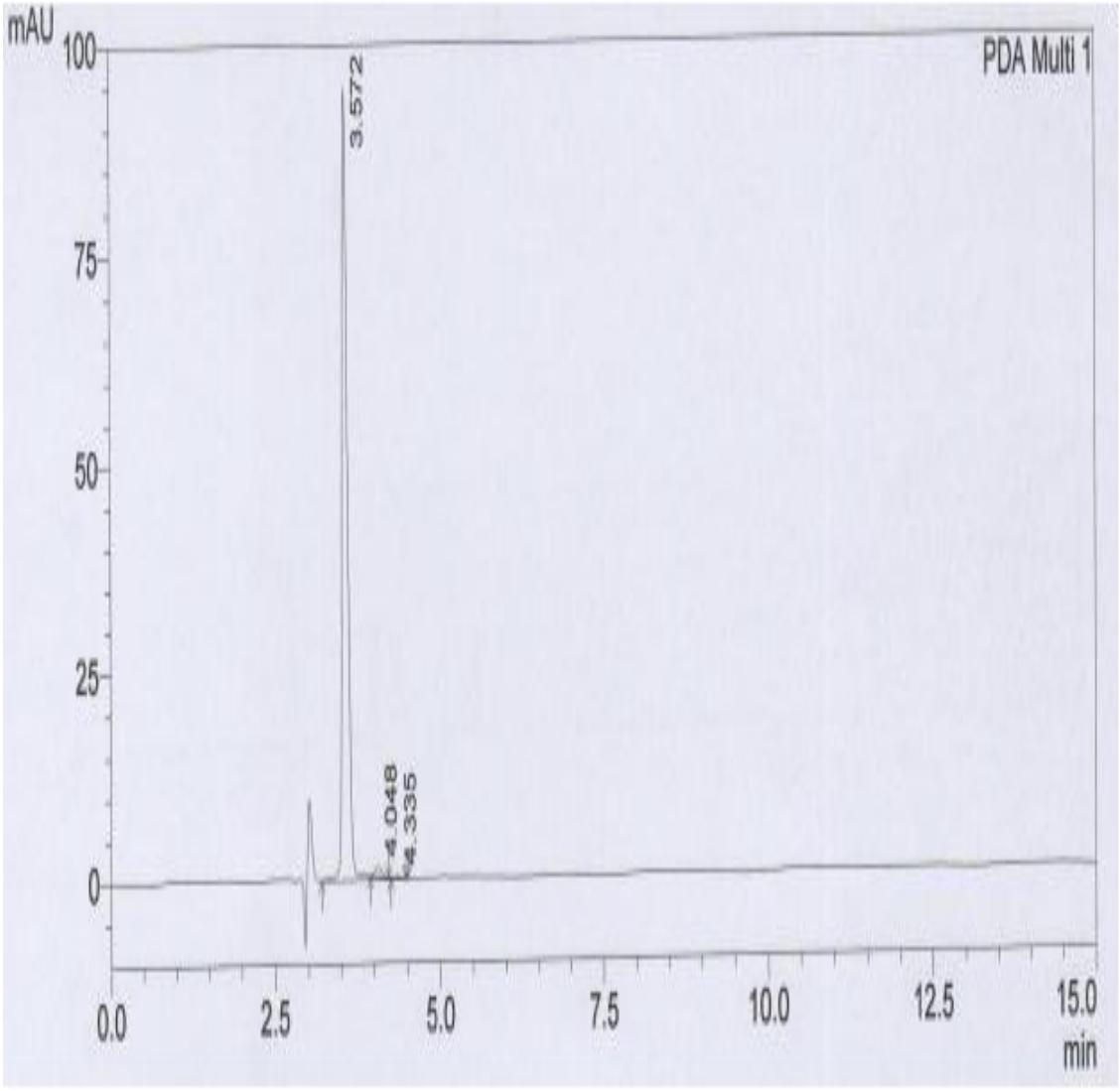
$y = 4728.4x \quad (r^2 = 0.9831)$



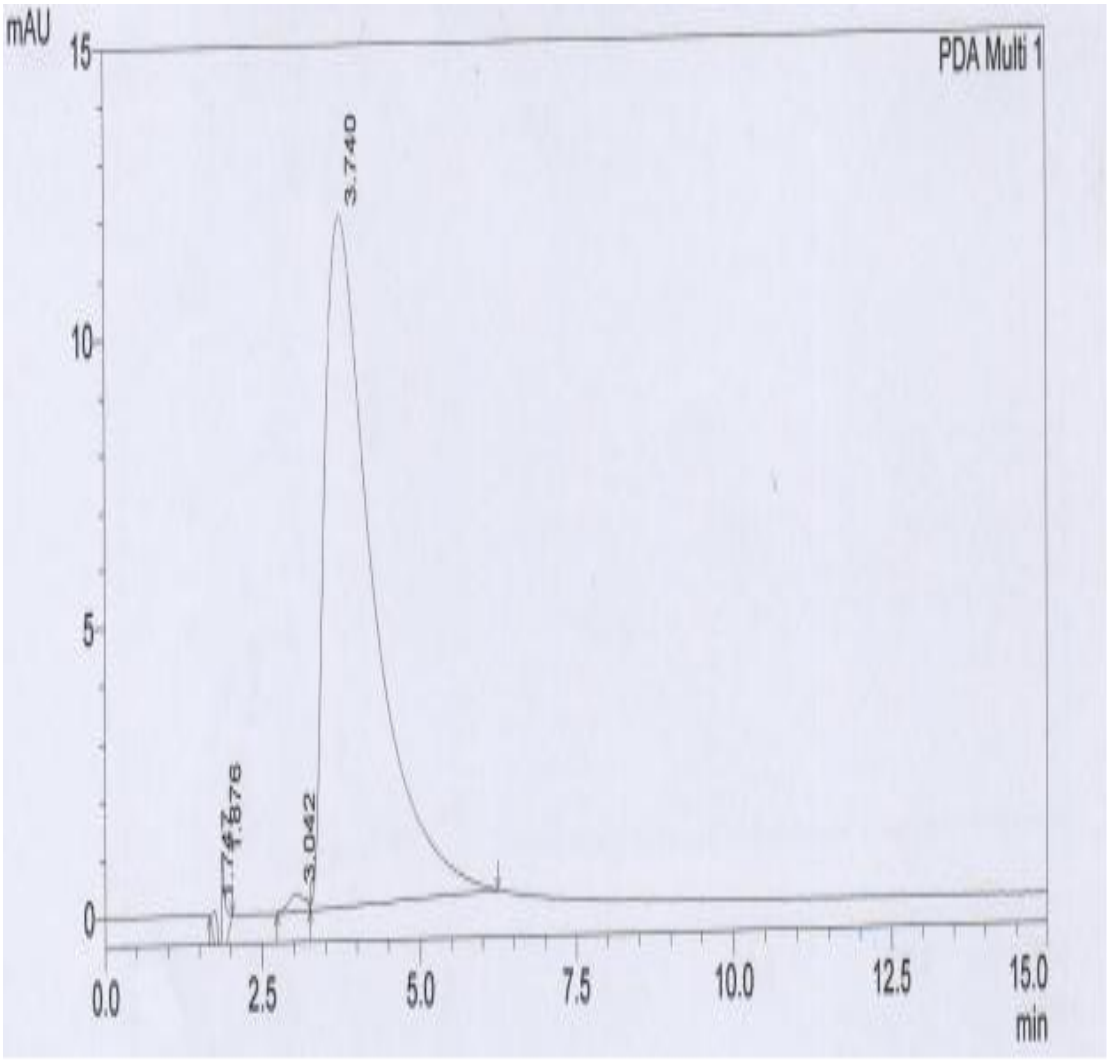
รูปภาพภาคผนวกที่ 6 แสดงการตรวจหาสารสีมาตรฐานของแคโรทีนอยด์ Beta-carotene ด้วยเครื่อง HPLC



รูปภาพภาคผนวกที่ 7 แสดงการตรวจหาสารสีมาตรฐานของแคโรทีนอยด์ Canthaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC



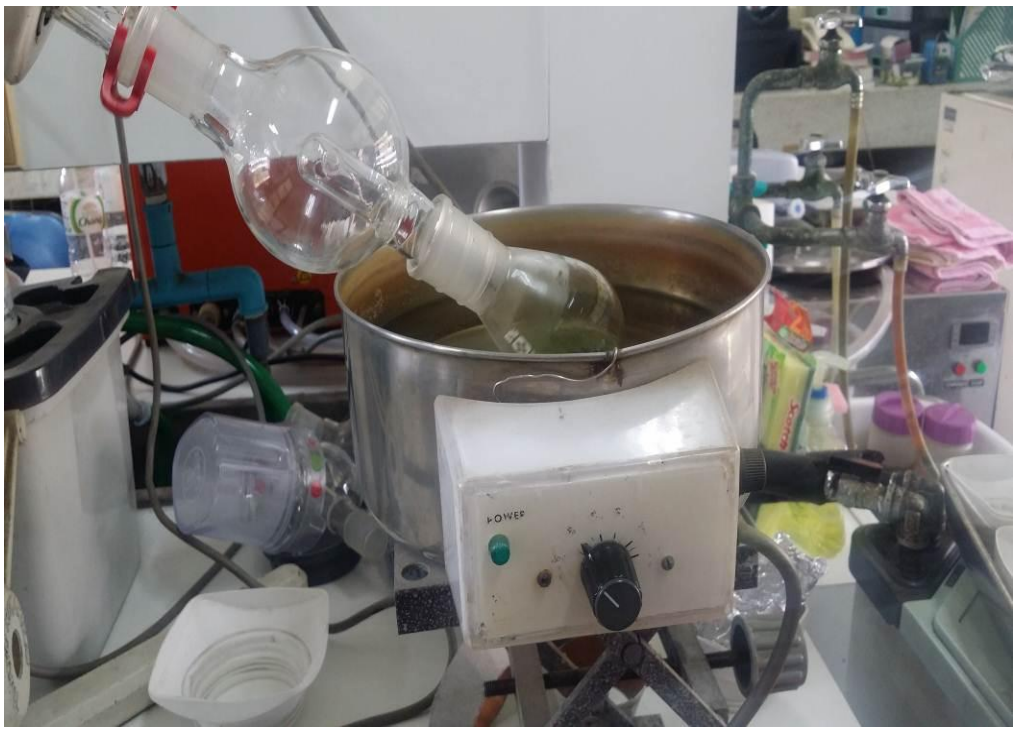
รูปภาพภาคผนวกที่ 8 แสดงการตรวจหาสารสีมาตรฐานของแคโรทีนอยด์ Lutein ด้วยเครื่อง HPLC



รูปภาพภาคผนวกที่ 9 แสดงการตรวจหาสารสีมาตรฐานของแคโรทีนอยด์ Astaxanthin ด้วยเครื่อง HPLC

รูปภาพภาคผนวกที่ 10 แสดงการเตรียมตัวอย่างก่อนที่จะทำการสกัดหาสารสี

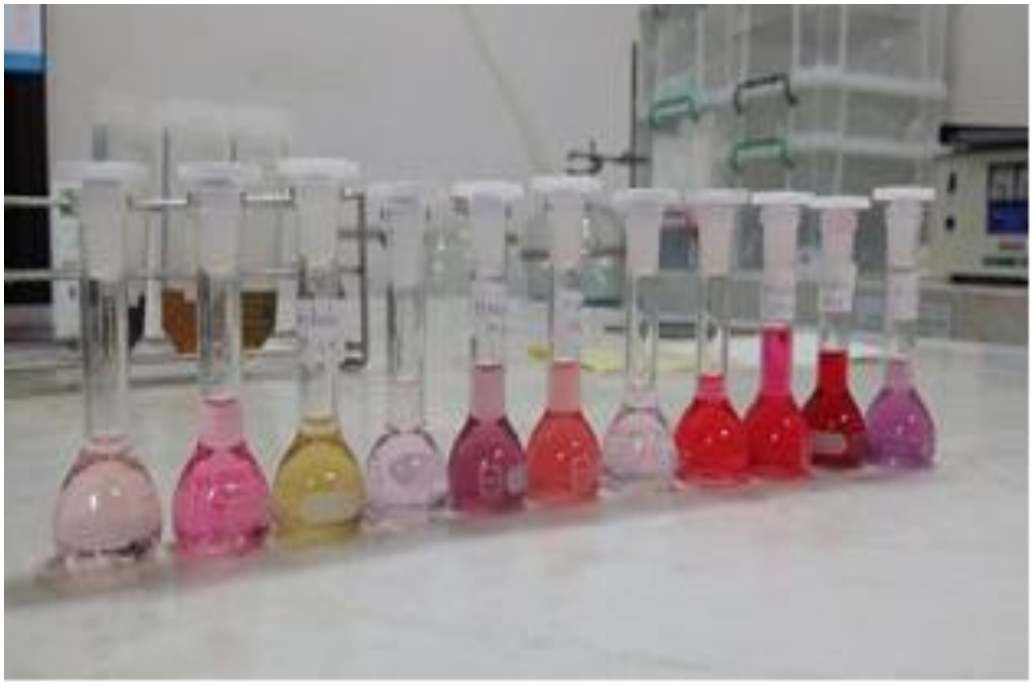
รูปภาพภาคผนวกที่ 11 แสดงตัวอย่างที่ทำการสกัดหาสารสีโดยใช้ตัวทำละลาย



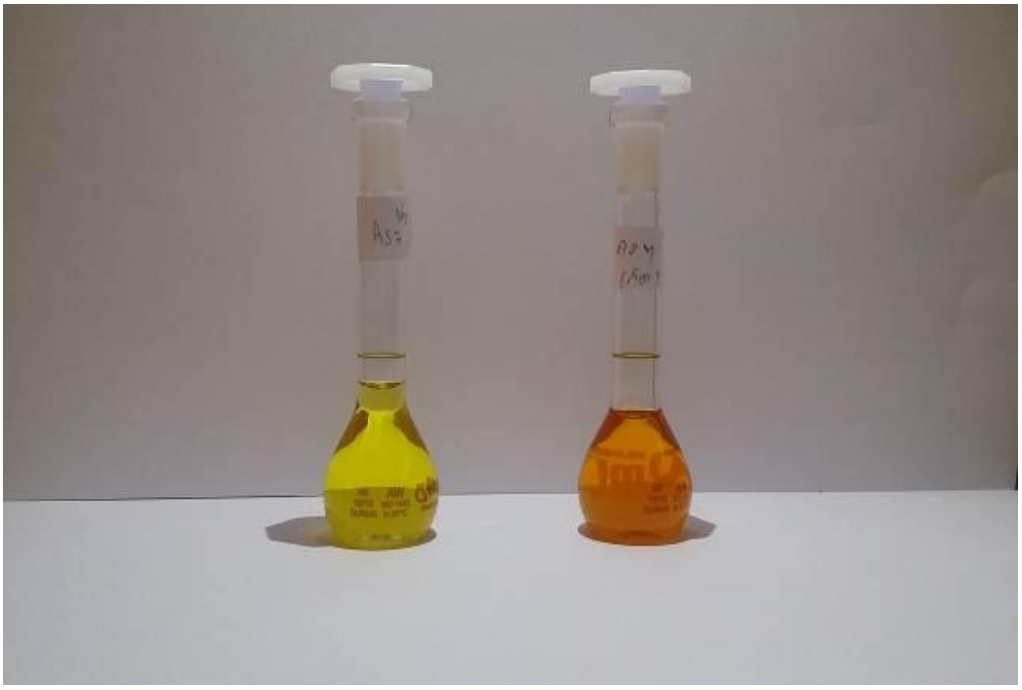
รูปภาพภาคผนวกที่ 12 แสดงวิธีการทำตัวอย่างให้มีปริมาณน้อยด้วยวิธีการระเหยสารโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน

รูปภาพภาคผนวกที่ 13 แสดงวิธีการเตรียมตัวอย่างหลังจากสกัดหาสารสีแล้วเก็บใส่ขวดเก็บตัวอย่าง

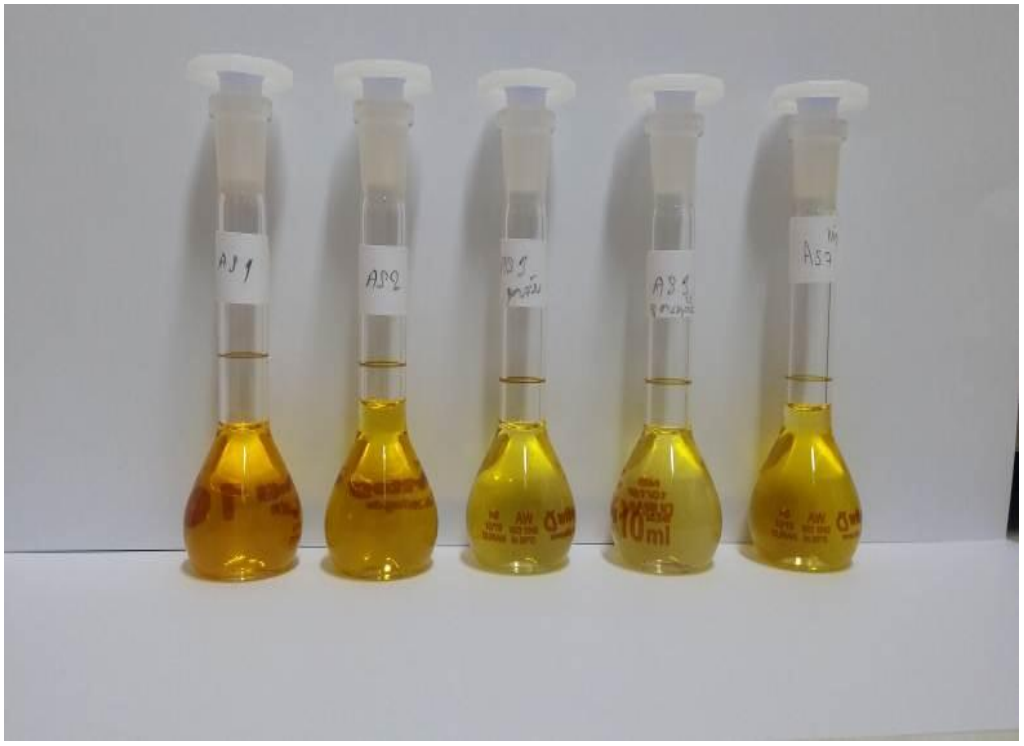
รูปภาพภาคผนวกที่ 14 แสดงวิธีการเตรียมวัดหาค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสี
ด้วย UV-vis Spectrophotometer



รูปภาพภาคผนวกที่ 15 แสดงวิธีการสกัดหาสารสีแอนโทไซยานินโดยใช้ปัฟเฟอร์



รูปภาพภาคผนวกที่ 16 แสดงสารสกัดแคโรทีนอยด์ของดาวทะเลที่เป็นตัวอย่างแห้งและตัวอย่างสด



รูปภาพภาคผนวกที่ 17 แสดงสารสกัดแคโรทีนอยด์ของตัวอย่างดาวทะเลก่อนทำการตรวจสอบชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ด้วย HPLC