

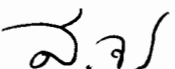
ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง
(*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790)

นางลักษณะน์ สํารามราชภัฏ


วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวาริชศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มกราคม 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ นางสาวณัฏฐา งามรัตน์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้


คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์


..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จิตควร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

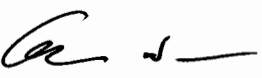

..... ประธาน
(ดร.พิเชต พลายเพชร)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จิตควร)


..... กรรมการ
(ดร.จริยวดี สุริยพันธุ์)


..... กรรมการ
(ดร.สลิล ชันโรจน์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์ของมหาวิทยาลัยบูรพา


..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัตน์ ศรีสุข)

วันที่ 3 เดือน มกราคม พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีด้วยความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็น อย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พิเชต พลายนเพชร ที่ให้ความกรุณามาเป็นประธาน กรรมการสอบ พร้อมแนะนำข้อแก้ไขต่าง ๆ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้จนทำให้สำเร็จ สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.จริยวดี สุริยพันธุ์ และ ดร.สลิล ชันโรจน์ ที่ให้ความกรุณา มาเป็นกรรมการสอบ และช่วยเสนอแนะข้อแก้ไขต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ นอกจากนี้ ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำชลบุรี และภาควิชา วาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกในการทดลอง และให้ความ ร่วมมือเป็นอย่างดีในการเก็บรวบรวมข้อมูลที่ใช้ในการวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี งานวิจัยครั้งนี้ส่วนหนึ่งได้รับการสนับสนุนทุนวิทยานิพนธ์นิสิตระดับบัณฑิตศึกษา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จึงขอขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติพี่น้องที่คอยให้ความรัก ความห่วงใย ให้ ความช่วยเหลือตลอดเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูแก่เวทิตาแต่ บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มี การศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบนานเท่านาน

นางลักษณะน์ สาราญราษฎร์

55910369: สาขาวิชา: วาริชศาสตร์; วท.ม. (วาริชศาสตร์)

คำสำคัญ: ปลาการ์ตูนแดง/ แครอทินอยด์สังเคราะห์/ การเจริญเติบโต/ การเพิ่มสี

นางลักษณีย์ สำราญราษฎร์: ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnus biaculeatus* Bloch, 1790) (EFFECT OF SYNTHETIC CAROTENOID ON PIGMENTATION OF SPINE-CHEEK ANEMONEFISH (*Premnus biaculeatus* Bloch, 1790) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สมถวิล จริตควร, Ph. D. 65 หน้า. ปี พ.ศ. 2561.

ศึกษาผลของการเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ในอาหารปลาการ์ตูนแดงเพื่อให้ได้ผิวหนังมีสีแดงตามที่ต้องการของตลาด แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย โดยการทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ 6x3 Factorial in CRD เพื่อศึกษา 2 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (เบต้าแคโรทีน แคนธาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทิน) และอาหารไม่เสริมแคโรทีนอยด์เป็นสูตรควบคุม และปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการเสริม (1, 2 และ 3 เดือน) เลี้ยงปลาด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ชนิดละ 3 ซ้ำ แบบให้กินจนอิ่มวันละ 3 ครั้ง พบว่าชนิดแคโรทีนอยด์ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดและอัตราแลกเนื้อ ($p>0.05$) การเสริมแอสตาแซนทินทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉลี่ยแดง และปริมาณแอสตาแซนทินที่สะสมในผิวหนังปลาสูงกว่าการเสริมด้วยแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่ระยะเวลาในการเสริมที่นานขึ้นทำให้อัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดลดลง และอัตราแลกเนื้อสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเสริมเป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน ทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉลี่ยแดง (a^*) และปริมาณแอสตาแซนทินที่สะสมในผิวหนังปลาไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าการเสริมเป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเสริมด้วยแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดทำให้ผิวหนังปลาสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดนั้น ๆ ในปริมาณสูงสุด และทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉลี่ยแดงน้อยกว่าการเสริมด้วยแอสตาแซนทิน

การทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ 6x3x6 Factorial in CRD เพื่อศึกษา 3 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือ ความเข้มข้นของแอสตาแซนทินที่เสริม (25, 50, 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม และไม่เสริมแอสตาแซนทิน เป็นชุดควบคุม) ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาการเสริม (2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์) และปัจจัยที่ 3 คือ ตำแหน่งการวัดสี (บริเวณหัว ลำตัวเหนือครีบอก และลำตัวใต้ครีบหลัง) เลี้ยงปลาด้วยอาหารแต่ละสูตร ๆ ละ 3 ซ้ำ แบบให้กินจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินความเข้มข้น 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม ทำให้ผิวหนังของปลามีค่าเฉลี่ยแดงไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าการเสริมแอสตาแซนทินความเข้มข้นอื่น ๆ

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเสริมเป็นระยะเวลา 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลา มีค่าเฉลี่ยแดงไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าระยะเวลาการเสริมอื่น ๆ

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) บริเวณลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบอกหลังมีค่าเฉลี่ยแดงไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่ามากกว่าบริเวณหัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการศึกษาสรุปได้ว่า แอสตาแซนทินสังเคราะห์เป็นสารสีที่เหมาะสมสำหรับการเสริมในอาหารปลาการ์ตูนแดง โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 100 พีพีเอ็ม และเสริมเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์

55910369: MAJOR: AQUATIC SCIENCE; M.Sc. (AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS: SPINE-CHEEK-ANEMONEFISH/ CAROTENOID/ GROWTH/ PIGMENTATION

NONGLAK SOMRANRAT: EFFECT OF SYNTHETIC CAROTENOID ON THE PIGMENTATION OF SPINE-CHEEK ANEMONEFISH (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790). ADVISORY COMMITTEE: SOMETAWIN JARITKHUAN, Ph. D. 65 P. 2018.

Effect of dietary supplementation with synthetic carotenoid for Spine-cheek anemonefish had been carried out for the marketable desired red skin. There were two sub-experiments in which the first experiment was conducted with 6x3 factorial experiment in CRD to determine two factors. First factor was 5 synthetic carotenoid types (beta-carotene, canthaxanthin, astaxanthin, lutein and zeaxanthin) and a non-carotenoid supplemented as a control. Second factor was supplementation time (1, 2 and 3 months). Fish were fed to each diet at a level of 100 ppm feed twice a day (ad libitum) with 3 replicates. The results showed no significantly different between carotenoid type and growth rate, survival rate and feed conversion ratio ($p>0.05$). Fish fed on astaxanthin supplemented diet showed significantly higher in redness and astaxanthin content in fish skin than that of the rest ($p<0.05$). Meanwhile, longer supplementation time were significant differences in lower growth rate, survival rate, and feed conversion ratio ($p<0.05$). No significant differences of redness and the accumulated astaxanthin contents of fish skin were observed between 2 and 3 months of supplementation ($p>0.05$), but showed higher significantly differences than that of 1 month ($p<0.05$). The more supplemented specific carotenoids type of feed, the more accumulation of that carotenoid type in fish skin. The highest redness fish skin found in fish fed on feed supplemented with astaxanthin.

Second experiment was conducted with 6x3x6 factorial experiment in CRD to determine three factors. First factor was astaxanthin at a concentration of 25, 50, 100, 150 and 200 ppm feed and without astaxanthin as a control. Second factor was supplementation time (2, 4, 6, 8 and 12 weeks), and third factor was the position of color measuring (head, body above pectoral fin and body under dorsal fin). Fish were fed to

each diet twice a day (ad libitum) with 3 replicates. The results showed no significantly different of skin redness among dietary supplemented astaxanthin at a concentration of 100, 150 and 200 ppm feed ($p>0.05$), but showed significant higher than that of other feeds ($p<0.05$). There were no significant differences of skin redness among supplementation times at 8, 10 and 12 weeks ($p>0.05$), but showed significantly higher than the rest ($p<0.05$). No significant difference of redness were found between body above pectoral fin and body under dorsal fin ($p>0.05$), but showed significantly higher than that of the head ($p<0.05$).

It could be included that synthetic astaxanthin was the optimum pigment for supplementing in Spine-cheek anemonefish feed at a concentration of 100 ppm and rearing for at least 8 weeks.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
อนุกรมวิธานของปลาการ์ตูนแดง.....	5
ชนิดของแคโรทีนอยด์.....	6
การดูดซึมและการขนส่งของแคโรทีนอยด์.....	6
การใช้แคโรทีนอยด์เพื่อเพิ่มสีบริเวณผิวหนังของสัตว์น้ำ.....	7
ความต้องการโปรตีนในกลุ่มปลาสวยงาม.....	8
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	10
อุปกรณ์และสารเคมี.....	10
สถานที่และระยะเวลาวิจัย.....	12
วิธีดำเนินการวิจัย.....	12
วิเคราะห์ข้อมูล.....	20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย.....	21
การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง.....	21
ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และระยะเวลาที่ปลาได้รับแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ.....	21
ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และระยะเวลาที่ปลาได้รับแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณผิวหนัง.....	25
ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่สะสมบริเวณผิวหนังปลา.....	30
การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเสริมอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยง และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลา.....	34
5 อภิปรายและสรุปผล.....	42
ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง	42
ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเสริมอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลา.....	44
สรุปผลการวิจัย.....	46
ข้อเสนอแนะ.....	47
บรรณานุกรม.....	48
ภาคผนวก.....	54
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	65

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3-1 การทดลองที่ 1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลอง (กรัม/100 กรัมอาหารทดลอง).....	14
3-2 การทดลองที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนแดง.....	15
3-3 การทดลองที่ 2 ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลอง (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	19
3-4 การทดลองที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนแดง.....	20
4-1 อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละชุดการทดลองที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน.....	22
4-2 ค่าความสว่าง (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) ค่าเฉดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดทดลองต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน.....	27
4-3 ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่สะสมบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดทดลองต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน.....	31
4-4 ความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ระยะเวลา และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดง.....	37

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4-1	อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และ อัตราแลกเนื้อ (FCR) ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทีน (C) แอสตาแซนทีน (D) ลูทีน (E) และซีแซนทีน (F).....	23
4-2	อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และ อัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาการ์ตูนแดงที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทีน (C) แอสตาแซนทีน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทีน (F).....	24
4-3	การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (สูตรควบคุม (T1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (T2) แคนทาแซนทีน (T3) แอสตาแซนทีน (T4) ลูทีน (T5) และ ซีแซนทีน (T6).....	26
4-4	ค่าความสว่าง (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) ค่าเฉดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารเสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทีน (C) แอสตาแซนทีน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทีน (F).....	28
4-5	ค่าความสว่างของสี (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) ค่าเฉดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทีน (C) แอสตาแซนทีน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทีน (F).....	29
4-6	แอสตาแซนทีน (A) แคนทาแซนทีน (B) เบต้าแคโรทีน (C) ลูทีน (D) และ ซีแซนทีน (E) สะสมบริเวณผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (2) แคนทาแซนทีน (3) แอสตาแซนทีน (4) ลูทีน (5) และซีแซนทีน (6).....	32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-7	แอสตาแซนทิน (A) แคนทาแซนทิน (B) เบต้าแคโรทีน (C) ลูทีน (D) และ ซีแซนทีน (E) สะสมบริเวณผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (2) แคนทาแซนทิน (3) แอสตาแซนทิน (4) ลูทีน (5) และซีแซนทีน (6).....	33
4-8	การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารไม่เสริม แอสตาแซนทิน (ชุดควบคุม = T1) และอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ความเข้มข้น 25 (T2), 50 (T3), 100 (T4), 150 (T5) และ 200 พีพีเอ็ม (T6) ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์.....	36
4-9	ค่าความสว่างของสีบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริม แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อตำแหน่ง แสดงออกของสี (A) บริเวณหัว (B) บริเวณลำตัวเหนือครีบอก (C) ลำตัวใต้ ครีบอก.....	38
4-107	ค่าเฉลี่ยแดงบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริมแอสตา แซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อตำแหน่ง แสดงออกของสี (A) บริเวณหัว(B) บริเวณลำตัวเหนือครีบอก (C) ลำตัวใต้ ครีบอก.....	39
4-11	ค่าเฉลี่ยเหลืองบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริม แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อ ตำแหน่งแสดงออกของสี (A) บริเวณหัว (B) บริเวณลำตัวเหนือครีบอก (C) ลำตัวใต้ครีบอก.....	40

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

การเพาะเลี้ยงปลาทะเลสวยงามนับเป็นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ กรมประมงโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ เริ่มศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูน ตั้งแต่ พ.ศ. 2544 โดยสามารถเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนของไทยได้ทุกชนิดและพันธุ์ต่างประเทศอีก 1 ชนิด ในปี พ.ศ. 2546 ต่อมาปี พ.ศ.2547 สามารถเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนแก้มหนามซึ่งเป็นปลาพันธุ์ต่างประเทศได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือปลาการ์ตูนแดงและปลาการ์ตูนทอง นอกจากนี้ในส่วนของภาคเอกชนสามารถเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนพันธุ์ต่างประเทศได้อีก 1 ชนิด คือปลาการ์ตูนเพอร์คูลา (ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และคณะ, 2547) และสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพาประสบความสำเร็จในการเพาะขยายพันธุ์ปลาการ์ตูนได้หลายชนิดเช่นกัน ปัจจุบันประเทศไทยสามารถเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนได้ทั้งสิ้น 12 ชนิด (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร กรมประมง, 2548) ตลาดซื้อขายปลาทะเลสวยงามของไทยมีปลาการ์ตูนอีกหลายชนิดที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและเป็นชนิดที่ตลาดมีความต้องการซื้อ ดังนั้นในด้านชนิดของปลาการ์ตูนคาดว่าประเทศไทยสามารถรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาการ์ตูนชนิดใหม่ ๆ เพื่อทำการเพาะพันธุ์และส่งไปขายต่างประเทศได้ในอนาคตทำให้ธุรกิจการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนในประเทศขยายเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญประการหนึ่งของการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนคือปลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากฟาร์มมีสีซีด หรือมีสีส้มไม่ตรงความต้องการของตลาด ส่งผลให้มูลค่าลดลง การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจากการทำงานของเซลล์ผิวหนังที่มีแคโรทีนอยด์องค์ประกอบ ซึ่งปลาเปลี่ยนสีเพื่อปรับให้เข้ากับสภาพแวดล้อม และตอบสนองต่อสิ่งเร้า เมื่อมีอาการตื่นเต้นหรือขณะเกี่ยวพาราสิ (Hoar & Randall, 1989) ดังนั้นปัจจัยสำคัญที่ต้องมีการควบคุม คือ การผลิตปลาการ์ตูนให้มีสีส้มโดยการเสริมแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมในอาหาร ซึ่งเป็นแนวทางที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าได้มากขึ้น

แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัวมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายในไขมัน (Billy & Renzi, 2013) ปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เอง ดังนั้นจึงต้องได้รับมาจากพืชหรือสัตว์ที่เป็นอาหารโดยตรง แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ให้สีในกลุ่มสีเหลือง ส้มและแดง แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ แคโรทีน เช่น เบต้าแคโรทีน (β -carotene) อีกกลุ่มคือ

แซนโทฟิลล์ มีหลายชนิด: เช่น ซีแซนทีน (zeaxanthin) ลูทีน (lutein) แอสตาแซนทีน (astaxanthin) และ แคนทาแซนทีน (cantaxanthin) (Billy & Renzi, 2013) เป็นต้น แต่ในปลา โดยเฉพาะฉลาม ปลาหมึก และปลิง มีการสะสมแซนโทฟิลล์มากกว่าแคโรทีน และปลาสามารถสะสมเม็ดสีเหล่านี้เอาไว้ในตัวของมันหรืออาจเปลี่ยนเป็นแคโรทีนอยด์รูปอื่นได้ แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีการนำไปใช้ในสัตว์น้ำได้แตกต่างกัน (Yeum & Russell, 2002) นอกจากนี้ Boonyaratpalin, Thongrod, Supamattaya, Britton, and Schlipalius (2001) พบว่ากุ้งกุลาดำสามารถนำเบต้าแคโรทีนไปใช้เป็นแหล่งของสารสีได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนปลาที่มีการสะสมของแซนโทฟิลล์มากกว่าแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ที่พบอยู่ในรูปของทาราคแซนทีน ลูทีน และแอสตาแซนทีน (Goodwin, 1951) และ จากการศึกษาของ Latscha (1990) พบว่าปลาในกลุ่มแซลมอนสะสมแคโรทีนและแซนโทฟิลล์ นอกจากนี้เมื่อเสริมแอสตาแซนทีนในอาหารปลาแซลมอนสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทีนไปเป็นซีแซนทีนโดยกระบวนการเมแทบอลิซึม (Britton, Liaaen-Jensen, & Pfander, 1998) และพบว่าปลาคาร์พสามารถเปลี่ยนลูทีนและซีแซนทีนเป็นแอสตาแซนทีนได้ (Katayama, Shintani, & Chichester, 1973) และ เบต้าแคโรทีนมีความสามารถที่จะเปลี่ยนไปเป็นวิตามิน A และสะสมในบริเวณลำไส้ก่อนถูกดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อและเลือด มีผลทำให้ไม่มีการสะสมสีบริเวณผิวหนัง (Hebuterne, Wang, Smith, Tang, & Russel, 1996) ทั้งนี้ปลาจะมีการเปลี่ยนสีเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัยและตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม การสังเคราะห์สารสีสัตว์น้ำมีความสามารถในการย่อยและเปลี่ยนแปลงสารสีได้ต่างกันขึ้นกับชนิดสารสีตั้งต้นที่ได้รับ (Hoar & Randall, 1989) แคโรทีนอยด์ที่เป็นองค์ประกอบในร่างกายสัตว์น้ำส่วนใหญ่ได้แก่ แอสตาแซนทีน (Lascha, 1991) และแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ ขึ้นกับชนิดสัตว์น้ำ เช่นในกุ้งกุลาดำประกอบด้วยแอสตาแซนทีนและบีตาแคโรทีน (Liao, Borhan, Okada, Matsui, & Yamaguichi, 1993) ส่วนปลาทอง (*Carasius auratus*) พบว่าแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่ในร่างกายประกอบด้วยแอสตาแซนทีน ซีแซนทีน และเบต้าแคโรทีน (Ohkubo, Tsushima, Maoka, & Matsuno, 1999) แคโรทีนอยด์ที่มีผลต่อการเพิ่มสีของปลาไม่ได้มีอิทธิพลมาจากชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารเท่านั้น แต่ยังมีปัจจัยอื่น เช่น แหล่ง และความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ตลอดจนระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ (Doolan, Booth, Jones, & Allan, 2008)

ปัจจุบันมีการจำหน่ายอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาทะเลสวยงามแต่เนื่องจากปลาการ์ตูนแต่ละชนิดมีสีสันแตกต่างกัน ดังนั้นความต้องการสารอาหารเพื่อเพิ่มสีจึงแตกต่างกัน สำหรับปลาการ์ตูนแดงยังไม่มีข้อมูลรายงานถึงชนิดอาหารที่เหมาะสม รวมทั้งชนิดแคโรทีนอยด์และระดับความเข้มข้นในอาหารเพื่อเพิ่มสี และยังคงคำนึงถึงผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด

และอัตราแลกเปลี่ยนในกลุ่มปลาการ์ตูน ในการศึกษาเบื้องต้นนี้ จึงเลือกปลาการ์ตูนแดงเป็น สัตว์ทดลองเพราะจัดเป็นปลาการ์ตูนเพียงชนิดเดียวที่อยู่ในสกุล *Premnas* ซึ่งแตกต่างไปจากปลา การ์ตูนชนิดอื่น ๆ สีของปลาการ์ตูนแดงค่อนข้างหลากหลาย ในปลาขนาดเล็กจะมีตั้งแต่สีแดงสด จนถึงแดงก่ำ (ภวพล ศุภนันท์, 2557) เนื่องจากปลาการ์ตูนแดงคล้ายกับปลาการ์ตูนทอง มาก แต่ปลาการ์ตูนแดงมีส่วนที่แตกต่างบริเวณแถบสีขาวที่พาดขวางลำตัวจะเป็นสีขาวและเป็น แถบเล็ก ๆ และจะมีสีแดงสดกว่าปลาการ์ตูนทอง การวิจัยนี้จึงดำเนินการเพื่อให้ทราบถึงชนิด ความเข้มข้น และระยะเวลาของการเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด อัตราแลกเปลี่ยน และการเพิ่มสีของปลาการ์ตูนแดง เพื่อนำมาใช้สำหรับเร่งสี ปลาการ์ตูนแดงทำให้ปลามีสีสันสวยงามตรงกับความต้องการของตลาดและเป็นข้อมูลพื้นฐานใน การผลิตอาหารเพื่อเพิ่มสีในปลาทะเลสวยงามต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และระยะเวลา การเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790)
2. ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่เหมาะสมที่เสริมในอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งแสดงออกของสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790)

สมมุติฐานงานวิจัย

เนื่องจากแอสตาแซนทินสังเคราะห์ให้สีแดงดังนั้นการเสริมในอาหารในปริมาณที่ กำหนดน่าจะช่วยให้ผิวหนังปลาการ์ตูนแดงมีสีแดงสดซึ่งตรงกับลักษณะตามธรรมชาติของปลา ชนิดนี้มากที่สุด รองลงมาคือ แคนทาแซนทินที่ให้สีแดงดำ เบต้าแคโรทีน และลูทีนให้เหลือง และ ซีแซนทินที่ให้สีส้มเหลือง ตามลำดับ ขณะที่สารสีเหล่านี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากไม่มี ผลต่อการสะสมโปรตีนและไขมันในร่างกาย และแคโรทีนอยด์ที่มีผลต่อการเพิ่มสีของปลาไม่ได้มี อิทธิพลมาจากชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารเท่านั้น แต่ยังคงคำนึงถึงความเข้มข้นของ แคโรทีนอยด์ ตลอดจนระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำเพราะในสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีการสะสมแคโรที นอยด์และการแสดงออกของสีแตกต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. ทราบชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790)
2. ทราบความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่เหมาะสมที่เสริมในอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งแสดงออกของสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790)

ขอบเขตของการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโต และการเพิ่มสีบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดง วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial design) ปัจจัยที่ 1 มี 6 ชุดการทดลอง คือ ชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน ซีแซนทิน และอาหารไม่เสริมแคโรทีนอยด์เป็นชุดควบคุม ปัจจัยที่ 2 มี 3 ชุดการทดลอง คือ ระยะเวลาในการเลี้ยง คือ 1, 2 และ 3 เดือน แบ่งออกเป็น 18 ชุดทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ โดยใช้ปลาอายุประมาณ 1 เดือน จำนวน 540 ตัว ใช้ตู้ทดลองขนาดความจุ 50 ลิตร ใส่ปลา 10 ตัว/ตู้ จำนวน 54 ตู้ ระหว่างทดลองเก็บตัวอย่างปลาทุกตัวภายในตู้ทดลองทุก 30, 60 และ 90 วัน มาชั่งน้ำหนัก เพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโต จากค่า การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ และวัดการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) และนำปลามาแยกผิวหนังเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนัง ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และหาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์บริเวณผิวหนังของปลา ด้วยเครื่อง HPLC

ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาตำแหน่งแสดงออกของสีปลาการ์ตูนแดงจากการเลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial design) ปัจจัยที่ 1 มี 6 ชุดการทดลอง โดยใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม และอาหารไม่เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์เป็นชุดควบคุม ปัจจัยที่ 2 มี 6 ชุดการทดลอง คือระยะเวลาการเลี้ยงที่ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ปัจจัยที่ 3 มี 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณหัว ลำตัว เหนือครีบอก และลำตัวใต้ครีบหลัง ใช้ปลาอายุประมาณ 1 เดือน จำนวน 1,080 ตัว ใช้ตู้ทดลองขนาดความจุ 50 ลิตร ใส่ปลา 10 ตัว/ตู้ จำนวน 108 ตู้ เก็บตัวอย่าง ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อนำมาวัดการเปลี่ยนแปลงของสี ด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. อนุกรมวิธานของปลาการ์ตูนแดง

การจำแนกทางอนุกรมวิธาน Froese and Pauly. (2011)

Phylum: Chordata

Class: Actinopterygii

Order: Perciformes

Family: Pomacentridae

Genus: *Premnas* (Bloch, 1790)

Species: *biaculeatus*

ปลาการ์ตูนแดง หรือ ปลาการ์ตูนแก้มหนาม (อังกฤษ: Maroon clownfish, Spine-cheeked clownfish) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Premnas biaculeatus* Bloch, 1790 อยู่ในวงศ์ปลา สลิดหิน (Pomacentridae) วงศ์ย่อยปลาการ์ตูน (Amphiprioninae) จัดเป็นปลาการ์ตูนเพียงชนิดเดียวที่อยู่ในสกุล *Premnas* ซึ่งแตกต่างไปจากปลาการ์ตูนชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในสกุล *Amphiprion* สิ่งที่ทำให้ปลาการ์ตูนแดงมีความแตกต่างจากปลาการ์ตูนชนิดอื่น ๆ คือ บริเวณแก้มหรือแผ่นปิดเหงือกมีหนามยื่นออกมาจากตรงกลาง อยู่เหนือริมฝีปากเล็กน้อยขึ้นไปจนถึงบริเวณใต้ดวงตา ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีลักษณะลำตัวแบนกว้าง มีโครงสร้างที่ค่อนข้างใหญ่กว่าปลาการ์ตูนชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะปลาเพศเมีย ที่โดยปกติจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้และมีสีที่คล้ำกว่า ครีบอกมีขนาดใหญ่ ลำตัวมีสีแดงดำ บริเวณแผ่นปิดเหงือก กึ่งกลางลำตัว และโคนหาง มีแถบสีขาวพาด สีของปลาการ์ตูนแดงค่อนข้างหลากหลาย ในปลาขนาดเล็กจะมีตั้งแต่สีแดงสดจนถึงแดงดำ และจะค่อย ๆ เข้มขึ้นจนปลาเจริญเติบโตเต็มที่ ขณะที่ปลาขนาดเล็กบางตัวมีแต้มสีดำบริเวณตามครีบต่าง ๆ และจะจางหายไปเมื่อปลาโตขึ้น ปลาการ์ตูนแดงจัดเป็นปลาการ์ตูนที่มีขนาดใหญ่ชนิดหนึ่ง โดยมีความยาวเต็มที่ประมาณ 17 เซนติเมตร มีอุปนิสัยก้าวร้าวและหวงถิ่นค่อนข้างมาก ปลาการ์ตูนแดงพบแพร่กระจายในทะเลเขตร้อนใตแปซิฟิก เช่น เกาะสุมาตราในอินโดนีเซีย และเกรตแบร์ริเออร์รีฟ ในออสเตรเลีย โดยอาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลชนิด *Entacmaea quadricolor* เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ซึ่งปลาการ์ตูนแดงในเริ่มแรกที่มีการค้นพบเข้าใจว่าเป็นปลาในวงศ์เดียวกับ

ปลาผีเสื้อ (Chaetodontidae) พบได้ในปี ค.ศ. 1790 ที่ประเทศอินโดนีเซีย หลังจากนั้นเมื่อมีการศึกษาเพิ่มเติม จึงถูกเปลี่ยนไปใช้สกุลใหม่ เมื่อปี ค.ศ. 1817 นอกจากนี้ปลาการ์ตูนแดงที่อาศัยอยู่บริเวณเกาะสุมาตรา จะมีอยู่กลุ่มหนึ่งที่มีลายสีเหลืองผสมสีฟ้าอ่อนแทนด้วยแถบสีขาวและแถบสีเหลือง และแถบสีนี้จะไม่จางหายไป ตรงกันข้ามเมื่อปลามีอายุมากขึ้นแถบดังกล่าวจะมีสีเข้มขึ้นด้วย ซึ่งลักษณะนี้ กลุ่มปลาสวยงามเรียกว่าปลาการ์ตูนทอง ในปี ค.ศ. 1904 ปลาการ์ตูนทองถูกแยกออกเป็นชนิดใหม่ชื่อวิทยาศาสตร์ *Premnas epigrammata* และยังพบปลาการ์ตูนบางตัวที่เกิดจากลูกผสมระหว่างปลาการ์ตูนแดงกับปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*) บริเวณทะเลประเทศฟิลิปปินโดยมีสีเหมือนปลาการ์ตูนแดง แต่มีครีบท่าง ๆ สันกว่ารวมถึงหนามบริเวณแก้มด้วย(ภวพล ศุภนันทนานนท์, 2557)

2. ชนิดของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุ (pigment) ที่พบในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) และโครโมพลาสต์ (chromoplast) ของผลไม้ ดอกไม้และใบของพืช และพบได้ในสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่สังเคราะห์แสงได้ เช่น รา แบคทีเรีย แพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายทะเล แคโรทีนอยด์ เป็นสารประกอบกลุ่มไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายในไขมัน ปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เอง (Billy & Renzi, 2013) ดังนั้นจึงต้องได้รับโดยตรงจากอาหาร แคโรทีนอยด์ให้สีเหลือง ส้ม แดง พบในบริเวณของไข่ อวัยวะสืบพันธุ์ ตับ และผิวหนังของปลา ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แคโรทีน ซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) เป็นสารไม่มีขั้วและละลายในไขมัน เช่น เบต้าแคโรทีน และ ไลโคพีน อีกกลุ่มคือแซนโทฟิลล์ เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเช่นกันแต่มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล ทำให้เป็นสารมีขั้วและละลายในไขมันได้น้อยกว่าแคโรทีน เช่น ลูทีน (lutein) ซีแซนทิน (zeaxanthin) และแอสตาแซนทิน (Billy & Renzi, 2013) นอกจากแคโรทีนอยด์จะทำให้เกิดสีสันที่สวยงามในสัตว์แล้ว ยังมีส่วนช่วยในด้านเจริญเติบโตของสัตว์ระยะวัยอ่อน และระบบสืบพันธุ์ในพ่อแม่พันธุ์ เช่น ปลาแซลมอน อีกทั้งยังช่วยลดความเครียดและสารสีบางชนิดเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ และสารต้านอนุมูลอิสระ (Lorenz, 2004)

3. การดูดซึมและการขนส่งของแคโรทีนอยด์

หลังจากแคโรทีนอยด์ถูกสัตว์กินจะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก (duodenum) แต่แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีอัตราการดูดซึมที่แตกต่างกัน และแคโรทีนอยด์ชนิดเดียวกันมีอัตราการดูดซึมที่

แตกต่างกัน เช่น สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดูดซึมแคโรทีนและแซนโทฟิลล์ได้น้อยกว่านกและปลา (Armstrong & John, 1996) และหลังจากที่แคโรทีนอยด์ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จะถูกขนส่งเพื่อไปสะสมที่อวัยวะเป้าหมาย ทั้งนี้แคโรทีนอยด์ที่กินเข้าไปอาจสะสมในรูปแบบนั้น ๆ ได้โดยตรง หรือเปลี่ยนรูปไปเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ เช่น สัตว์กลุ่มครัสเตเชียนสามารถเปลี่ยนลูทีนไปเป็นซีแซนทีน และเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนไปเป็นแอสตาแซนทีนได้ ปลาที่กินพืช เช่น ปลาคาร์พสะสมเบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทีน และลูทีน ในร่างกายได้ และปลาที่กินเนื้อเป็นอาหาร เช่น ปลาแซลมอนสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทีน และซีแซนทีนไปเป็นแอสตาแซนทีนได้ (Latscha, 1990)

4. การใช้แคโรทีนอยด์เพื่อเพิ่มสีบริเวณผิวหนังของสัตว์น้ำ

ชนิด ปริมาณ และระยะเวลาที่ได้รับแคโรทีนอยด์เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสีในสัตว์ (Doolan et al., 2008) แม้ว่าร่างกายสัตว์จะสะสมแคโรทีนอยด์ในอวัยวะต่าง ๆ ได้ แต่การสะสมแคโรทีนอยด์พบมากบริเวณผิวหนัง เช่น พบการสะสมของแอสตาแซนทีนบริเวณผิวหนังปลาทรายแดงจากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีในรูปต่าง ๆ และทำให้ผิวหนังปลามีสีแดงสด (Chatzifotis et al., 2005; Kalinowski, Robaina, Fernández-Palacios, Schuchardt, & Izquierdo, 2005; Tejera et al., 2007) แต่ในปลา red porgy ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมแอสตาแซนทีน พบการสะสมแซนโทฟิลล์ที่สีเหลือง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปลาชนิดนี้สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทีนไปเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นได้ (Tejera et al., 2007) ขณะที่การทดลองของ Mahmut, Zeynep, Arzu, and Hakan (2008) พบว่าการเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารที่ใช้อัลฟัลฟา และมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวม 0, 20, 40, 60, 100 และ 160 พีพีเอ็ม เทียบกับแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ 60 พีพีเอ็ม พบว่าอาหารที่ใช้อัลฟัลฟาและมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวม 60 พีพีเอ็ม ทำให้ปลาทองสะสมแคโรทีนอยด์และมีค่าสีแดงไม่แตกต่างจากการใช้แอสตาแซนทีนสังเคราะห์

ส่วนการทดลองในปลา Australian snapper (*Pagrus auratus*) พบว่าหลังจาก 21 วันของเลี้ยง การเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ในอาหารมีผลต่อความเข้มของเฉดสีแดง และความเข้มของเฉดสีเหลือง โดยความเข้มของเฉดสีแดงมีค่าเพิ่มขึ้นส่วนความเข้มของเฉดสีเหลืองมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่มีค่าต่ำกว่าความเข้มของเฉดสีแดง (Doolan et al., 2008) ส่วนการศึกษาในปลาคาร์พ พบว่าปลาสามารถดูดซึมแอสตาแซนทีนได้รวดเร็วกว่าลูทีน และเบต้าแคโรทีน และปลาคาร์พสามารถเปลี่ยนลูทีน และเบต้าแคโรทีนไปเป็นแอสตาแซนทีนได้ (Yuangsoi, Jintasataporn, Tabthipwon, & Kamel, 2010). และศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคโรทีนอยด์เหล่านี้ในอาหารพบว่าปลาที่กินอาหารเสริมลูทีนผสมเบต้าแคโรทีน อัตราส่วน

25:25 ,50:50 และ ลูทีน 50 พีพีเอ็ม พบว่าแคโรทีนแดงมีค่าใกล้เคียงกับปลาที่กินอาหารเสริมแอสตาแซนทิน 25 พีพีเอ็ม (Yuangsoi, Jintasataporn, Areechon, & Tabthipwon, 2011)

การศึกษาของ Inayah and Jian (2010) พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารปลาการ์ตูนส้มขาวทำให้สีแดงบริเวณผิวหนังปลามีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ของการเลี้ยง ขณะที่ นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มณฑกานติ ท้ามติน, สุพิศ ทองรอด และสิริพร ลือชัยชัยกุล (2555) ศึกษาการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารปลาการ์ตูนส้มขาว ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ และพบว่าปลาการ์ตูนส้มขาวที่ได้รับอาหารเสริม แอสตาแซนทิน 200 พีพีเอ็ม มีค่าแคโรทีนแดงมากกว่าปลาการ์ตูนส้มขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแคโรทีนอยด์ และในช่วง 2-6 สัปดาห์ ของการเลี้ยง พบการเพิ่มขึ้นของค่าแคโรทีนแดงมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินและซีแซนทีนที่พบบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนส้มขาว แต่หากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ขึ้นไป พบว่าการเสริมแอสตาแซนทิน 50 พีพีเอ็ม ให้ผลดีเช่นกัน และเมื่อหยุดให้อาหารที่เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าค่าแคโรทีนแดงมีค่าลดลงและไม่พบแอสตาแซนทินสะสมบริเวณผิวหนัง และการศึกษาผลของอาหารสำเร็จรูปต่อการเจริญเติบโตและอิทธิพลของระดับไขมันในอาหารต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ในผิวหนังปลาการ์ตูนส้มขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทิน 35 พีพีเอ็ม และอาหารที่มีไขมัน 20, 16 และ 13 % พบว่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนส้มขาว คือ 50% และพบการสะสมเบต้าแคโรทีนมากที่สุดในปลาที่เสริมไขมัน 16% และ เสริมแอสตาแซนทิน 35 พีพีเอ็ม และพบการสะสมแคนทาแซนทินมากที่สุดในปลาการ์ตูนส้มขาวที่เสริมไขมัน 13% และเสริมแอสตาแซนทิน 35 พีพีเอ็ม ส่วนการสะสมลูทีน และซีแซนทีนพบมากที่สุดในปลาการ์ตูนส้มขาวที่เสริมไขมัน 20% และเสริมแอสตาแซนทิน 35 พีพีเอ็ม (Kanokrun, Watanadilok, Muthuwan, & Santawanpas, 2013)

5. ความต้องการโปรตีนในกลุ่มปลาสวยงาม

จากการศึกษาในปลาสวยงามกลุ่มปลากินพืช พบว่ามีความต้องการโปรตีนประมาณ 30 % ส่วนกลุ่มปลากินสัตว์เป็นอาหารมีความต้องการโปรตีนประมาณ 50 % (Sales & Jansens, 2003) และพบว่าปลาการ์ตูนลายปล้องหางเหลือง อายุ 30 วัน มีความต้องการโปรตีน 45 % และไขมัน 11 % (Varghese, 2004) และ จากการศึกษาของ จารุพันธ์ ประทุมยศ และปิยะวรรณ ศรีวิลาส (2548) พบว่าปลาการ์ตูนส้มขาว มีความต้องการโปรตีนอย่างน้อย 57.50 % ไขมัน 14.40 %, คาร์โบไฮเดรต 14.10 %, ไฟเบอร์ 0.42 % และเถ้า 13.58 % และพบว่า

ปลาการ์ตูนอานม้า ในปลาขนาดน้อยกว่า 200 มิลลิกรัม โปรตีนที่เหมาะสมอยู่ที่ 46.61 % ส่วนปลาขนาด 200-300 มิลลิกรัม โปรตีนที่เหมาะสมอยู่ที่ 36.27 % (Pananghat , Gangadharan, & Koyadan, 2008) การศึกษาของ Pushparai and Ambika (2010) ในปลาการ์ตูนลายปล้องหางเหลืองวัยอ่อน พบว่าปลากิน Moina เป็นอาหารมีการเจริญเติบโตดีที่สุดและไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปมีโปรตีน 45 %

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) กระจกตวงขนาด 10 ,20 และ 100 ml
- 2) Beaker ขนาด 50 ,100 ,250 ,600 และ 1,000 ml
- 3) flask ขนาด 100 ,250 และ 500 ml
- 4) Test tube
- 5) สำลี
- 6) แท่งแก้ว
- 7) Pasture pipette
- 8) ลูกยาง
- 9) Vial ขนาด 5, 10 และ 15 ml
- 10) กรวยกรอง
- 11) Glass cuvette ขนาด 3 ml
- 12) Stainless spatula
- 13) ซ้อนตักสารพลาสติกสีดำ
- 14) กรวยแยกขนาด 500 ml
- 15) โกร่งบด
- 16) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น AG204, Switzerland)
- 17) เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo รุ่น Helios Alpha
- 18) เครื่อง Vortex
- 19) เครื่อง Centrifuge
- 20) เครื่อง Rotary evaporator (Rota vapor R-200 ,Buchi)
- 21) คอลัมน์ยี่ห้อ Inertsil ODS- 3, 5 μ m, 250 x 4.6 mm

- 22) เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Alliance รุ่น Waters 2695
- 23) เครื่องวิเคราะห์โปรตีน TruSpec Carbon/Nitrogen Determination ยี่ห้อ LECO
- 24) เครื่อง Fat Extractor TFE2000 ยี่ห้อ LECO

สารเคมีที่ใช้

- 1) Acetone (JT. Baker)
- 2) Sodium sulphate (Carbo erba, France)
- 3) Potassium hydroxide; KOH (Carbo erba, France)
- 4) Ethanol (JT. Beaker)
- 5) Diethyl ether (Lab-scan, Ireland)
- 6) Acetonitrile HPLC เกรด (Lab-scan, Ireland)
- 7) Ethyl acetate HPLC เกรด (JT. Baker)
- 8) Hexanes (Fluka)
- 9) Methanol HPLC เกรด (Lan-scan, Ireland)
- 10). เบต้าแคโรทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน 10 % ชื่อทางการค้า Lucarotin[®] จากบริษัท BASF
- 11). แคนทาแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยแคนทาแซนทิน 10 % ชื่อทางการค้า Lucantin[®] Red จากบริษัท BASF
- 12). แอสตาแซนทินสังเคราะห์ประกอบด้วยแอสตาแซนทิน 10 % ชื่อทางการค้า Lucantin[®] Pink จากบริษัท BASF
- 13). ลูทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยลูทีน 5 % ชื่อทางการค้า Lutein DC จากบริษัท BASF
- 14). ซีแซนทินสังเคราะห์ประกอบด้วยซีแซนทิน 5 % ชื่อทางการค้า Zeaxanthin DC จากบริษัท BASF

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

ที่โรงเพาะฟัก และห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำชลบุรี กรมประมง ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ระยะเวลาในการทำงานวิจัย 9 เดือน

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตู้ทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาดกว้าง 30 ซม. ยาว 60 ซม. สูง 45 ซม. มีปริมาตรความจุน้ำ 50 ลิตร จำนวน 54 ใบ สำหรับการทดลองที่ 1 และ จำนวน 108 .ใบ สำหรับการทดลองที่ 2 ก่อนการทดลองแช่ฟอร์มาลินเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ส่วนอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ หัวทราย สายลม แช่ฆ่าเชื้อในแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ปริมาณ 10 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร แช่ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดจนไม่มีคลอรีนตกค้างและตั้งทิ้งไว้ให้แห้งก่อนนำมาใช้ทุกตู้มีระบบน้ำเข้าและน้ำออกเพื่อใช้เป็นระบบน้ำหมุนเวียนแบบกึ่งปิด ซึ่งประกอบด้วยถังตกตะกอน 1 ถังซึ่งรองรับน้ำจากตู้เลี้ยงปลาซึ่งต่อกับถังน้ำสำหรับใส่สาหร่ายใช้ในการบำบัดน้ำและต่อลงในถังพักน้ำอีก 1 ถัง โดยใช้ปั้มน้ำ 1 ตัวสำหรับดูดน้ำจากระบบกรองกลับสู่ตู้เลี้ยงปลาทดลอง และคลุมตู้กระจกด้วยพลาสติกสีดำ เพื่อป้องกันแสง

การเตรียมน้ำในการทดลอง

น้ำที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำทะเลที่ปรับความเค็มไว้ที่ 30 พีพีทีบำบัดด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 30 พีพีเอ็ม จำนวน 2 ครั้งให้อากาศเป็นเวลา 1-2 วันจึงทิ้งให้ตกตะกอน หลังจากนั้นสูบน้ำส่วนใสมาเก็บไว้ในบ่อพักน้ำที่มีหลังคาปิดมิดชิดเติมน้ำลงในตู้ทดลอง 50 ลิตรต่อตู้แต่ละตู้มีหัวทราย 2 จุดเพื่อให้อากาศ

การเตรียมปลาทดลอง

ลูกปลาการ์ตูนแดงที่ใช้ในการทดลองซื้อมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง ตำบลตะพง อำเภอเมือง จังหวัดระยอง น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.15 กรัม ความยาวเฉลี่ย (Total length) ประมาณ 2.01 เซนติเมตร อายุประมาณ 1 เดือน จำนวน 540 ตัว นำมาอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรพื้นฐานเป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้ปลาเคยชินกับอาหารหลังจากนั้นทำการ

คัดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งน้ำหนักและวัดความยาวไว้ในตู้ทดลองจำนวน 10 ตัวต่อตู้ (ความหนาแน่น 1 ตัวต่อน้ำ 5 ลิตร)

การวางแผนการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial design) ปัจจัยที่ 1 มี 6 ชุดการทดลอง คือ ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ ชุดการทดลองที่ 1 เป็นชุดควบคุม และเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 2 เสริมเบต้าแคโรทีน ชุดการทดลองที่ 3 แคนทาแซนทิน ชุดการทดลองที่ 4 แอสตาแซนทิน ชุดการทดลองที่ 5 ลูทีน และ ชุดการทดลองที่ 6 ซีแซนทิน ปัจจัยที่ 2 มี 3 ชุดการทดลอง คือ ระยะเวลาในการเลี้ยง คือ 1, 2 และ 3 เดือน แบ่งออกเป็น 18 ชุดทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ

การเตรียมอาหารทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง

ผลิตอาหารทดลองใช้สูตรพื้นฐานที่ประกอบด้วยสารอาหารที่เหมือนกันยกเว้นชนิดของแคโรทีนอยด์ ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหารความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ 100 พีพีเอ็ม และไม่ใส่แคโรทีนอยด์ ซึ่งใช้เป็นสูตรควบคุม (ตารางที่ 3-1) ซึ่งส่วนผสมของอาหารแต่ละสูตรเหมือนกัน ยกเว้นชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ใส่ในอาหารแต่ละสูตรจากนั้นผสมวัสดุอาหารแห้งที่มีปริมาณน้อยก่อนและตามด้วยวัสดุอาหารที่มีปริมาณมากให้เข้ากันใน Hobart mixer ประมาณ 5 นาที ตามด้วยวัสดุอาหารจำพวกน้ำมัน ประมาณ 5-10 นาที สำหรับแคโรทีนอยด์ที่ใส่อยู่ในรูปสารสังเคราะห์จากบริษัท BASF คำนวณความเข้มข้นให้ได้ 100 พีพีเอ็มในแต่ละชนิดของแคโรทีนอยด์ นำมาซึ่งน้ำหนัก และละลายด้วยน้ำเย็นประมาณ 350 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และคนจนสารละลายใสนั้นนำมาผสมกับวัตถุดิบทั้งหมดจนเป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นนำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องบดอาหารความเร็วรอบ 146 รอบต่อนาที หน้าแป้นบดอาหารประมาณ 2 มิลลิเมตรและขยี้ให้มีขนาดเล็กนำเข้าเครื่อง Freeze dry เสร็จแล้วนำมาผ่านตะแกรงร่อนขนาด 850 ไมโครเมตร นำอาหารเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงการทดลอง

อาหารส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 3-2)

ตารางที่ 3-1 การทดลองที่ 1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลอง
(กรัม/100 กรัมอาหารทดลอง)

วัตถุดิบ	ชุดการทดลอง					
	1	2	3	4	5	6
ปลาป่น 60 %	60	60	60	60	60	60
กากถั่วเหลือง	11.5	11.4	11.4	11.4	11.3	11.3
หิวตกลูเตน	5	5	5	5	5	5
แป้งสาลี	15	15	15	15	15	15
น้ำมันปลาทูน่า	5	5	5	5	5	5
แร่ธาตุผสม*	1	1	1	1	1	1
วิตามินผสม**	2	2	2	2	2	2
วิตามินซี 80 %	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
เบต้าแคโรทีน 10 %		0.1				
แคนทาแซนทีน 10 %			0.1			
แอสตาแซนทีน 10 %				0.1		
ลูทีน 5 %					0.2	
ซีแซนทีน 5 %						0.2
รวม	100	100	100	100	100	100

หมายเหตุ อ้างอิงสูตรอาหาร (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มณฑกานติ ทำมติน, สุพิศ ทองรอด และ
สิริพร ลือชัยชัยกุล, 2555)

* แร่ธาตุผสมประกอบด้วยเกลือแร่ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ KH_2PO_4 : $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:
 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: KCl : FeSO_4 : ZnSO_4 : CuSO_4 : MnSO_4 = 1.0: 1.0: 1.5: 0.5:
0.0063:0.0074: 0.0013: 0.0055 (Davis and Lawrence, 1997)

** วิตามินผสมประกอบด้วยวิตามิน (ปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมวิตามินรวม) ดังต่อไปนี้
thiamine (B1) 23.47; riboflavin (B2) 25; niacin 37.07; vitamin E 50% 80; pyridoxine HCL

54.55; Ca-pantothenate (B5) 25; inositol 98; biotin 25; folic acid 2.1; cyanocobalamin (B12) 0.6; menadion (K 50 %) 26; vitamin C 85.71; choline chloride 50 % 300; vitamin A/D3 2.3 และ cellulose 215.71

*เบต้าแคโรทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน 10 % ชื่อทางการค้า Lucarotin@ จากบริษัท BASF *แคนทาแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยแคนทาแซนทิน 10 % ชื่อทางการค้า Lucantin@ Red จากบริษัท BASF *แอสตาแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยแอสตาแซนทิน 10 % ชื่อทางการค้า Lucantin@ Pink จากบริษัท BASF *ลูทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยลูทีน 5 % ชื่อทางการค้า Lutein DC จากบริษัท BASF *ซีแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยซีแซนทิน 5 % ชื่อทางการค้า Zeaxanthin DC จากบริษัท BASF

ตารางที่ 3-2 การทดลองที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนแดง

องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)	ชุดการทดลอง					
	1	2	3	4	5	6
โปรตีนรวม	53.94	53.93	53.30	53.69	54.06	53.66
ไขมันรวม	12.30	12.70	12.45	12.76	12.57	12.93
คาร์โบไฮเดรต	14.61	14.59	14.96	14.64	14.69	14.66
เยื่อใย	1.06	1.13	0.95	1.08	1.10	1.11
เถ้า	18.09	17.65	18.35	17.83	17.59	17.64
ความชื้น (%)	7.26	7.24	7.13	7.20	7.21	7.39
เบต้าแคโรทีน (มก./กก.)		112				
แคนทาแซนทิน (มก./กก.)			108			
แอสตาแซนทิน (มก./กก.)				110		
ลูทีน (มก./กก.)					110	
ซีแซนทิน (มก./กก.)						108

วิธีดำเนินการทดลอง

นำลูกปลาอายุประมาณ 1 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.15 กรัม ความยาวเฉลี่ย (Total length) ประมาณ 2.01 เซนติเมตร ใสในตู้ทดลองอัตราปล่อย 10 ตัวต่อตู้ให้อาหารทดลองแบบกินจนอิ่ม วันละ 3 มื้อ ในเวลา 08.00, 11.00 และ 15.00 น. จัดบันทึกปริมาณอาหารทุกวัน ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำสัปดาห์ละครั้งจากจุดเก็บตัวอย่างน้ำในตู้เลี้ยงปลา และการเปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละครั้ง ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบระยะเวลาเลี้ยง 1, 2 และ 3 เดือน เก็บตัวอย่างปลาทุกตัวภายในตู้ทดลอง มาชั่งน้ำหนัก และวัดการเปลี่ยนแปลงของสี มีการวางยาสลบด้วย Quinaldine (ชื่อทางเคมี 2-Methylquinoline) ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม (สุภฎา ศิริรัฐนิคม, รัตติยา สะอู และอัจฉรินทร์ สุวรรณภักดี, 2542) ก่อนที่จะทำการชั่งน้ำหนักและวัดสีบริเวณตัวปลา โดยวัดสีบริเวณกลางลำตัวด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) ยี่ห้อ Minolta color reader รุ่น CR-10 อ่านค่าในระบบ CIE ($L^*a^*b^*$) ค่า L^* คือความสว่าง ค่า a^* คือเฉดสีแดง และค่า b^* คือเฉดสีเหลือง ตามวิธีการของ (Choubert & Luquet, 1983)

รวบรวมปลาหลังจากชั่งน้ำหนักและวัดสีเสร็จแล้วมาเก็บที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนัง ขั้นตอนการสกัดแคโรทีนอยด์ใช้วิธีดัดแปลงของ Britton, Liaaen-Jensen, and Pfander (1995a) สกัดตัวอย่างด้วย acetone แยกแคโรทีนอยด์ที่ละลายอยู่ใน acetone ทั้งหมดออกด้วย diethyl ether ก่อนนำแคโรทีนอยด์ที่ละลายใน diethyl ether มาระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม นำตัวอย่างที่สกัดได้มาวัดปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีการดัดแปลงของ Britton, Liaaen-Jensen and Pfander (1995b) โดยนำตัวอย่างมาละลายด้วย ethyl acetate วัดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo รุ่น Helios Alpha และคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์รวม โดยวัดค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงเท่ากับ 2500 นำข้อมูลมาคำนวณผลของปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนัง

หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดได้หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์บริเวณผิวหนังของปลาด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Water Alliance 2995 และ Photo Diode Array detector ใช้ Column ยี่ห้อ Inertsil® ODS-3 ขนาด 5 μm , 250 x 4.6 mm โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 พีพีเอ็ม วัดค่าการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์ชนิดนั้น ๆ คำนวณความเข้มข้นของสารละลาย

มาตรฐานด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงนำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาวัดพื้นที่ของพีคด้วยเครื่อง HPLC ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ของพีควิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในรูปอิสระโดยเทียบขนาด (พื้นที่) ของพีคจากกราฟมาตรฐาน นำข้อมูลมาคำนวณผลของปริมาณแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดที่สะสมบริเวณผิวหนังของปลา

จุดบันทึก นำข้อมูลมาคำนวณผลการทดลอง ได้แก่ อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ และค่าเฉลี่ยของสี เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้บันทึกไว้นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยต่าง ๆ ดังนี้

อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (Daily weight gain, DWG), (กรัม/วัน)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

ระยะเวลาทดลอง

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SRG), (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง}) - (\ln \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น})}{\text{ระยะเวลาทดลอง}} \times 100$$

ระยะเวลาทดลอง

อัตราการรอด (Survival rate) (%)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

จำนวนปลาเริ่มต้น

อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหาร(แห้ง)ที่กิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเสริมอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลา

วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล ปัจจัยที่ 1 มี 6 ชุดการทดลอง โดยใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 พีพีเอ็ม และชุดควบคุมไม่เสริม

แอสตาแซนทินสังเคราะห์ ปัจจัยที่ 2 มี 6 ชุดการทดลอง คือระยะเวลาการเลี้ยงที่ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ และปัจจัยที่ 3 มี 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณหัว ลำตัวเหนือครีบก และลำตัวใต้ครีบล้าง แต่ละชุดการทดลอง มี 3 ซ้ำ

การเตรียมตู้ทดลอง เตรียมน้ำทดลอง และเตรียมลูกปลาทดลอง

การเตรียมตู้ทดลองขนาดความจุ 50 ลิตร ใส่ปลา 10 ตัว/ตู้ จำนวน 108 ตู้ สุ่มเก็บตัวอย่าง 10 ตัวต่อตู้ ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์) ส่วนการเตรียมน้ำเหมือนกับการทดลองที่ 1 การเตรียมปลาทดลอง ลูกปลาการ์ตูนแดงที่ใช้ในการทดลองซื้อมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง ตำบลตะพง อำเภอเมือง จังหวัดระยอง น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.18 กรัม ความยาวเฉลี่ย (Total length) ประมาณ 2.22 เซนติเมตร อายุประมาณ 1 เดือน จำนวน 1,080 ตัว นำมาอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรพื้นฐานเป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้ปลาเคยชินกับอาหาร หลังจากนั้นทำการคัดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งน้ำหนักและวัดความยาวใส่ในตู้ทดลองจำนวน 10 ตัวต่อตู้ (ความหนาแน่น 1 ตัวต่อน้ำ 5 ลิตร)

การเตรียมอาหารทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหาร

ทดลอง

ผลิตอาหารทดลองใช้สูตรพื้นฐานที่ประกอบด้วยสารอาหารที่เหมือนกันยกเว้นปริมาณแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร (ตารางที่ 3-3) ส่วนขั้นตอนผลิตอาหารและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเหมือนกับการทดลองที่ 1 (ตารางที่ 3-4)

วิธีดำเนินการทดลอง

นำลูกปลาอายุประมาณ 1 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.18 กรัม ความยาวเฉลี่ย (Total length) ประมาณ 2.22 เซนติเมตร ใส่ในตู้ทดลองอัตราปล่อย 10 ตัวต่อตู้ ให้อาหารทดลองแบบกินจนอิ่ม วันละ 3 มื้อ ในเวลา 08.00, 11.00 และ 15.00 น. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำสัปดาห์ละครั้งจากจุดเก็บตัวอย่างน้ำในตู้เลี้ยงปลา และการเปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละครั้ง ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบระยะเวลาเลี้ยง 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างปลาทุกตัวภายในตู้ทดลอง มาวางยาสลบด้วย Quinaldine (ชื่อทางเคมี 2-Methylquinoline)

ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ก่อนนำมาวัดสี ทำการวัดสีบริเวณตัวปลาโดยวัดสี 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณหัว ลำตัวเหนือครีบอก และลำตัวใต้ครีบหลัง ด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) ยี่ห้อ Minolta color reader รุ่น CR-10 อ่านค่าในระบบ CIE (L*a*b*) ค่า L* คือความสว่างของสี ค่า a* คือเฉดสีแดง และค่า b* คือเฉดสีเหลือง ตามวิธีการของ (Choubert & Luquet, 1983) จดบันทึกข้อมูล

ตารางที่ 3-3 การทดลองที่ 2 ส่วนประกอบของวัตถุดิบในอาหารทดลอง
(กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

วัตถุดิบ	ชุดการทดลอง					
	1	2	3	4	5	6
ปลาป่น โปรตีน 60 %	60	60	60	60	60	60
สารเหนียว (หีตกลูเตน)	5	5	5	5	5	5
แป้งสาลี	15	15	15	15	15	15
น้ำมันปลาทูน่า	5	5	5	5	5	5
แร่ธาตุผสม*	1	1	1	1	1	1
วิตามินผสม**	2	2	2	2	2	2
วิตามินซี 80 %	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
เซลลูโลส	11.50	11.50	11.50	11.50	11.50	11.50
แอสตาแซนทีนสังเคราะห์***	0	0.025	0.05	0.10	0.15	0.20
รวม	100	100	100	100	100	100

หมายเหตุ อ้างอิงสูตรอาหาร (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มณฑกานติ ท้ามติน, สุพิศ ทองรอด และสิริพร ลือชัยชัยกุล, 2555)

* แร่ธาตุผสมประกอบด้วยเกลือแร่ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ KH_2PO_4 : $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: KCl : FeSO_4 : ZnSO_4 : CuSO_4 : MnSO_4 = 1.0: 1.0: 1.5: 0.5: 0.0063:

0.0074: 0.0013: 0.0055 (Davis and Lawrence, 1997)

** วิตามินผสมประกอบด้วยวิตามิน (ปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมวิตามินรวม) ดังต่อไปนี้

thiamine (B1) 23.47; riboflavin (B2) 25; niacin 37.07; vitamin E 50% 80; pyridoxine HCL

54.55; Ca-pantothenate (B5) 25; inositol 98; biotin 25; folic acid 2.1; cyanocobalamin (B12) 0.6; menadion (K 50 %) 26; vitamin C 85.71; choline chloride 50 % 300; vitamin A/D3 2.3 และ cellulose 215.71

***แอสตาแซนทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยแอสตาแซนทีน 10 % ชื่อทางการค้า Lucantin@ Pink จากบริษัท BASF

ตารางที่ 3-4 การทดลองที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนแดง

องค์ประกอบทางเคมี (% น้ำหนักแห้ง)	ชุดการทดลอง					
	1	2	3	4	5	6
โปรตีนรวม	53.94	53.93	53.30	53.69	54.06	53.66
ไขมันรวม	12.30	12.70	12.45	12.76	12.57	12.93
คาร์โบไฮเดรต	14.61	14.59	14.96	14.64	14.69	14.66
เยื่อใย	1.06	1.13	0.95	1.08	1.10	1.11
เถ้า	18.09	17.65	18.35	17.83	17.59	17.64
ความชื้น (%)	7.26	7.24	7.13	7.20	7.21	7.39
เบต้าแคโรทีน (มก./กก.)	0	23	48	98	145	187

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ การเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%SRG) อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ (FCR) ค่าเฉลี่ยของค่าความสว่าง ค่าเฉลี่ยแดง ค่าเฉลี่ยเหลือง ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม และปริมาณและชนิดแคโรทีนอยด์ วิเคราะห์หาความแปรปรวนข้อมูลทางสถิติแบบสองทาง (Two – way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์ ด้วยวิธี Tukey's HSD test ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (ศิริชัย พงษ์วิชัย, 2551)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง

1.1 ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และระยะเวลาที่ปลาได้รับแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ อิทธิพลร่วม

ชนิดแคโรทีนอยด์สังเคราะห์และระยะเวลาการเลี้ยง พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วม (interaction) ต่ออัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ ($p>0.05$) โดยพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 6 ชุดการทดลองมีอัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ อยู่ในช่วง 9.06-10.18 มิลลิกรัมต่อวัน 1.66-1.85 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน 93.33-96.66 เปอร์เซ็นต์ และ 2.50-2.76 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 4-1) (ภาพที่ 4-2)

เมื่อพิจารณาระยะเวลาการเลี้ยงปลาด้วยอาหารแต่ละชุดการทดลองในเดือนที่ 1, 2 และ 3 พบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวันไม่แตกต่างกันตามระยะเวลาของอาหารแต่ละชุดการทดลอง อยู่ในช่วง 9.37--10.01 มิลลิกรัมต่อวัน เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) ในขณะที่ปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และชุดควบคุม ในเดือนที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีที่สุด อยู่ในช่วง 1.46-2.08 เปอร์เซ็นต์ต่อวันเช่นเดียวกับอัตราแลกเนื้อ อยู่ในช่วง 1.96-3.14 ส่วนอัตรารอดในเดือนที่ 1 และ 2 มีอัตรารอดดีที่สุด อยู่ในช่วง 88.33-100.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4-1

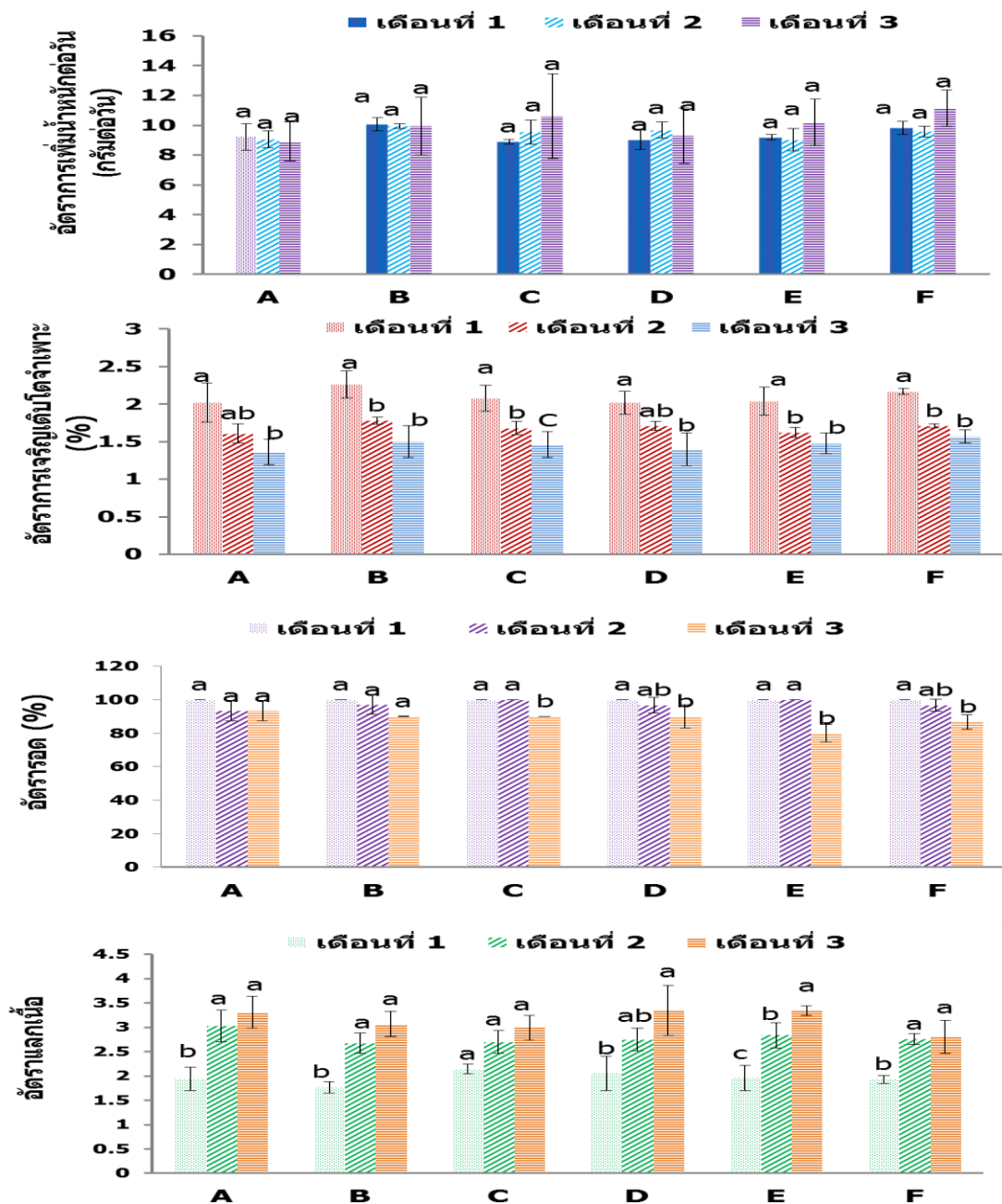
ปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมและเสริมแอสตาแซนทิน พบว่าเดือนที่ 1 และ 3 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่างกันแต่ไม่ต่างจากเดือนที่ 2 ($p<0.05$) ส่วนอาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน ลูทีน และซีแซนทิน พบว่าเดือนที่ 2 และ 3 ไม่ต่างกันแต่ต่างจากเดือนที่ 1 ($p<0.05$) และอาหารที่เสริมแคนทาแซนทิน พบว่าเดือนที่ 1, 2 และ 3 มีค่าแตกต่างกัน ($p<0.05$) ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมและเสริมเบต้าแคโรทีน พบว่าเดือนที่

1, 2 และ 3 มีอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนอาหารที่เสริมแคนทาแซนทินและลูทีน พบว่าเดือนที่ 1 และ 2 ไม่แตกต่างกันแต่ต่างจากเดือนที่ 3 ($p<0.05$) ส่วนแอสตาแซนทิน และ ซีแซนทิน พบว่าเดือนที่ 1 และ 3 มีอัตราการรอดแตกต่างกัน ($p<0.05$) ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม เสริมเบต้าแคโรทีน และซีแซนทิน พบว่าเดือนที่ 2 และ 3 มีอัตราแลกเนื้อไม่ต่างกันแต่ต่างกับเดือนที่ 1 ($p<0.05$) อาหารที่เสริมแอสตาแซนทิน พบว่าเดือนที่ 1 และ 3 แตกต่างกัน ($p<0.05$) ส่วนอาหารเสริมลูทีน พบว่าเดือนที่ 1, 2 และ 3 มีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) แต่อาหารที่เสริมแคนทาแซนทิน พบว่าเดือนที่ 1, 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (ภาพที่ 4-1)

ตารางที่ 4-1 อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละชุดการทดลองที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 เดือน

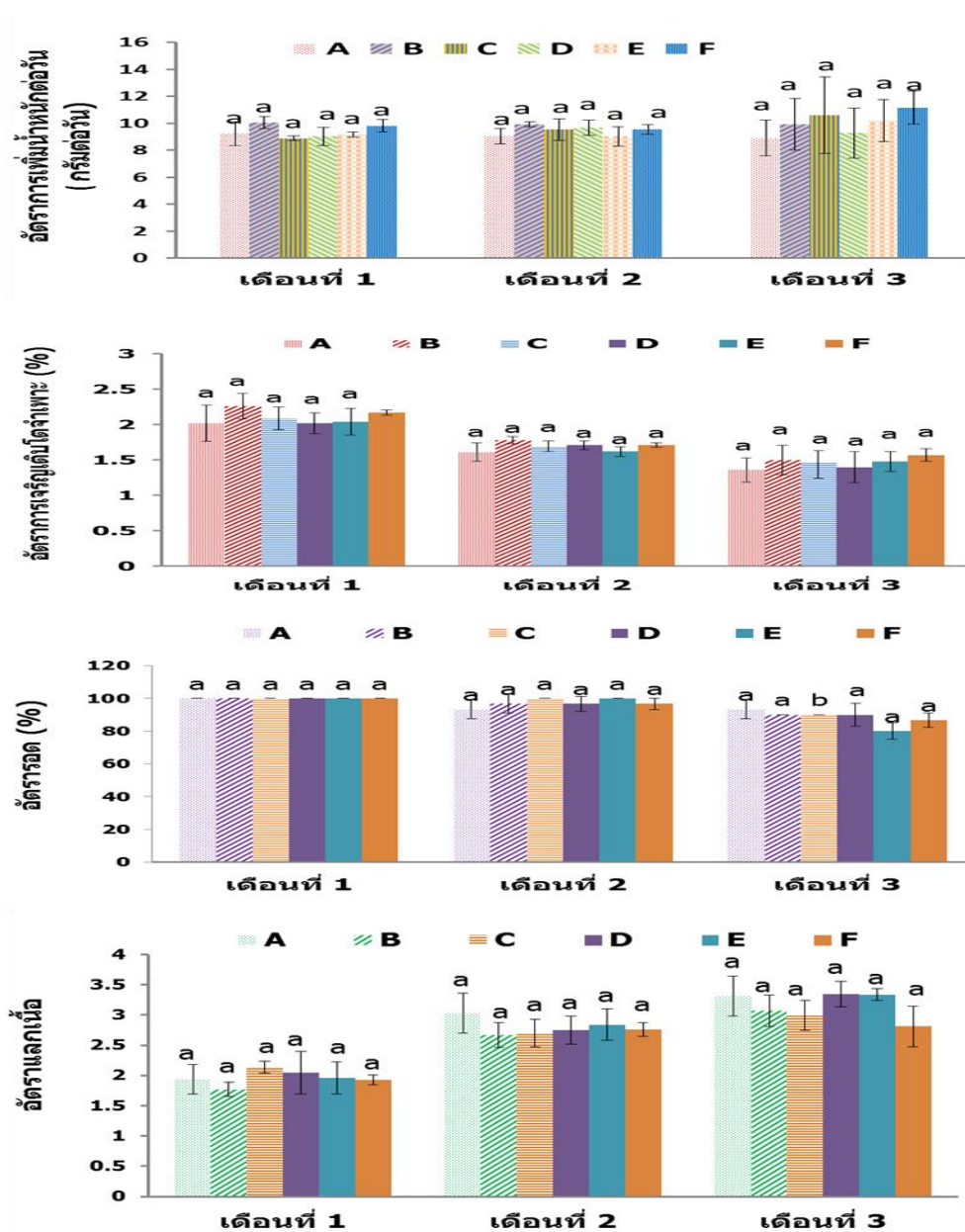
Factor		DWG	SGR	Survival	FCR
Carotenoid	Non-carotenoid	9.06±0.85 ^a	1.66±0.33 ^a	95.55±5.27 ^a	2.76±0.689 ^a
	Beta-carotene	9.98±0.99 ^a	1.85±0.36 ^a	95.55±7.26 ^a	2.50±0.60 ^a
	Canthaxanthin	9.68±1.66 ^a	1.69±0.24 ^a	96.66±5.00 ^a	2.60±0.61 ^a
	Astaxanthin	9.33±1.30 ^a	1.70±0.30 ^a	95.55±5.27 ^a	2.71±0.70 ^a
	Lutein	9.46±1.10 ^a	1.71±0.28 ^a	93.33±11.18 ^a	2.71±0.63 ^a
	Zeaxanthin	10.18±1.01 ^a	1.81±0.27 ^a	94.44±7.26 ^a	2.50±0.46 ^a
Time (Month)	1	9.37±0.66 ^a	2.08±0.17 ^a	100.00±0.00 ^a	1.96±0.19 ^c
	2	9.47±0.56 ^a	1.68±0.09 ^b	97.22±4.60 ^a	2.79±0.23 ^b
	3	10.01±1.85 ^a	1.46±0.17 ^c	88.33±7.07 ^b	3.14±0.51 ^a
P value Two-way ANOVA					
Carotenoid		0.429	0.083	0.750	0.510
Time		0.261	0.000	0.00	0.00
Carotenoid × Time		0.879	0.909	0.151	0.882

หมายเหตุ abc: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวคอลัมน์แต่ละ Factor แสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p<0.05$)



ภาพที่ 4-1 อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และ อัตราแลกเนื้อ (FCR) ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน (E) และซีแซนทิน (F)

หมายเหตุ abc: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเดือนแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-2 อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (DWG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตรารอด (Survival) และ อัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาการ์ตูนแดงที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทิน (F)

หมายเหตุ abc: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละชุดการทดลองแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)

1.2 ผลของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และระยะเวลาที่ปลาได้รับ แคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณผิวหนัง

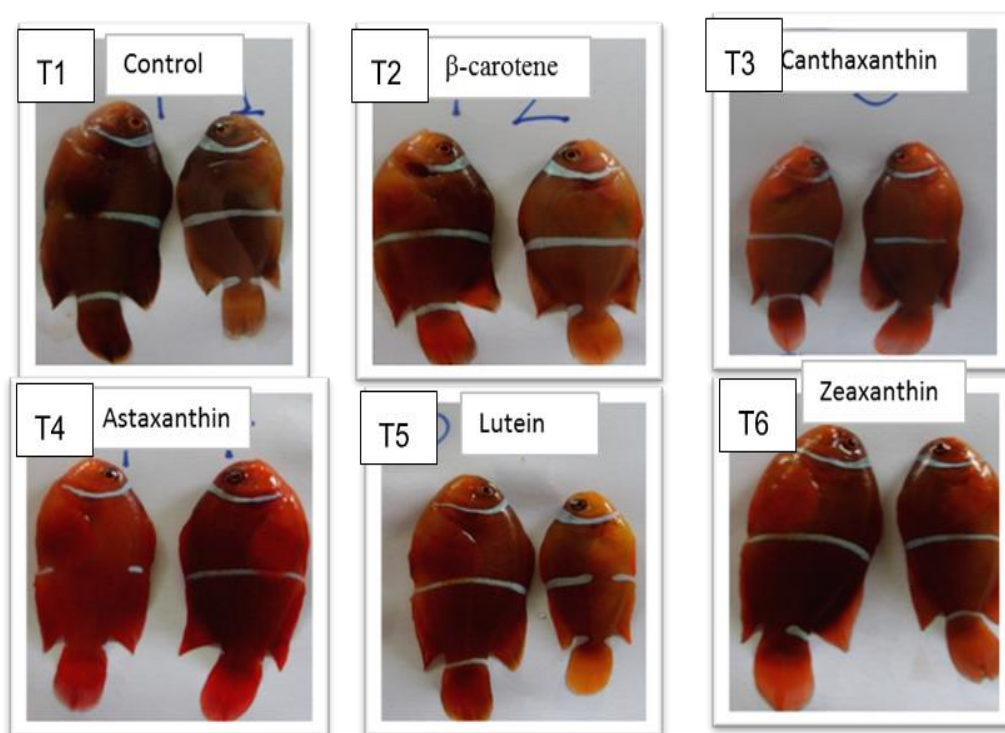
อิทธิพลร่วม

จากการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทั้ง 6 ชุดการทดลอง โดยแบ่งระยะเวลาการเลี้ยง คือ 1, 2 และ 3 เดือน พบว่าชนิดแคโรทีนอยด์สังเคราะห์และระยะเวลาการเลี้ยงมีอิทธิพลร่วม (interaction) ต่อค่าความสว่าง (L^*) ค่าเฉดสีแดง (a^*) ค่าเฉดสีเหลือง (b^*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม โดยค่าความสว่างอยู่ในช่วง 35.24–38.85 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) พบว่าระยะเวลาการเลี้ยงที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าความสว่างมีแนวโน้มลดลง แต่มีค่าใกล้เคียงกันในเดือนที่ 2 และ 3 พบอยู่ในช่วง 35.24–38.85 ส่วนค่าเฉดสีแดง เฉดสีเหลือง และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม พบอยู่ในช่วง 11.26–13.93, 15.10–16.50 และ 51.08–80.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงและในเดือนที่ 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4-2) (ภาพที่ 4-3)

เมื่อพิจารณาผลของชนิดแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์มีค่าความสว่างสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินมีค่าความสว่างน้อยที่สุด ส่วนค่าเฉดสีแดง พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินมีค่าเฉดสีแดงสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์มีค่าเฉดสีแดงต่ำสุด ส่วนผลของค่าเฉดสีเหลือง พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมลูทีนและซีแซนทินมีค่าเฉดสีเหลืองสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์มีค่าเฉดสีแดงต่ำสุด ส่วนผลของแคโรทีนอยด์รวม พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินมีแคโรทีนอยด์รวมสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมต่ำสุดเช่นกัน (ภาพที่ 4-5)

ผลของระยะเวลาที่ปลาได้รับแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน

มีค่าความสว่างไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่ต่ำกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนค่าเฉดสีแดง พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่สูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน มีค่าเฉดสีเหลืองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์รวม พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 4-4)

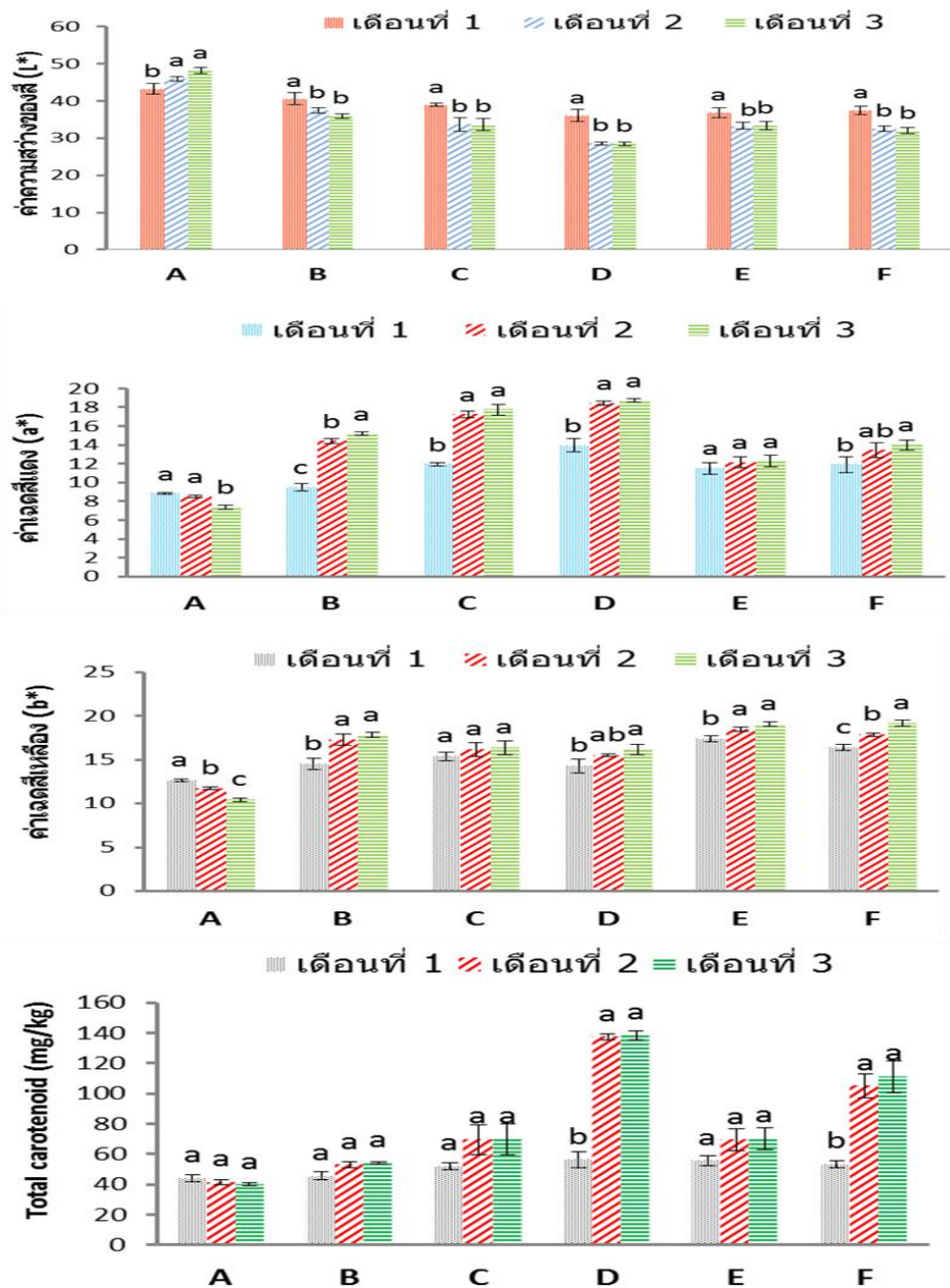


ภาพที่ 4-3 การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (สูตรควบคุม (T1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (T2) แคนทาแซนทิน (T3) แอสตาแซนทิน (T4) ลูทีน (T5) และ ซีแซนทิน (T6)

ตารางที่ 4-2 ค่าความสว่าง (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) ค่าเฉดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดทดลองต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน

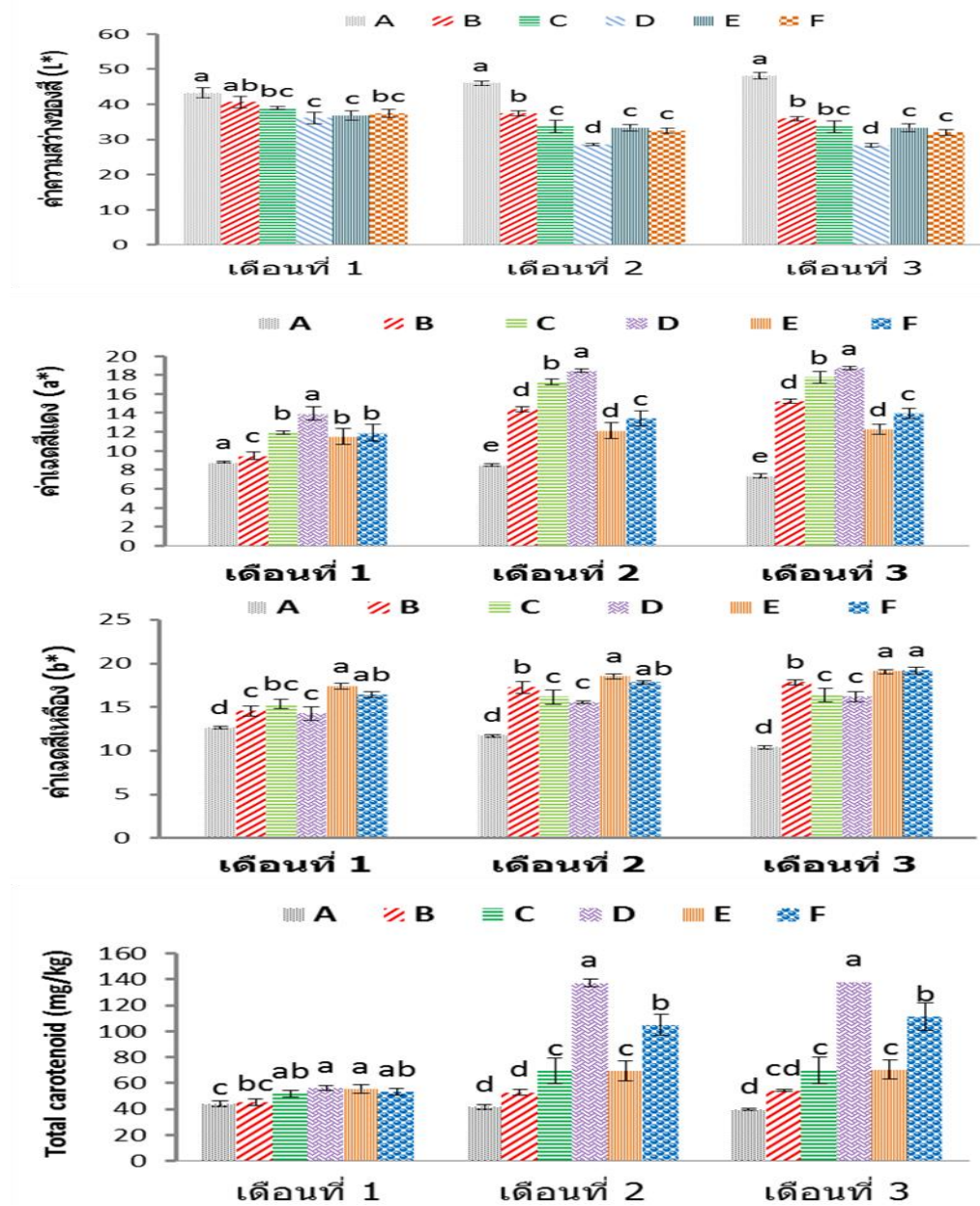
Factor		Lightness (L*)	Redness (a*)	Yellowness (b*)	Total carotenoid (mg/kg)
Carotenoid	Non-carotenoid	45.80±2.27 ^a	8.23±0.68 ^f	11.59±0.97 ^e	41.80±2.24 ^e
	Beta-carotene	37.99±2.27 ^b	11.19±1.34 ^e	16.53±1.59 ^b	50.98±3.41 ^d
	Canthaxanthin	35.44±2.92 ^c	15.64±2.81 ^b	15.94±0.77 ^c	63.83±3.48 ^c
	Astaxanthin	31.00±3.87 ^e	17.04±2.36 ^a	15.33±0.95 ^d	110.64±4.93 ^a
	Lutein	34.47±2.03 ^{cd}	11.98±0.63 ^d	18.31±0.78 ^a	65.10±3.02 ^c
	Zeaxanthin	33.78±2.71 ^d	13.83±1.61 ^c	17.81±1.23 ^a	89.87±4.51 ^b
Time (Month)	1	38.85±2.77 ^a	11.26±1.80 ^b	15.10±1.62 ^b	51.08±5.53 ^b
	2	35.24±3.68 ^b	13.77±3.49 ^a	16.16±2.31 ^a	79.35±3.84 ^a
	3	35.25±3.42 ^b	13.93±3.96 ^a	16.50±3.07 ^a	80.68±3.25 ^a
P value Two-way ANOVA					
Carotenoid		0.000	0.000	0.000	0.000
Time		0.000	0.000	0.000	0.000
Carotenoid × Time		0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ abcdef: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวคอลัมน์แต่ละ Factor แสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-4 ค่าความสว่าง (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) ค่าเฉดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวมที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารเสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทีน (C) แอสตาแซนทีน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทีน (F)

หมายเหตุ abc: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเดือนแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-5 ค่าความสว่างของสี (L*) ค่าเจดสีแดง (a*) ค่าเจดสีเหลือง (b*) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือน ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน (E) และซีแซนทิน (F)

หมายเหตุ abcde: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละชุดการทดลองแสดงว่ามี ความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)

1.3 ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่สะสมบริเวณผิวหนังปลา อิทธิพลร่วม

จากการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทั้ง 6 ชุดการทดลอง โดยแบ่งระยะเวลาการเลี้ยง คือ 1, 2 และ 3 เดือน พบว่าชนิดแคโรทีนอยด์และระยะเวลาการเลี้ยงมีอิทธิพลร่วม (interaction) ต่อการสะสมแอสตาแซนทิน แคนทาแซนทิน เบต้าแคโรทีน ลูทีน และซีแซนทินบริเวณผิวหนังปลา อยู่ในช่วง 0.31–37.70, 1.24–28.51, 0.53–3.29, 0.87–43.36 และ 5.97–68.47 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเลี้ยงระหว่างเดือนที่ 1, 2 และ 3 มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) และการสะสมแอสตาแซนทิน แคนทาแซนทิน เบต้าแคโรทีน ลูทีน และซีแซนทิน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเลี้ยง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.47–8.64, 5.05–6.53, 1.32–1.55, 5.86–10.86 และ 14.25–19.71 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดการทดลองต่างกันพบชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์บริเวณผิวหนังแตกต่างกัน ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4-3)

เมื่อพิจารณาผลของชนิดแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ต่อชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่สะสมบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดง พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินมีปริมาณแอสตาแซนทินสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแคนทาแซนทินพบปริมาณแคนทาแซนทินสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีนพบปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน ส่วนผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมลูทีนพบปริมาณลูทีนสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมซีแซนทินพบปริมาณซีแซนทินสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน

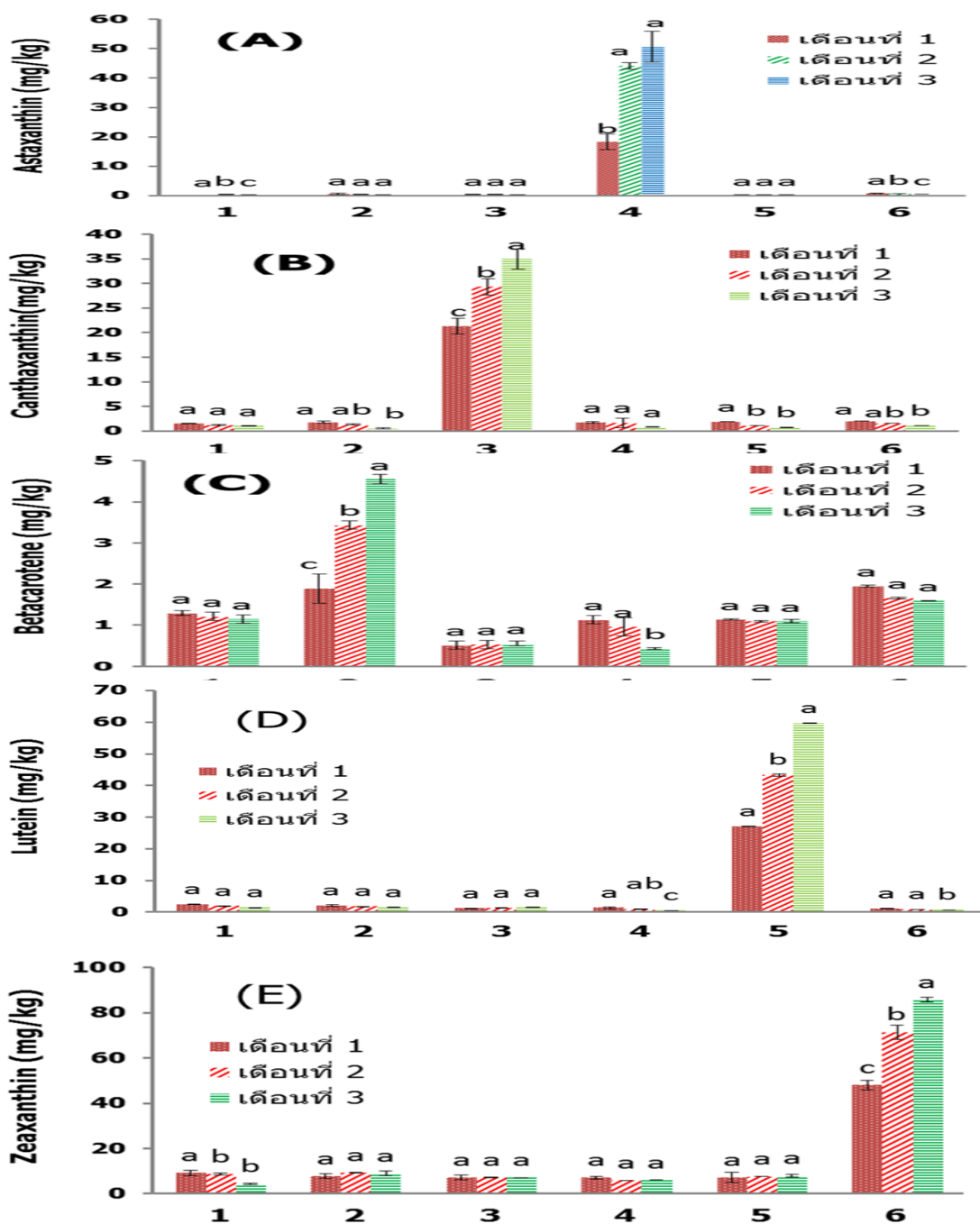
ผลของระยะเวลาที่ปลาได้รับแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ พบว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 และ 3 เดือน มีปริมาณแอสตาแซนทินไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับปลาที่

ได้รับอาหารเสริมแคนทาแซนทิน เบต้าแคโรทีน และ ซีแซนทิน แต่ผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม แคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 3 เดือน มีปริมาณลูทีนสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 และ 2 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 เดือน มีปริมาณลูทีนสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เป็นระยะเวลา 1 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-3 ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่สะสมบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทดลองต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน

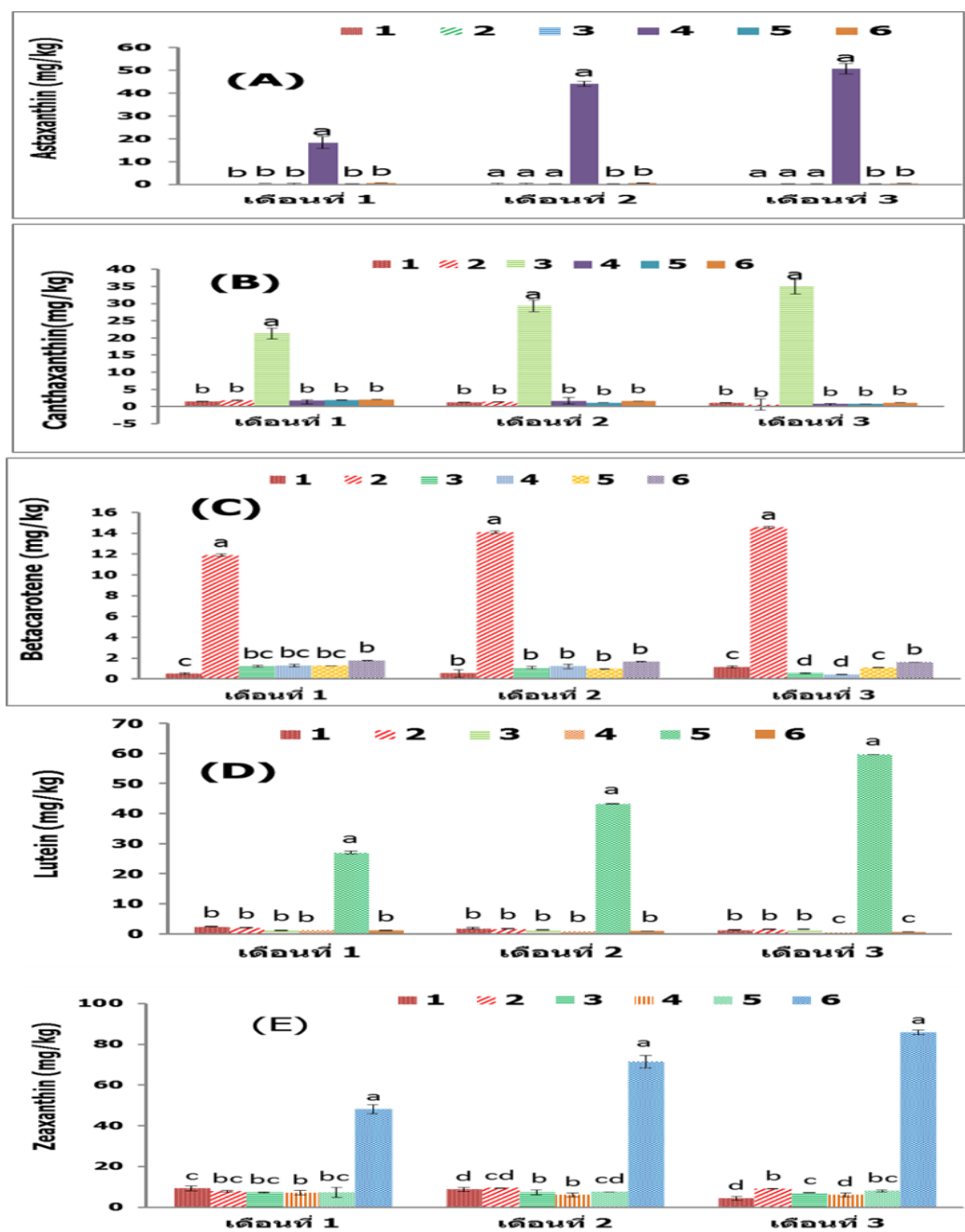
Factor	Astaxanthin (mg/kg)	Canthaxanthin (mg/kg)	Beta-carotene (mg/kg)	Lutein (mg/kg)	Zeaxanthin (mg/kg)
Carotenoid					
Non-carotenoid	0.32±0.27 ^b	1.26±0.35 ^b	1.22±0.19 ^c	1.89±0.64 ^b	7.41±1.44 ^c
Beta-carotene	0.32±0.22 ^b	1.24±0.65 ^b	3.29±1.17 ^a	1.76±0.43 ^b	10.07±1.64 ^b
Canthaxanthin	0.31±0.08 ^b	28.51±6.10 ^a	0.53±0.02 ^e	1.30±0.13 ^c	7.18±0.53 ^c
Astaxanthin	37.70±15.11 ^a	1.41±0.65 ^b	0.84±0.33 ^d	0.93±0.39 ^{cd}	5.97±1.69 ^c
Lutein	0.31±0.03 ^b	1.25±0.57 ^b	1.10±0.11 ^c	43.36±1.11 ^a	6.92±1.77 ^c
Zeaxanthin	0.64±0.10 ^b	1.56±0.46 ^b	1.73±0.36 ^b	0.87±0.23 ^d	68.47±1.65 ^a
Time (Month)					
1	3.47±1.89 ^b	5.05±1.48 ^b	1.32±0.55 ^b	5.86±1.78 ^c	14.25±1.67 ^b
2	7.68±1.77 ^a	6.03±1.73 ^a	1.48±0.97 ^a	8.35±1.11 ^b	19.05±2.26 ^a
3	8.64±1.42 ^a	6.53±1.08 ^a	1.55±1.44 ^a	10.86±2.46 ^a	19.71±3.51 ^a
P value Two-way ANOVA					
Carotenoid	0.000	0.000	0.008	0.000	0.000
Time	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Carotenoid × Time	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ abcd: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวคอลัมน์แต่ละ Factor แสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-6 แอสตาแซนทิน (A) แคนทาแซนทิน (B) เบต้าแคโรทีน (C) ลูทีน (D) และ ซีแซนทิน (E) สะสมบริเวณผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (2) แคนทาแซนทิน (3) แอสตาแซนทิน (4) ลูทีน (5) และซีแซนทิน (6)

หมายเหตุ abc: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละเดือนแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-7 แอสตาแซนทิน (A) แคนทาแซนทิน (B) เบต้าแคโรทีน (C) ลูทีน (D) และ ซีแซนทิน (E) สะสมบริเวณผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม (1) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (2) แคนทาแซนทิน (3) แอสตาแซนทิน (4) ลูทีน (5) และซีแซนทิน (6)

หมายเหตุ abcd: ตัวอักษรที่แตกต่างกันของแต่ละชุดการทดลองแสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)

คุณภาพน้ำ

การทดลองที่ 1 คุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงปลามีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-28 องศาเซลเซียส ออกซิเจนละลายน้ำ 6.27-6.50 mg/l ความเค็ม 26-30 พีพีที ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.8-8.0 ความเป็นด่าง 89-110 mgCaCO₃/l แอมโมเนียรวม 0.11-0.15 mg/l และไนไตรท์ 0.055-0.088 mg/l

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเสริมอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลา

ผลของอิทธิพลร่วม

จากการเลี้ยงปลาด้วยอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ และเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ความเข้มข้นที่ 25, 50, 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม โดยแบ่งระยะเวลาการเลี้ยง คือ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ และ ตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณหัว ลำตัว เหนือครีบอก และลำตัวใต้ครีบหลัง พบว่าความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เสริมในอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยง และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลามีอิทธิพลร่วม (interaction) ต่อค่าความสว่าง (L*) ค่าเฉดสีแดง (a*) และค่าเฉดสีเหลือง (b*) ($p < 0.05$)

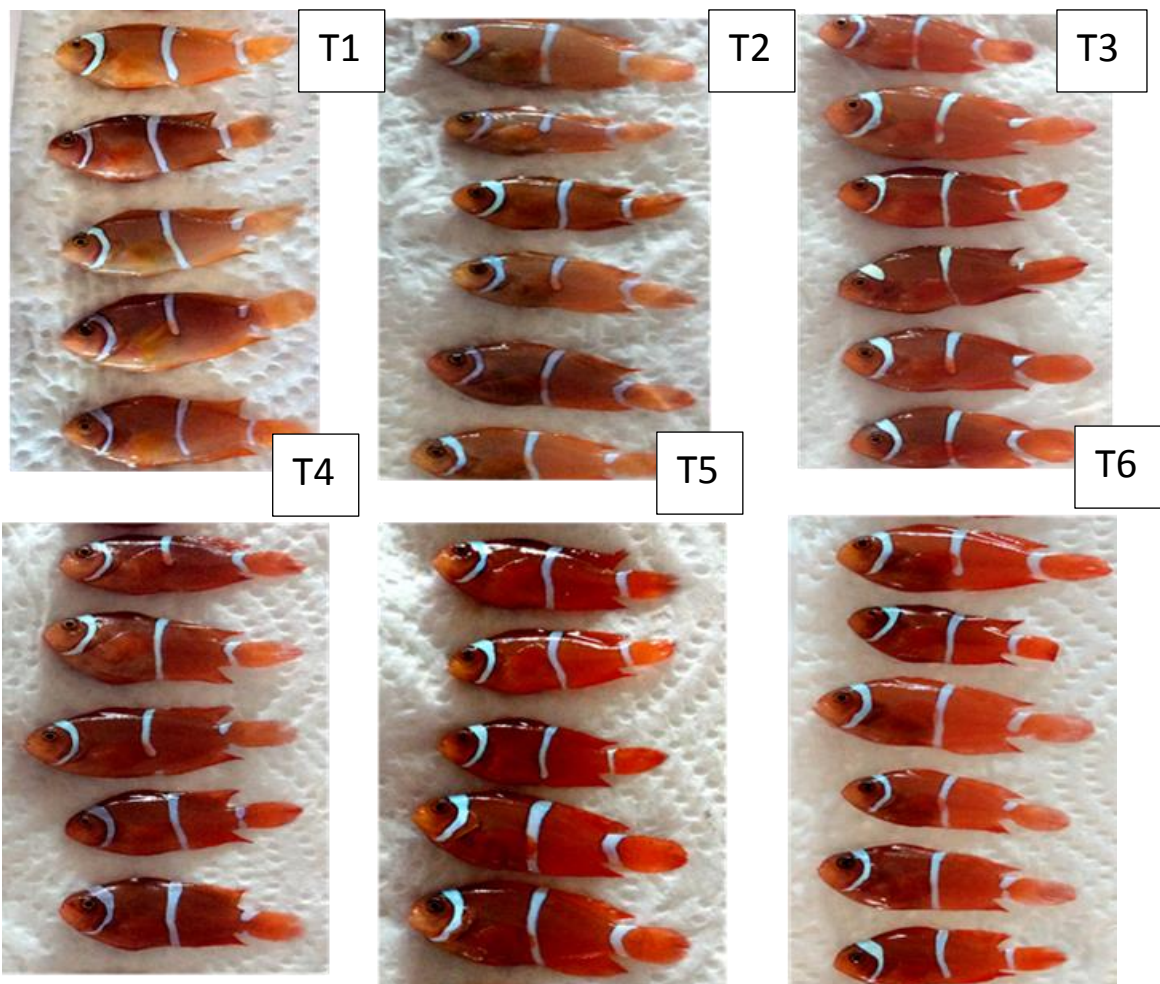
ผลของความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เสริมในอาหาร พบค่าความสว่าง ค่าเฉดสีแดง และค่าเฉดสีเหลือง อยู่ในช่วง 41.40–48.61, 9.88–16.12 และ 12.88–16.99 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4 และ ภาพที่ 4.8) ผลการทดลองพบว่าผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทีนมีค่าความสว่างสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทีนความเข้มข้นต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทีนความเข้มข้น 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม มีค่าความสว่างไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ต่ำกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทีนความเข้มข้น 25 และ 50 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทีนความเข้มข้น 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม มีค่าเฉดสีแดง ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทีน และเสริมแอสตาแซนทีนความเข้มข้น 25 และ 50 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($p < 0.05$) ส่วนผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทินความเข้มข้น 100, 150 และ 200 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเหลืองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าน้อยกว่าผิวหนังของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแอสตาแซนทิน และเสริมแอสตาแซนทินความเข้มข้น 25 และ 50 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน

ผลของระยะเวลาการเลี้ยงของการเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบค่าความสว่าง ค่าเฉลี่ยแดง และค่าสีเหลือง อยู่ในช่วง 42.67–45.24, 12.54–15.94 และ 13.77–17.19 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-8) และพบว่าปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทิน ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังมีค่าความสว่างมากกว่าระยะเวลาอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รองลงมาคือ ระยะเวลา 4 สัปดาห์ และพบว่าค่าความสว่างมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น แต่ปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทินระยะเวลา 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลา มีค่าความสว่างไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่ผลของเฉลี่ยแดง พบว่าระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทิน มีค่าเฉลี่ยแดงน้อยกว่าระยะเวลาอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่ต่างกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ และพบว่าระยะเวลา 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทิน มีค่าเฉลี่ยแดงไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มากกว่าระยะเวลาอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน และพบว่าค่าเฉลี่ยแดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นปลาการ์ตูนแดงเลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ส่วนค่าเฉลี่ยเหลือง พบว่าระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทิน มีค่าเฉลี่ยเหลืองมากกว่าระยะเวลาอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รองลงมาคือ ระยะเวลา 4 สัปดาห์ และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ และพบว่าระยะเวลา 8, 10 และ 12 สัปดาห์ ทำให้ผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมและเสริมแอสตาแซนทิน มีค่าเฉลี่ยเหลืองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่มีค่าน้อยกว่าระยะเวลาอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่าค่าเฉลี่ยเหลืองมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-10)

ตำแหน่งที่แสดงออกของสีที่มีผลจากระยะเวลาการเลี้ยงของการไม่เสริม และเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อค่าความสว่าง ค่าเฉลี่ยแดง และค่าสีเหลือง

อยู่ในช่วง 42.86–45.07, 13.88–14.63 และ 14.92–15.87 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-9, 4-10 และ 4-11) ผลการทดลองพบว่าลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบอกหลังมีค่าความสว่างไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าน้อยกว่าบริเวณส่วนหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบอกหลังมีค่าเฉดสีแดงไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่ามากกว่าบริเวณส่วนหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบอกหลังพบว่ามีค่าเฉดสีเหลืองไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีค่าน้อยกว่าบริเวณส่วนหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกัน

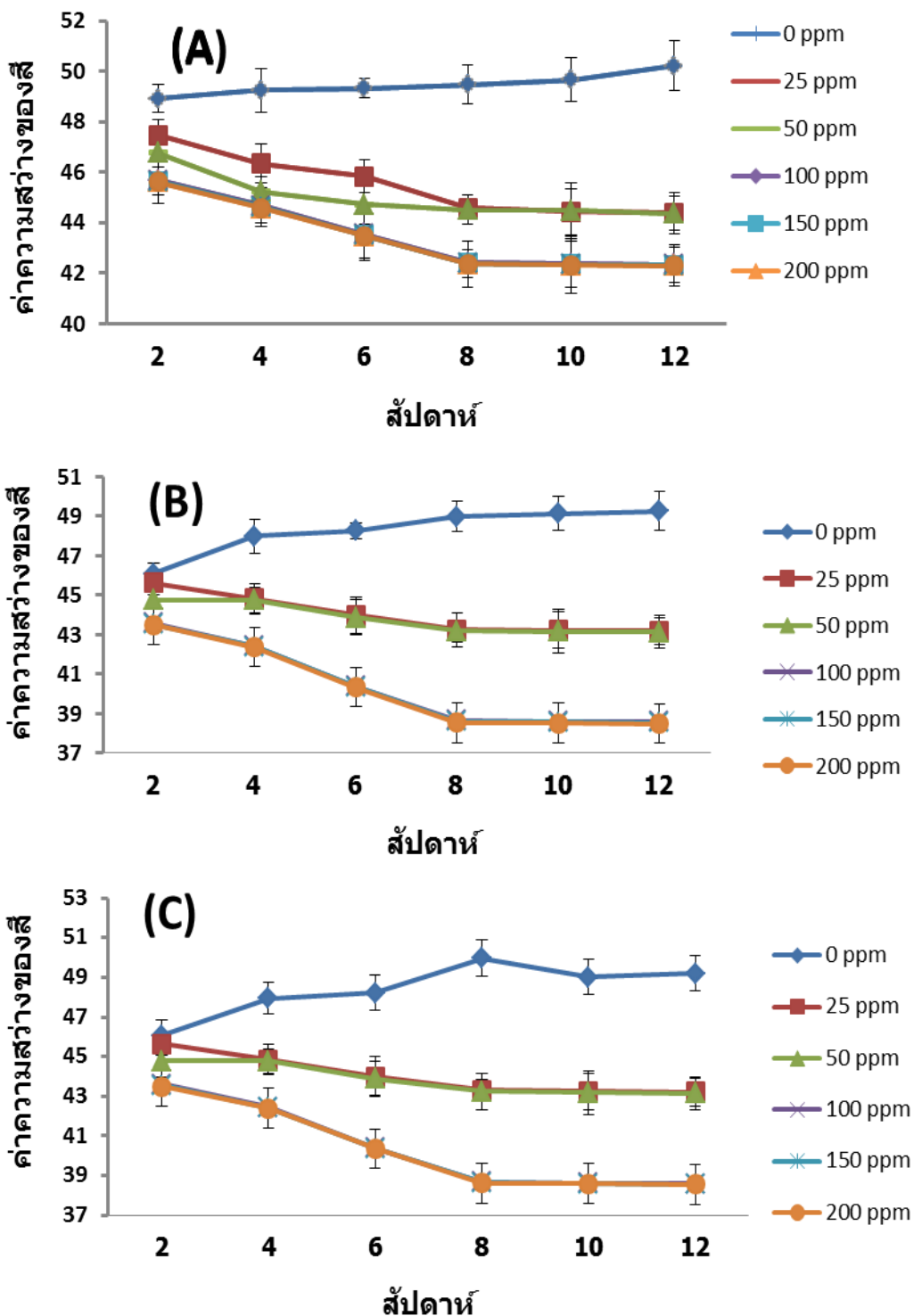


ภาพที่ 4-8 การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารไม่เสริมแอสตาแซนทิน (ชุดควบคุม = T1) และอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25 (T2), 50 (T3), 100 (T4), 150 (T5) และ 200 พีพีเอ็ม (T6) ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

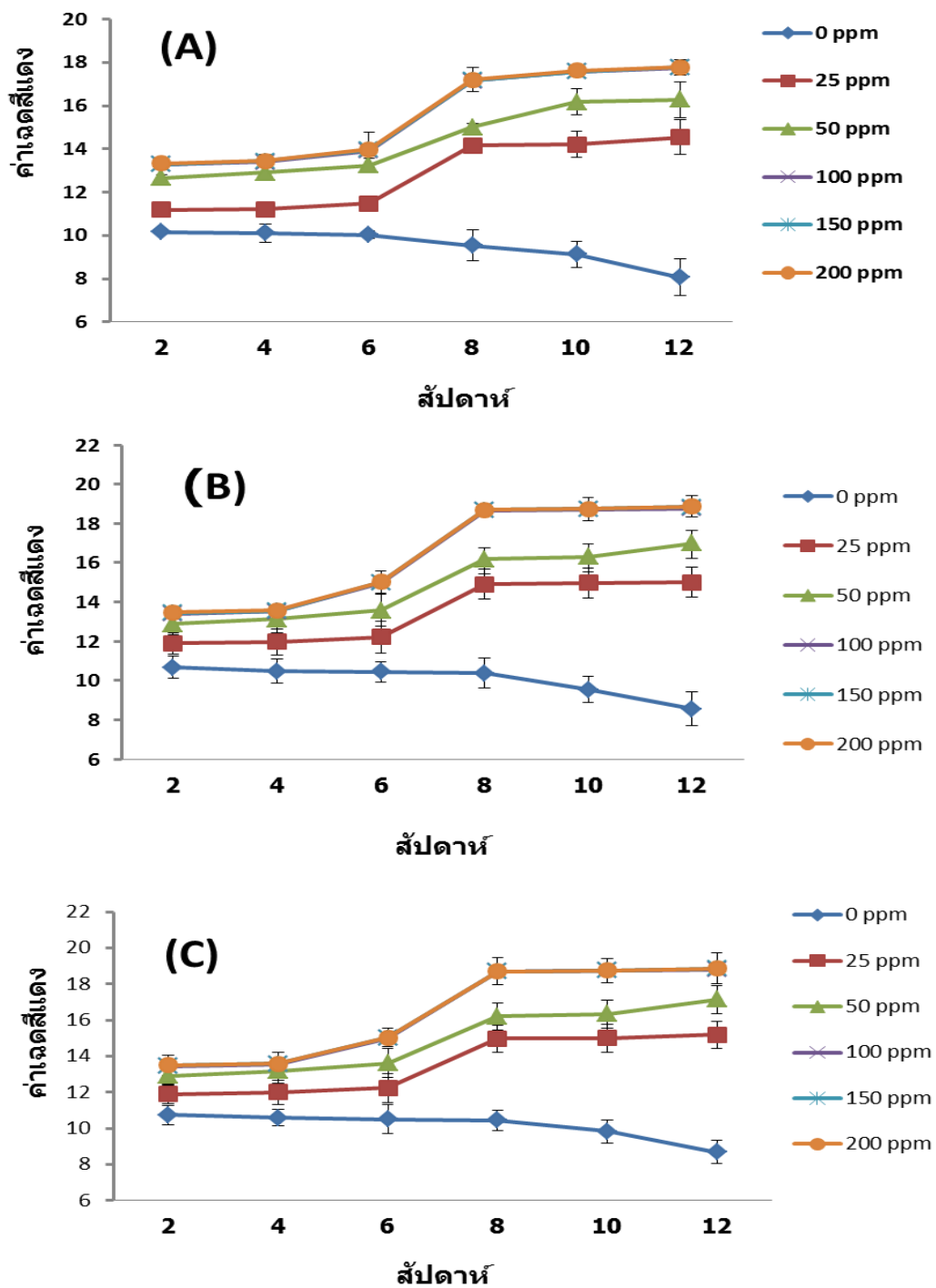
ตารางที่ 4-4 ความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ ระยะเวลา และตำแหน่งที่แสดงออกของสี บริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนแดง

Factor	Level	L* (Lightness)	a* (Redness)	b* (Yellowness)
Time (week)	2	45.24±1.54 ^a	12.54±1.34 ^c	17.19±1.56 ^a
	4	44.72±1.84 ^b	12.63±1.26 ^c	16.91±1.54 ^b
	6	43.59±2.90 ^c	13.29±1.73 ^b	15.76±1.42 ^c
	8	42.74±3.77 ^d	15.86±3.02 ^a	14.02±1.51 ^d
	10	42.67±3.73 ^d	15.93±3.26 ^a	13.89±1.51 ^d
	12	42.68±3.80 ^d	15.94±3.67 ^a	13.77±1.40 ^d
Position	Head	45.07±2.47 ^a	13.88±2.81 ^b	15.87±1.92 ^a
	Body	42.86±3.27 ^b	14.58±3.07 ^a	14.92±2.07 ^b
	Tail	42.89±3.36 ^b	14.63±3.05 ^a	14.97±2.07 ^b
Concentration (ppm)	0	48.61±1.41 ^a	9.88±1.03 ^d	12.88±1.15 ^d
	25	44.50±1.30 ^b	13.28±1.58 ^c	16.99±1.67 ^a
	50	44.22±1.00 ^c	14.71±1.73 ^b	16.35±1.47 ^b
	100	41.48±2.43 ^d	16.08±2.37 ^a	15.13±1.80 ^c
	150	41.44±2.41 ^d	16.11±2.38 ^a	15.10±1.78 ^c
	200	41.40±2.41 ^d	16.12±2.37 ^a	15.08±1.76 ^c
P value Two-way ANOVA				
Time		0.000	0.000	0.000
Position		0.000	0.000	0.000
Conc		0.000	0.000	0.000
Time × position		0.020	0.006	0.000
Time × concentration		0.000	0.000	0.002
Position × concentration		0.000	0.869	0.007
Time × position × concentration		0.000	1.000	1.000

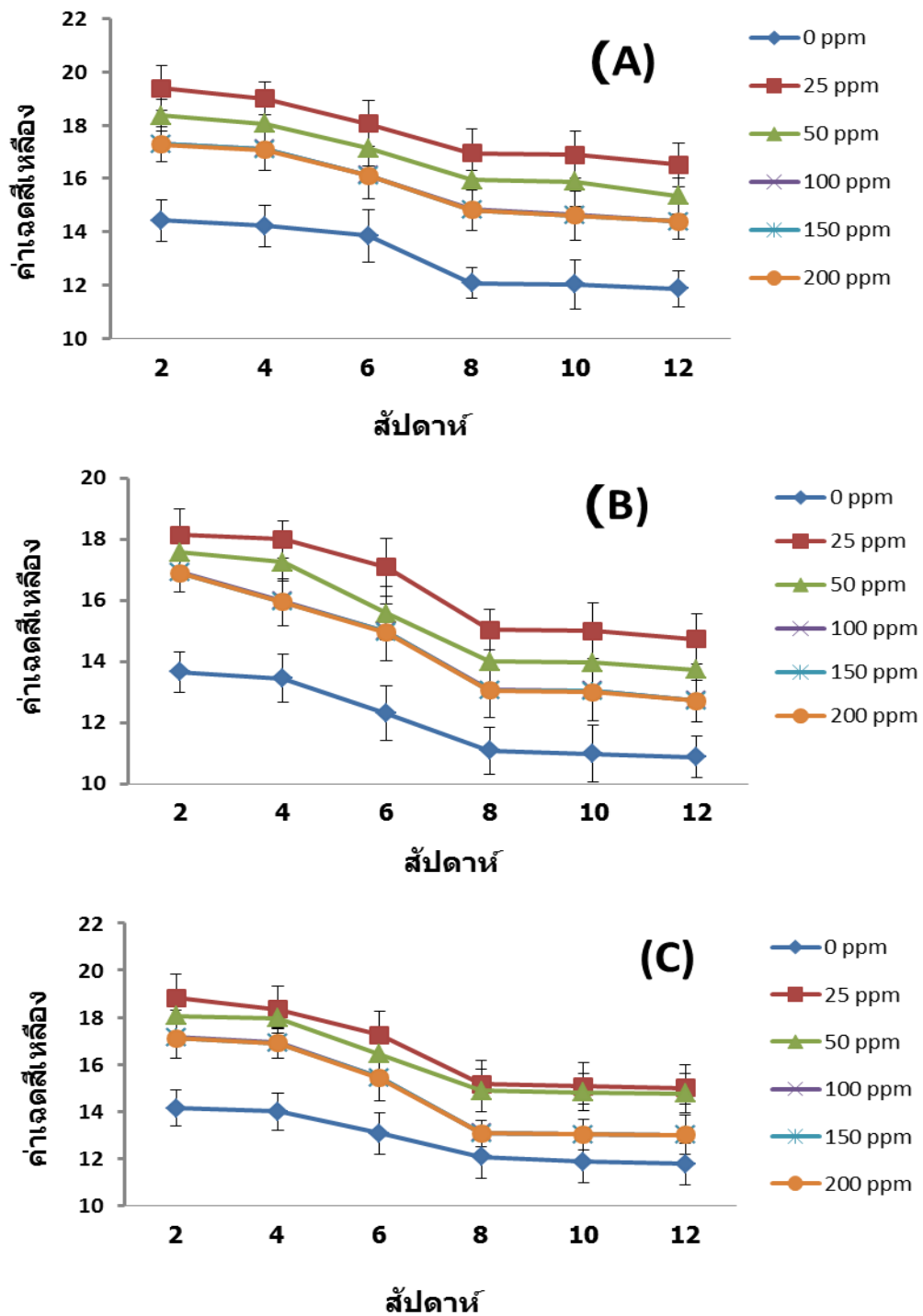
หมายเหตุ abcd: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวคอลัมน์แต่ละ Factor แสดงว่ามีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 4-9 ค่าความสว่างของสีบริเวณผิวหนังปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อตำแหน่งแสดงออกของสี (A) บริเวณหัว (B) บริเวณลำต้นเหนือครีบกอก (C) ลำต้นใต้ครีบกอก



ภาพที่ 4-10 ค่าเจดสีแดงบริเวณผิวหน้งปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อตำแหน่งแสดงออกของสี (A) บริเวณหัว (B) บริเวณลำต้นเหนือครีบบอก (C) ลำต้นใต้ครีบบอก



ภาพที่ 4-11 ค่าเฉลี่ยเหลือของบริเวณผิวหน้งปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหารไม่เสริม และเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้นต่าง ๆ และระยะเวลาต่าง ๆ ต่อตำแหน่งแสดงออกของสี (A) บริเวณหัว (B) บริเวณลำต้นเหนือครีบบอก (C) ลำต้นใต้ครีบบอก

คุณภาพน้ำ

การทดลองที่ 2 คุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงปลามีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำอยู่ในช่วง 5.7-6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็มอยู่ในช่วง 30-32 พีพีที ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 7.78-8.06 ความเป็นด่างอยู่ในช่วง 95-124 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.0015 – 0.1656 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.0010 – 0.1225 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและระยะเวลาการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง

การศึกษานี้พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และอัตราแลกเปลี่ยนของปลาการ์ตูนแดง ทั้งนี้อาจเนื่องจากแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีผลต่อการสะสมโปรตีนและไขมัน แต่มีผลต่อทางอ้อมต่อสุขภาพ คือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์มีอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราแลกเปลี่ยนไม่แตกต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ แสดงให้เห็นว่าอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์มีสารต้านอนุมูลอิสระเพียงพอต่อความต้องการ เนื่องจากอาหารในการทดลองนี้มีวิตามินอีประมาณ 800 พีพีเอ็ม ซึ่งสูงกว่าความต้องการของปลาทั่วไป อย่างไรก็ตามปลาที่มีอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอดลดลงเมื่อระยะเวลาการเสริมนานขึ้น รวมทั้งมีอัตราแลกเปลี่ยนสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากปลาการ์ตูนมีพฤติกรรมก้าวร้าวและหวงอาณาเขต และปลาขนาดใหญ่มักไล่กัดหรือกัดกันไม่ให้ปลาขนาดเล็กได้กินอาหาร จนทำให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตรารอดมีค่าลดลง แต่อัตราแลกเปลี่ยนมีค่าสูงขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Lakeh, Ahmadi, Safi, Ytrestoyl, and Bjerking (2010) ที่พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารแม่พันธุ์ปลาเรนโบว์เทราไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ย อัตรารอด และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม และ Boonyaratpalin et al. (2001) ศึกษาผลของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโตในกุ้งกุลาดำ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ย อัตรารอด และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของกุ้งไม่มีความแตกต่างกัน

ขณะที่ผลของชนิดแคโรทีนอยด์สังเคราะห์และระยะเวลาการเสริมต่อการเพิ่มสี พบว่าปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์มีค่าเฉลี่ยแดงบริเวณลำตัวมากกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดการทดลองอื่น ๆ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีนมีค่าเฉลี่ยเหลือง บริเวณลำตัวสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดการทดลองอื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทิน คล้องกับการศึกษาของ Inayah and Jian (2010) การเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว พบว่าเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ส่งผลให้สีแดงบริเวณผิวหนังปลามีค่าเพิ่มขึ้น และในสัปดาห์ที่ 1 และพบแอสตาแซนทินสะสมบริเวณผิวหนังในสัปดาห์ที่ 5 พบซีแซนทินสะสมบริเวณผิวหนัง ส่วนการเสริมเบต้าแคโรทีน หรือแคนทาแซนทิน พบว่าทำให้ค่าความสว่างลดลงแต่ไม่มีผลต่อเฉลี่ยเหลือง และ Yuangsoi et al. (2010) ศึกษา

ชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมในปลาคาร์พ พบว่าปลาคาร์พมีการดูดซึมแอสตาแซนทินได้รวดเร็วกว่าลูทีน และเบต้าแคโรทีน และปลาคาร์พสามารถเปลี่ยนลูทีน และเบต้าแคโรทีนไปเป็นแอสตาแซนทินได้ แต่แตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้

การศึกษาการสะสมชนิดแคโรทีนอยด์บริเวณผิวหนังปลา พบว่าปลาการ์ตูนแดงที่เสริมแหล่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดไหนในอาหารก็จะพบแคโรทีนอยด์ชนิดนั้นสะสมบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้น ดังนั้นค่าเจดสีอาจเป็นตัวบ่งชี้การสะสมแคโรทีนอยด์ในปลาได้เพราะเมื่อเจดสีมีค่าสูงขึ้นจะสอดคล้องกับการสะสมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้น (Bjerkeng & Berge, 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ Torrissen (1985) และ Storebakken et al. (1987) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับของแอสตาแซนทิน หรือแคนทาแซนทินในอาหารปลาแซลมอนจะมีผลทำให้เกิดการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อเพิ่มขึ้น และการศึกษาของพัวน เฟงเซ็ง และทิพยวรณ บริพัฒนานนท์ (2546) ที่พบว่าปลาทองมีการสะสมสารสีและความเข้มสีที่ผิวหนังปลาสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินที่เสริมในอาหาร ขณะที่การเสริมแอสตาแซนทินและแคนทาแซนทินในอาหารปลาแซลมอนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณผิวหนัง เนื้อและครีบ ซึ่งแอสตาแซนทินให้ผลค่าเจดสีแดงของอวัยวะเหล่านี้ดีกว่าการเสริมแคนทาแซนทิน (Torrissen, Hardy, & Shearer, 1989) ส่วนการศึกษาในปลาเกิลท์เฮดซีบรีม พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ทำให้เกิดการสะสมของลูทีนบริเวณผิวหนังปลาแสดงว่าปลาชนิดนี้สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นลูทีนได้ (Gomes et al., 2002) และสอดคล้องกับการทดลองของ Kalinowski et al. (2005) ที่ทดลองเสริมแอสตาแซนทินในปลา red porgy ทำให้ปลามีสีแดงมากขึ้น และทดลองในปลาเรดซีบรีม (Nakazoe, Ishii, Kamimoto, & Takeuchi, 1984) ซึ่งพบว่าแอสตาแซนทินในรูปเอสเทอร์มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับสะสมและเร่งสีของผิวหนังได้ดี Bjerkeng and Berge (2000) พบว่าแอสตาแซนทินในรูปเอสเทอร์มีการสะสมบริเวณผิวหนังของปลาและมีการสะสมอยู่ได้ในระยะเวลาานซึ่งมีลักษณะสีแดง ส่วนอาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีนมีการสะสมในระยะเวลาสั้น ๆ และให้ผลสีเหลือง เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ แต่แตกต่างจากการศึกษาของ Tejera et al. (2007) ในปลา red porgy พบว่าแซนโทฟิลล์ที่ให้สีเหลืองเกิดจากอาหารที่เสริมแอสตาแซนทิน และพบในปลาสกุล Pagrus เช่นกัน (Allahpichay, Shimizuand, & Kono, 1984)

ปลาคาร์พเป็นปลาอีกชนิดที่สามารถเปลี่ยนแคโรทีนอยด์หลายชนิดไปเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดที่ต้องการได้ เช่น การเปลี่ยนลูทีนและซีแซนทินเป็นแอสตาแซนทิน (Katayama et al., 1973) แต่ในการศึกษานี้พบว่าปลาสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดนั้น ๆ ในผิวหนังโดยตรง ยกเว้นการเสริมด้วย

เบต้าแคโรทีนที่มีการสะสมในอัตราที่น้อยเมื่อเทียบกับแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าเบต้าแคโรทีนส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ (Olson, 1989) ขณะเดียวกัน การศึกษานี้ยังพบว่าการสะสมของซีแซนทีนในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด ยกเว้นการเสริมด้วยซีแซนทีนโดยตรงที่ทำให้มีการสะสมซีแซนทีนในผิวหนังสูงสุด แสดงให้เห็นว่าซีแซนทีนอาจเป็นแคโรทีนอยด์หลักที่สะสมในปลาชนิดนี้

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดในผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมและเสริมแคโรทีนอยด์ พบว่าผิวหนังปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์มีการสะสมแคโรทีนอยด์ต่ำสุดยกเว้นซีแซนทีน เป็นไปได้ว่าการลดลงของแคโรทีนอยด์อาจเกิดจากการเสื่อมหรือการตายของเซลล์สีบริเวณผิวหนังและแคโรทีนอยด์ที่สะสมอยู่ในเซลล์เหล่านั้นถูกเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอื่น ๆ และเมื่อไม่มีแคโรทีนอยด์เข้าสู่ร่างกาย ทำให้ร่างกายมีการขนส่งแคโรทีนอยด์จากอวัยวะอื่น ๆ มาสะสมในเซลล์สี แต่มีปริมาณน้อยกว่าปลาที่ได้รับแคโรทีนอยด์อย่างต่อเนื่อง และเมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาการเสริมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สะสมในผิวหนังพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวก โดยการสะสมเพิ่มขึ้นมากหลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 3 เดือน แสดงให้เห็นว่าการได้รับอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ติดต่อกันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 2 เดือน ทำให้ร่างกายปลามีการสะสมแคโรทีนอยด์ในระดับที่สมดุลระหว่างการเพิ่มสีและการใช้แคโรทีนอยด์เพื่อกิจกรรมอื่น ๆ

ศึกษาความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เหมาะสมในการเสริมอาหาร ระยะเวลาการเสริม และตำแหน่งที่แสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลา

ผลความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ที่เสริมในอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยง และตำแหน่งที่แสดงออกของสี พบว่าการเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉลี่ยแดงมากกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า และมีค่าไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่สูงกว่า เช่นเดียวกันกับระยะเวลาการเสริม 8 สัปดาห์ทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉลี่ยแดงมากกว่าระยะเวลาการเสริมที่ต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นและระยะเวลาการเสริมดังกล่าวเหมาะสมสำหรับการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง สอดคล้องกับการเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองนี้คือ 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าสูงกว่าเพราะการเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ในอาหารปลาการ์ตูนส้มขาวที่เหมาะสมคือ 50 พีพีเอ็ม ทั้งนี้เกิดจากลักษณะผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงมีสีแดงสด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องสะสมแอสตาแซนทีนในปริมาณที่สูงกว่า ขณะที่สีของ

ผิวหนังปลาการ์ตูนส้มขาวเป็นสีส้มซึ่งไม่ใช่สีของแอสตาแซนทิน แสดงให้เห็นว่าปลาการ์ตูนส้มขาวสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นแคโรทีนอยด์ที่ให้สีส้มได้ และการเสริมในความเข้มข้นที่สูงกว่า 50 พีพีเอ็ม ทำให้ค่าเฉดสีแดงเพิ่มขึ้น ซึ่งไม่ใช่ลักษณะที่ต้องการของปลาการ์ตูนส้มขาว (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) เนื่องจากแคโรทีนอยด์ที่มีผลต่อการเพิ่มสีของปลานั้นไม่ได้มีอิทธิพลมาจากชนิดของแคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารเท่านั้น แต่ยังมีปัจจัยอื่น เช่น แหล่งและความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ ตลอดจนระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ (Doolan et al., 2008)

ส่วนผลของตำแหน่งการแสดงออกของสีต่อค่าเฉดสีแดงบนลำตัวปลาพบว่าค่าสีแดงบนลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบหลัง มีค่ามากกว่าตำแหน่งหัว เป็นไปได้ว่าบริเวณลำตัวมีปริมาณเซลล์สีสูงกว่าบริเวณหัวทำให้มีการสะสมของแอสตาแซนทินสูงกว่า และจากการศึกษาของ Goodwin (1951) พบว่าสีแดงบริเวณผิวหนังของปลามีการเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่เสริมในอาหาร เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้ ไม่พบการเพิ่มขึ้นของค่าเฉดสีเหลืองในปลาการ์ตูนแดง และความสว่างของสีมีค่าลดลงเมื่อปลาได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในเนื้อและค่าความสว่างของสีในปลาแซลมอน (Bjerkeng & Berge, 2000) พบว่าความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์มีปริมาณเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ค่าความสว่างของสีลดลง (Van der Salm, Martinez, Flik, & Vandelaar, 2004)

การศึกษานี้พบว่าความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในอาหาร และระยะเวลาการเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น ทำให้การสะสมของแอสตาแซนทินบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาและความเข้มข้นระดับหนึ่งจะไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสีบริเวณผิวหนังปลา การใช้แอสตาแซนทินเสริมในอาหารมีช่วงระยะเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสม ส่วนการสะสมเบต้าแคโรทีนบริเวณผิวหนังปลา มีค่าลดลงเมื่อมีการเสริมแอสตาแซนทินในอาหาร เพราะปลาการ์ตูนแดงไม่สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นเบต้าแคโรทีนได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Doolan et al. (2008) ที่พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ในอาหารปลา Australian snapper (*Pagrus auratus*) มีผลต่อเฉดสีแดงและสีเหลือง หลังจาก 21 วันพบเฉดสีแดงมีค่าเพิ่มขึ้นมากในช่วงความเข้มข้น 39-78 พีพีเอ็ม ส่วนเฉดสีเหลืองมีค่าเพิ่มขึ้นในทางเดียวกันแต่ต่ำกว่าค่าเฉดสีแดง หลังจาก 42 วันพบว่าเฉดสีแดงและสีเหลือง มีค่าเพิ่มขึ้นมากในช่วงความเข้มข้น 39-78 พีพีเอ็ม หลังจาก 63 วันไม่พบการเพิ่มขึ้นของสีดังกล่าว แต่แตกต่างจากการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารมีผลต่อเฉดสีแดง แต่ไม่มีผลต่อเฉดสีเหลือง หลังจาก 8 สัปดาห์พบว่าเฉดสีแดงมีค่าเพิ่มขึ้นมากที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม แต่เฉดสีเหลืองมีค่าลดลง หลังจาก 12 สัปดาห์พบว่าค่าการเพิ่มขึ้น

ของเฉดสีแดงมีค่าไม่แตกต่างจากสัปดาห์ที่ 10 ส่วนเฉดสีเหลืองมีค่าลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ Yuangsoi et al. (2011) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคโรทีนอยด์ต่อการเพิ่มสีในปลาคาร์พ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในซีรัมของปลาที่กินอาหารเสริมลูทีนผสมเบต้าแคโรทีน อัตราส่วน 25:25, 50:50 และ ลูทีน 50 พีพีเอ็ม มีค่าเฉดสีแดงใกล้เคียงกับปลาที่กินอาหารเสริมแอสตาแซนทินความเข้มข้น 25 พีพีเอ็ม เนื่องจากปลาคาร์พสามารถเปลี่ยนลูทีนและเบต้าแคโรทีนไปเป็นแอสตาแซนทินได้ทำให้มีเฉดสีแดง ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในครั้งนี้เพราะปลาการ์ตูนแดงไม่สามารถเปลี่ยนลูทีนและเบต้าแคโรทีนไปเป็นแอสตาแซนทินได้

สรุปผลการวิจัย

การเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ในอาหารปลาการ์ตูนแดง พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราแลกเนื้อ แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีบริเวณผิวหนังปลา การเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ช่วยเพิ่มสีของปลาการ์ตูนแดงได้ดีที่สุด เพราะเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลอง และมีการสะสมของแอสตาแซนทินบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มมากที่สุดด้วยเช่นกัน และเมื่อพิจารณาถึงผลของระยะเวลาในการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร พบว่าอัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ และอัตรารอดของปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์มีค่าลดลง แต่อัตราแลกเนื้อมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเสริมที่นานขึ้น ส่วนค่าความสว่างพบว่ามีค่าลดลงแต่ในเดือนที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกัน ขณะที่ค่าเฉดสีแดง เฉดสีเหลือง ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สะสมบริเวณผิวหนังปลามีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเสริมที่นานขึ้น แต่ในเดือนที่ 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกัน การทดลองนี้สรุปได้ว่าปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ เป็นเวลา 2 เดือน ทำให้มีการเพิ่มของสีแดงบริเวณผิวหนังปลามากที่สุด ผลของความเข้มข้นของแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่เสริมในอาหาร ระยะเวลาการเลี้ยง และตำแหน่งที่แสดงออกของสี พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉดสีแดงมากกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ และมีค่าไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่ 150 และ 200 พีพีเอ็ม เช่นเดียวกับระยะเวลาการเสริม 8 สัปดาห์ทำให้ผิวหนังปลามีค่าเฉดสีแดงมากกว่าระยะเวลาการเสริมที่ต่ำกว่า และมีค่าไม่แตกต่างจากระยะเวลาการเสริมที่ 10 และ 12 สัปดาห์ สรุปได้ว่าการเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ในอาหารปลาการ์ตูนแดงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่การเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ช่วยเพิ่มสีของปลาการ์ตูนแดงได้ดีที่สุด ความ

เข้มข้นการเสริมในอาหารที่เหมาะสมคือ 100 พีพีเอ็ม ใช้ระยะเวลาการเสริมอย่างน้อย 8 สัปดาห์ และการเพิ่มของสีแสดงออกได้ดีที่สุดบริเวณลำตัวเหนือครีบอกและลำตัวใต้ครีบล้าง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรหาแหล่งสารสีจากธรรมชาติมาทดแทนสารสีสังเคราะห์ เพื่อประหยัดต้นทุนการผลิตอาหารปลาเพื่อเพิ่มสีต่อไปในอนาคต
2. ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของการเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากแอสตาแซนทินสังเคราะห์เพื่อประหยัดเวลาในการเลี้ยงและประหยัดต้นทุนได้อีกทางหนึ่ง

บรรณานุกรม

- จารุพันธ์ ประทุมยศ และปิยะวรรณ ศรีวิลาศ. (2548). การพัฒนาการเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*) ด้วยอาหารสำเร็จรูป ความต้องการปริมาณโปรตีน. ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลบางแสน มหาวิทยาลัยบูรพา.
- นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มณฑกานติ ท้ามติน, สุพิศ ทองรอด และสิริพร ลือชัยชัยกุล. (2555). ระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2555. กรุงเทพฯ: กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พ้วน เฟ่งเซ็ง และทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์. (2546). ระดับความต้องการของโปรตีนและปริมาณสารแอสตาแซนทิน (astaxanthin) ในอาหารปลาสวยงาม: ปลาทอง และปลาสด. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี, 10, 230 – 243.
- ไพบุลย์ บุญลิปตานนท์, สามารถ เดชสถิตย์, อาคม สิงหนบุญ, อำไพ ล่องลอย, พิกุล ไชยรัตน์ และสมศักดิ์ จิระวัฑฒ. (2547). นวัตกรรมปลาการ์ตูน การเพาะพันธุ์และถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่เกษตรกร. ระเบียบ: ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง.
- ภวพล ศุภนันถนานนท์. (2557). *Premnas biaculeatus* "การ์ตูนแก้มหนาม". *Aquarium Biz*, 1 (3), 84-88.
- ศิริชัย พงษ์วิชัย. (2551). การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร กรมประมง. (2548). ปลาทะเลสวยงาม. เข้าถึงได้จาก www.fisheries.go.th/aquaorna/
- สุภฎา ศิริรัฐนิคม, รัตติยา สะธุ และอัชญรัตน์ สุวรรณภักดี. (2542). ระดับของสไปรูลิनाในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการเร่งสีปลาทอง (*Carassius auratus*). *Songklanakarín J. Sci. Technology*, 27 (1), 45-55.
- Allahpichay, I. A., Shimizuand, C., & Kono, M. (1984). Pigmentation of cultured red sea bream, *Chrysophrys major*, using astaxanthin from artic krill, *Euphasia superba*, and mysid, *Neomysis sp.* *Aquaculture*, 38, 45–57.

- APHA, AWWA & WPCF. (1985). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (16th ed.). Washington, DC: American Public Health Association.
- Armstrong, G. A., & Hearst, J. E. (1996). Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 10 (2), 228–370.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2005). Animal feed. In W. Horwitz, (Ed.), *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th ed.). AOAC International, Maryland: The Scientific Association.
- Billy, R. H. J., & Renzi, L. M. (2013). Nutrient Information: Carotenoids. *Advances in Nutrition*, 44, 474-476.
- Bjerkeng, B., & Berge, G.M. (2000). Apparent digestibility coefficients and accumulation of astaxanthin E/Z isomers in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 127, 423–432.
- Boonyaratpalin, M., Thongrod, S., Supamattaya, K., Britton, G., & Schlipalius, L.E. (2001). Effects of β -carotenesource, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*, 31, 182-190.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (1995a). *Carotenoids Vol. 1A. Isolation and analysis*. Switzerland: Birkhauser Verlag.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (1995b). *Carotenoids Vol. 1B. Spectroscopy*. Switzerland: Birkhauser Verlag.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (1998). *Carotenoids Vol. 3: Biosynthesis and metabolism*. Switzerland: Birkhauser Verlag.
- Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Doñate Jimeno, C., Vardanis, G., Sterioti, A., & Divanach, P. (2005). The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Research*, 36, 1517–1525.

- Choubert, G., & Luquet, P. (1983). Utilization of shrimp shell meal for rainbow trout (*Salmo gairdnerich.*) pigmentation. Influence of fat content of the diet. *Aquaculture*, 32, 19–26.
- Davis, D. A., & Lawrence, A. L. (1997). Minerals. In L.R Abramo, D. E. Conklin, & D.M. Akiyama (Eds.), *Crustacean Nutrition. Volume 6, World Aquaculture Society*. USA: Baton Rouge, Louisiana.
- Doolan, B. J., Booth, M. A., Jones, P. L., & Allan, G. L. (2008). Effects of dietary astaxanthin concentration and feeding period on the skin pigmentation of Australian snapper (*Pagrus auratus*) (Bloch & Schneider, 1801). *Aquaculture Research*, 40, 60 – 68.
- Froese, R., & Pauly, D. (2011). *Species of Amphiprion in FishBase*. Philippines: Information and Research Group.
- Gomes, E., Dias, J., Silva, P., Valente, L., Empis, J., Gouveia L., Bowen, J., & Young, A. (2002). Utilization of natural and synthetic source of carotenoids in the skin pigmentation of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *European Food Research and Technology*, 214, 287-293.
- Goodwin, T. W. (1951). *Carotenoids in fish*. New York: Chem. Publ.
- Hebuterne, X., Wang, X.D., Smith, D., Tang, G., & Russel, R.M. (1996). In vivo biosynthesis of retinoic acid from beta-carotene involves an eccentric cleavage pathway in the ferret intestine. *Journal of Lipid.Research*, 37, 482-492.
- Hoar, W.S., & Randall, D. J. (1989). *Fish Physiology III*. New York: Academic Press.
- Idahah, Y., & Jian, G. Q. (2010). Effect of Dietary Carotenoids on Skin Color and Pigments of False Clownfish, *Amphiprion ocellaris*,Cuvier. *World Aquaculture Society*, 41, 308–318.
- Kalinowski, C. T., Robaina, L. E, Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., & Izquierdo , M. S. (2005). Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on the red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*, 244, 223–231.

- Kanokrung, A., Watanadilok, R., Muthuwan, V., & Santawanpas, S. (2013). Effects of dietary protein, lipid and astaxanthin levels on growth and carotenoid accumulation in anemone fish, (*Amphiprion ocellaris*). *Journal of Science, Technology, and Humanities* , 11 (2), 95-103.
- Katayama, T., Shintani, K., & Chichester, C. O. (1973). The biosynthesis of astaxanthin. *Comparative Biochemistry. Physiology*, 448, 253 – 257.
- Lakeh, A. B., Ahmadi, M. R., Safi, S., Ytrestoyl, T., & Bjerkeng, B. (2010). Growth performance, mortality and carotenoid pigmentation of fry offspring as affected by dietary supplementation of astaxanthin to female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock. *Applied Ichthyology*, 26, 35–39.
- Latscha, T. (1990). *Carotenoid their Nature and Significance in Animal Feed*. Switzerland: Animal Nutrition and Health Basel.
- Latscha, T. (1991). Carotenoids in aquatic animal nutrition. In *Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop* (pp. 68-78). Bangkok: Fish Nutrition and Aquaculture.
- Lorenz, R. T. (2004). *A Review of Astaxanthin as a Carotenoid and Vitamin Source for Sea Bream*. Retrieved from <http://www.cyanotech.com>.
- Mahmut , Y., Zeynep, E., Arzu, O. H., & Hakan, M. B. (2008). The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 284, 196–200.
- Miki, W. (2009). Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 63 (1), 141–146.
- Nakazoe, J., Ishii, S., Kamimoto, M., & Takeuchi, M. (1984). Effects of supplemental carotenoid pigments on the carotenoid accumulation in young sea bream (*Chrysophrys major*). *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab*, 113, 29-41.
- Ohkubo, M., Tsushima, M., Maoka, T., & Matsuno, T. (1999). Carotenoids and their metabolism in the goldfish (*Carassius auratus* (Hibuna)). *Comparative Biochemistry Physiology*, 124, 333–340.

- Olsen, R.E., & Baker, R.T.M (2006). Lutrin does not influence flesh astaxanthin pigmentation in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 258, 558 – 564.
- Olson, J. A. (1989). Provitamin A function of carotenoids: the conversion of β -carotene into vitamin A. *Journal of Nutrition*, 119, 105-108.
- Pananghat, V., Gangadharan, N. G., & Koyadan, K.V. (2008). Empirical feed formulations for the marine ornamental fish, striped damsel, *Dascyllus aruanus* (Linne´ 1758) and their physical, chemical and nutritional evaluation. *Aquaculture Research*, 39, 1658 -1665.
- Pushparai, A., & Ambika, P. (2010). Effects of Varied Types of Live Feed Organisms and Pelleted Feed on Food Utilization in Clown Fish, *Amphiprion sebae* with Special Reference to in Captivity. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(5), 444 – 449.
- Sales, J., & Janssens, G. P. J. (2003). Nutrient requirements of ornamental fish A review. *Aquatic Living Resources* , 16, 533 - 540.
- Storebakken, T., Foss, P., Schiedt, K. E., Austreng, E., Liaaen-Jensen, S., & Mainz, U. (1987). Carotenoids in diets for salmonids: VI pigmentation of atlantic salmon with astaxanthin, astaxanthin dipalmitate and canthaxanthin. *Aquaculture*, 65, 279-292.
- Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1972). A Practical Handbook of Seawater Analysis (2nd ed.). Ottawa: Fisheries Research Board of Canada.
- Tejera, N., Cejas, J. R., Odríguez, C. R., Bjerkgeng, B., Jerez, S., Bolaños, A., & Santamaría, F. J. (2007). Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Aquaculture*, 270, 218-230.
- Torrissen, O. J. (1985). Pigmentation of salmonids : factors affecting carotenoid deposition in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 46, 133-142.
- Torrissen, O. J., Hardy, R. W., & Shearer, K. D. (1989). Pigmentation of salmonids- carotenoid deposition and metabolism. *Reviews Aquatic Science*, 1, 209-225.

- Van der Salm, A. L., Martinez, M., Flik, G., & Vandelar, B. S. E. (2004). Effects of husbandry conditions on the skin colour and stress response of red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*, 241, 371–386.
- Varghese, B. (2004). *Nutritional studies on sebae anemonefish, Amphiprion sebae Bleeker 1853, with special reference to protein and lipid requirements*. Doctor of Philosophy in Fish and Fisheries Science, The Central Institute of Fisheries Education, Deemed University.
- Yeum, K. J., & Russell, R. M. (2002). Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annual Review Nutrition*, 22, 483-504.
- Yuangsoi, B., Jintasataporn, O., Tabthipwon, P., & Kamel, C. (2010). Utilization of Carotenoids in Fancy Carp (*Cyprinus carpio*): Astaxanthin, Lutein and β -carotene. *World Applied Sciences*, 11 (5), 590-598.
- Yuangsoi, B., Jintasataporn, O., Areechon, N., & Tabthipwon, P. (2011). The pigmenting effect of different carotenoids on fancy carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 17, 306–316.

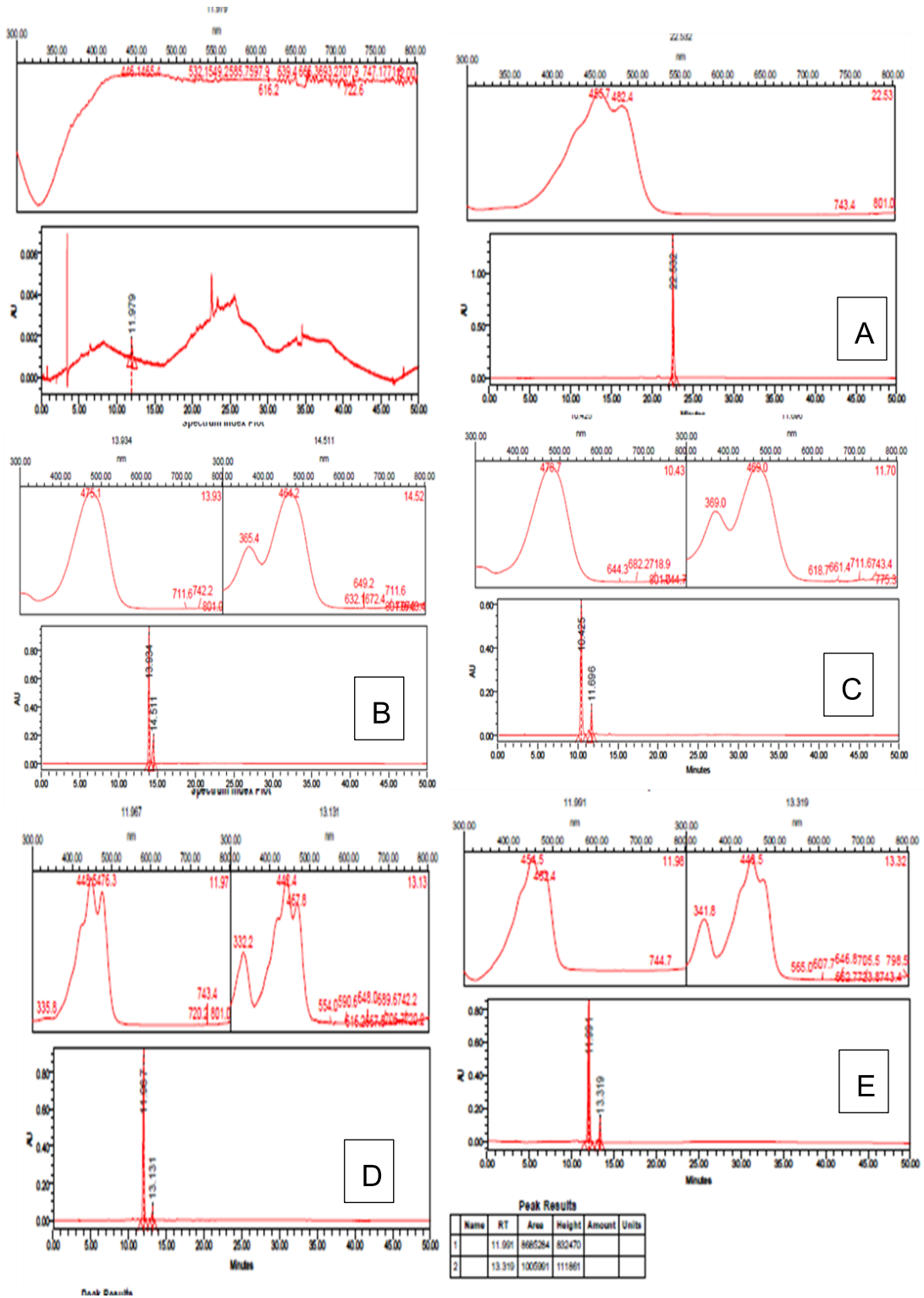
ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงพารามิเตอร์ และเครื่องมือวัดตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

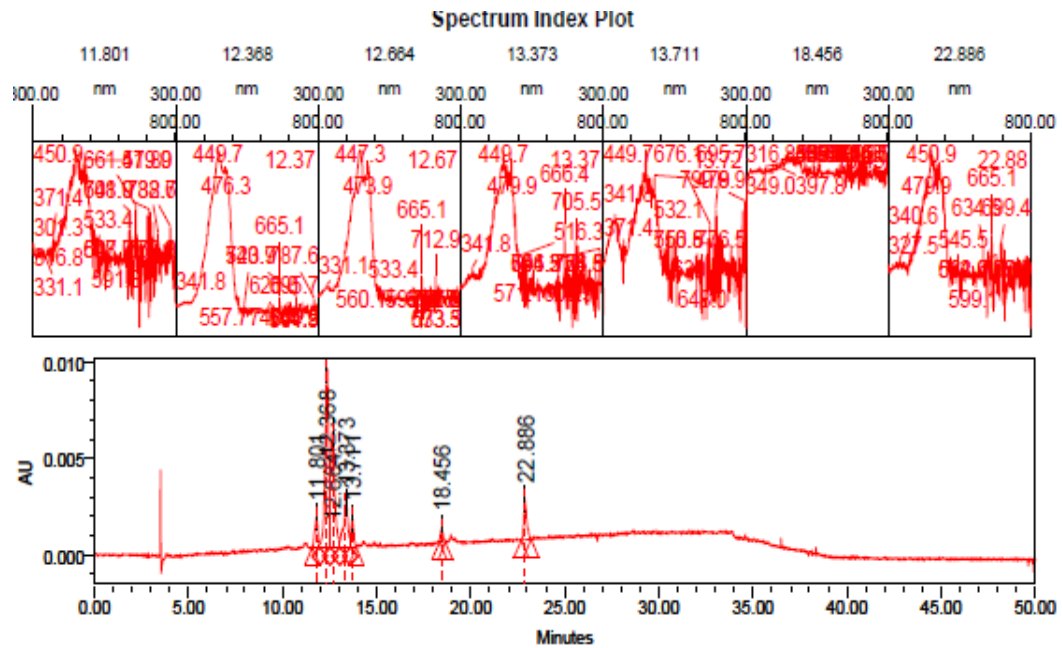
พารามิเตอร์	เครื่องมือวัด
ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	เครื่อง pH meter ยี่ห้อ HACH
ความเป็นด่าง	ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1985)
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ	เครื่อง DO meter ยี่ห้อ YSI 58
วัดปริมาณไนโตรท์ และแอมโมเนียรวม	ตามวิธีของ Strickland and Parsons (1972)
อุณหภูมิ	เครื่อง Thermometer
ความเค็ม	ด้วยเครื่อง refractometer

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงพารามิเตอร์ และเครื่องมือวัดวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

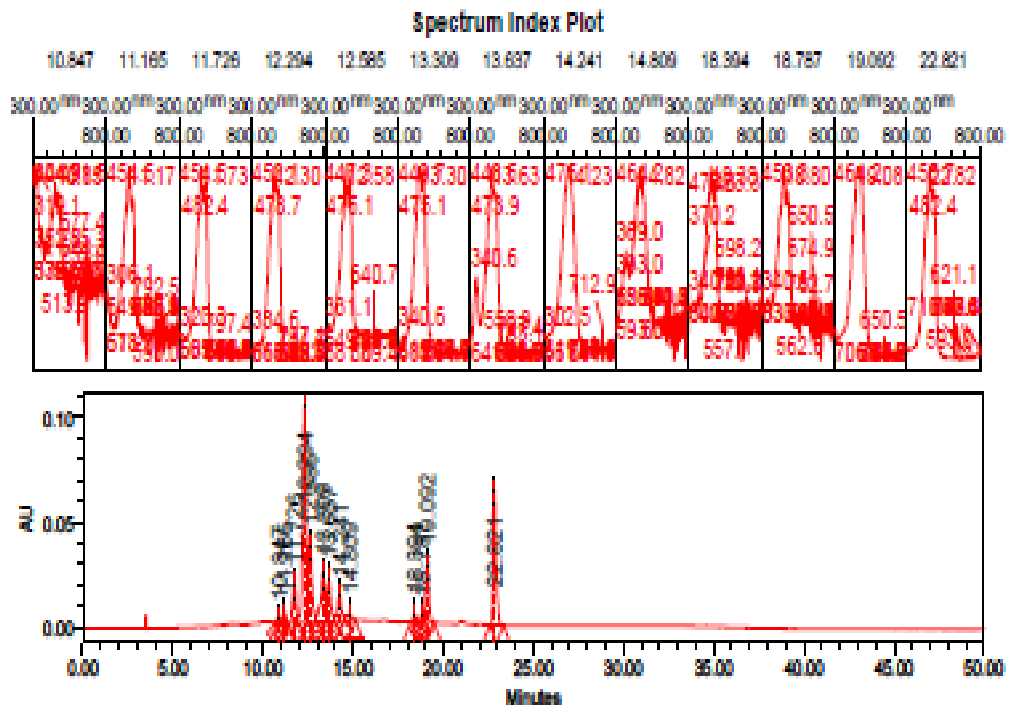
พารามิเตอร์	เครื่องมือวัด
โปรตีน	เครื่องวิเคราะห์โปรตีน TruSpec Carbon/Nitrogen Determination ยี่ห้อLECO
ไขมัน	เทคนิค SFE (Supercritical Fluid Extraction) ด้วยเครื่อง Fat Extractor TFE2000 ยี่ห้อ LECO
ความชื้น และเยื่อใย	ตามวิธีของ AOAC (2005)
วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม	เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo รุ่น Helios Alpha
วิเคราะห์ชนิดและปริมาณ แคโรทีนอยด์	เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Alliance รุ่น Waters 2695



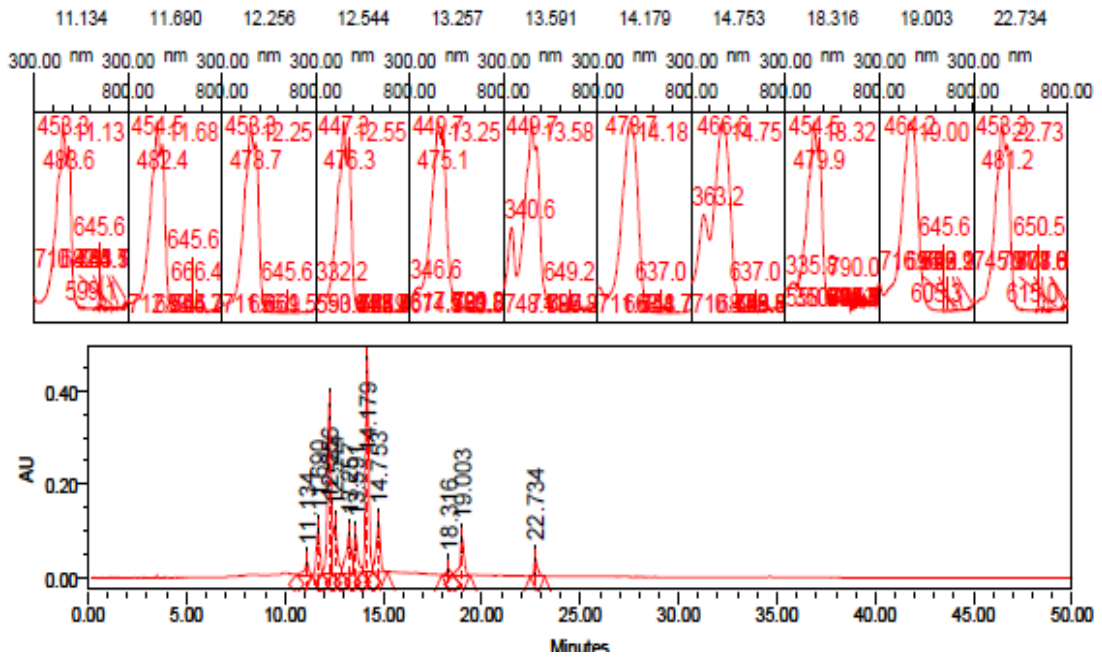
ภาพภาคผนวกที่ 1 โคโรมาโตแกรมสารละลายมาตรฐานของเบต้าแคโรทีน (A) แคนทาแซนทิน (B) แอสตาแซนทิน (C) ลูทีน (D) และ ซีแซนทิน (E)



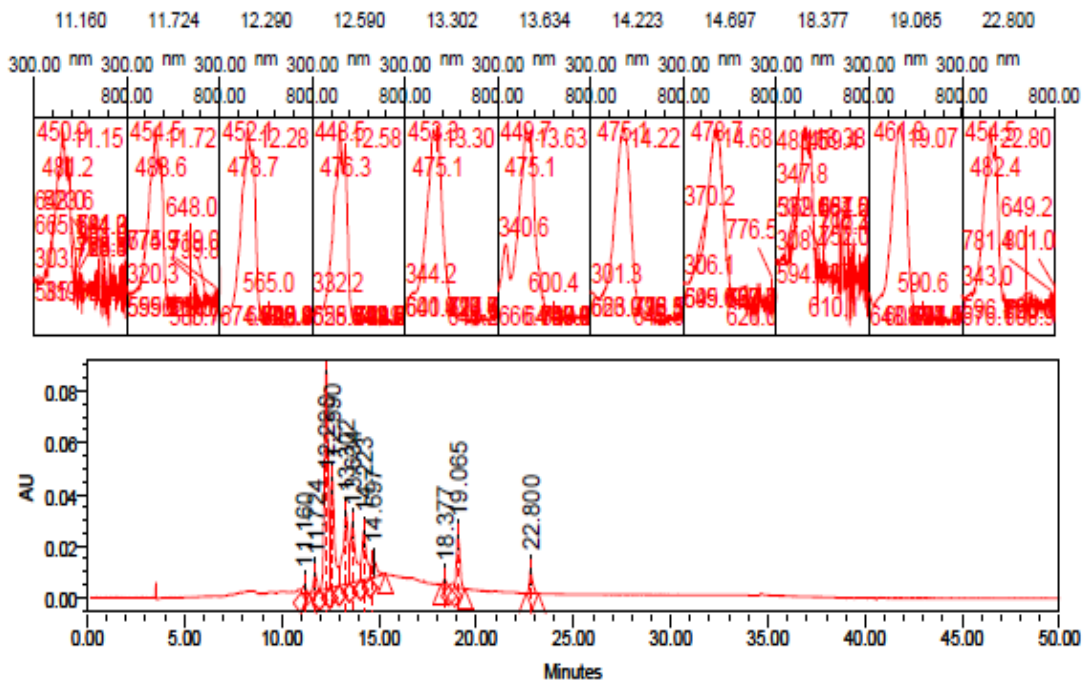
ภาพภาคผนวกที่ 2 โครมาโตแกรม ผิวน้ำปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม



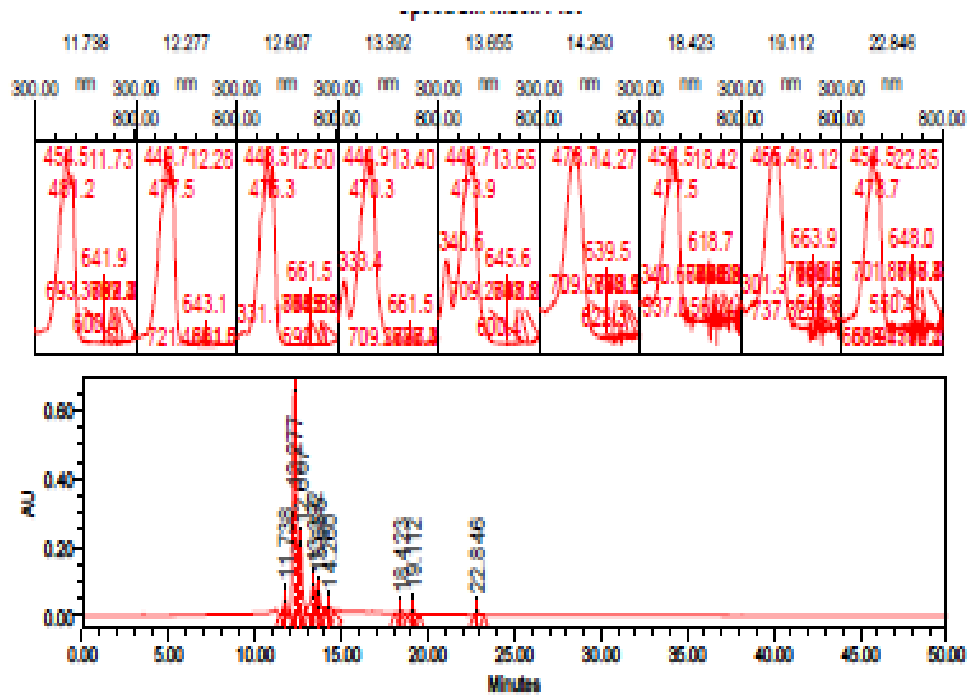
ภาพภาคผนวกที่ 3 โครมาโตแกรม ผิวน้ำปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีน



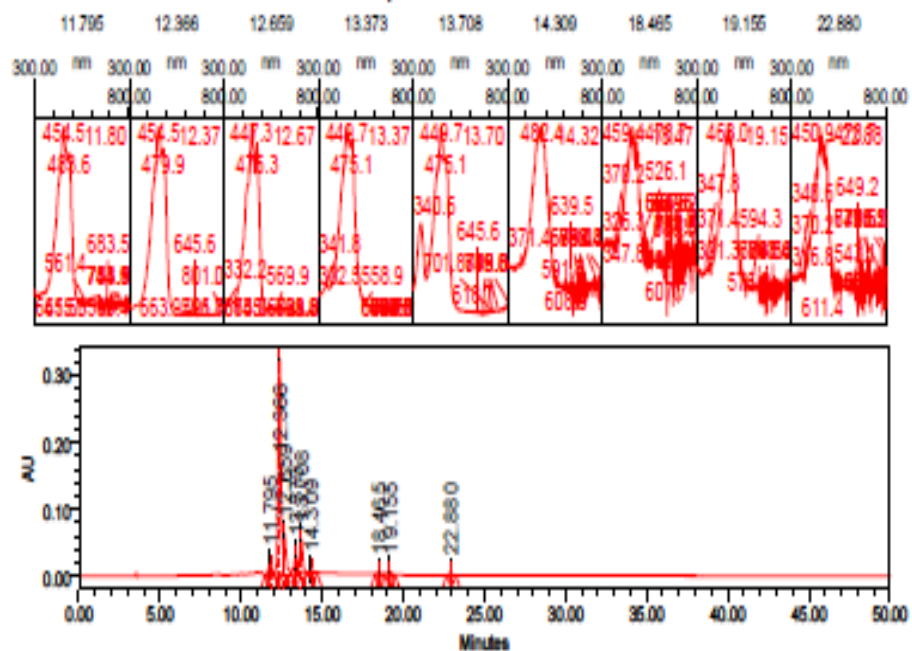
ภาพภาคผนวกที่ 4 โครมาโตแกรม ผิวน้ำปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทีน



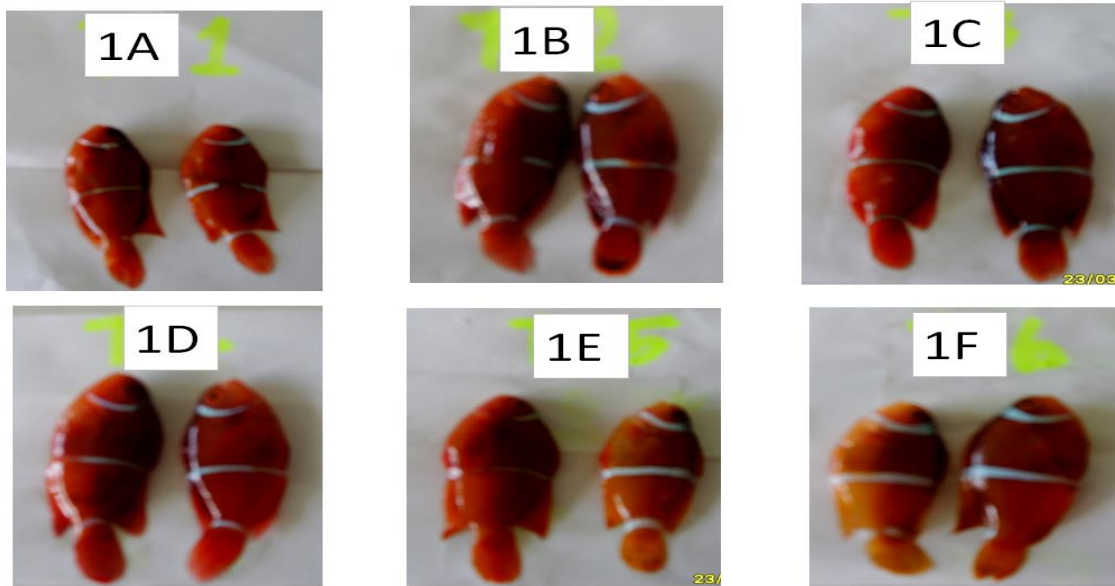
ภาพภาคผนวกที่ 5 โครมาโตแกรม ผิวน้ำปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทีน



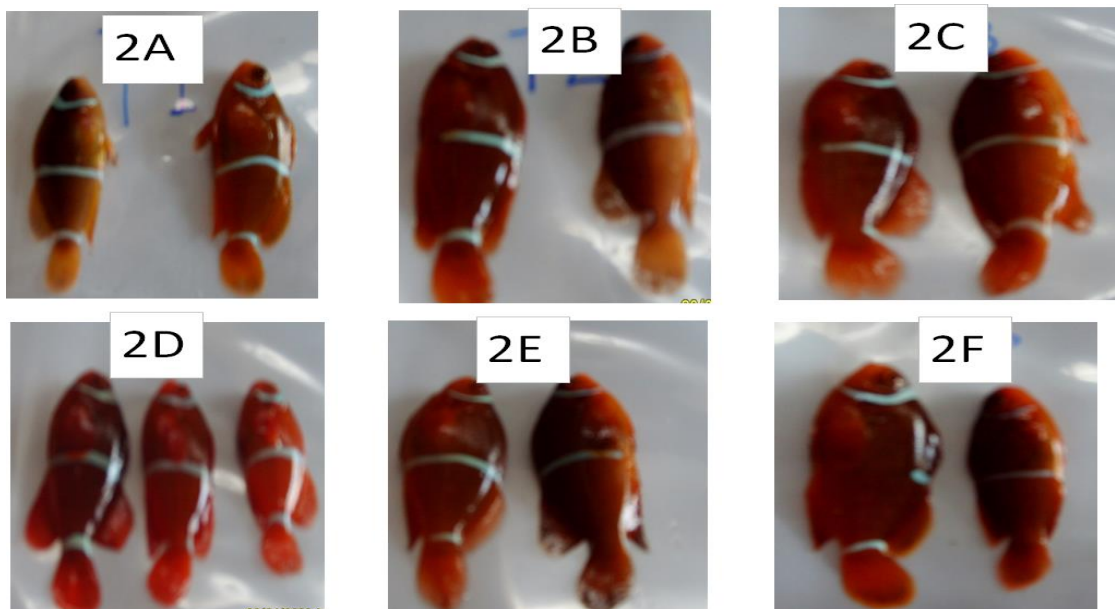
ภาพภาคผนวกที่ 6 โครมาโตแกรม ผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีน



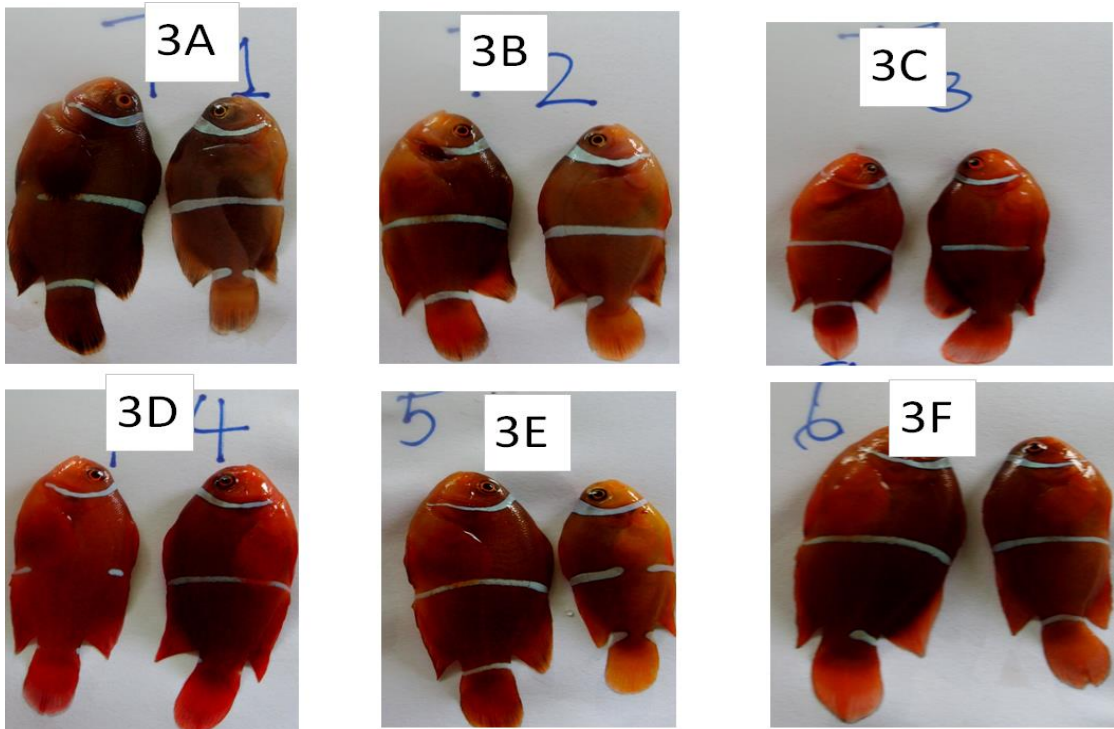
ภาพภาคผนวกที่ 7 โครมาโตแกรม ผิวหนังปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทิน



ภาพภาคผนวกที่ 8 การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ (สูตรควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทิน (F) เดือนที่ 1 (1)



ภาพภาคผนวกที่ 9 การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ (สูตรควบคุม (A) อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน (E) และ ซีแซนทิน (F) เดือนที่ 2 (2)



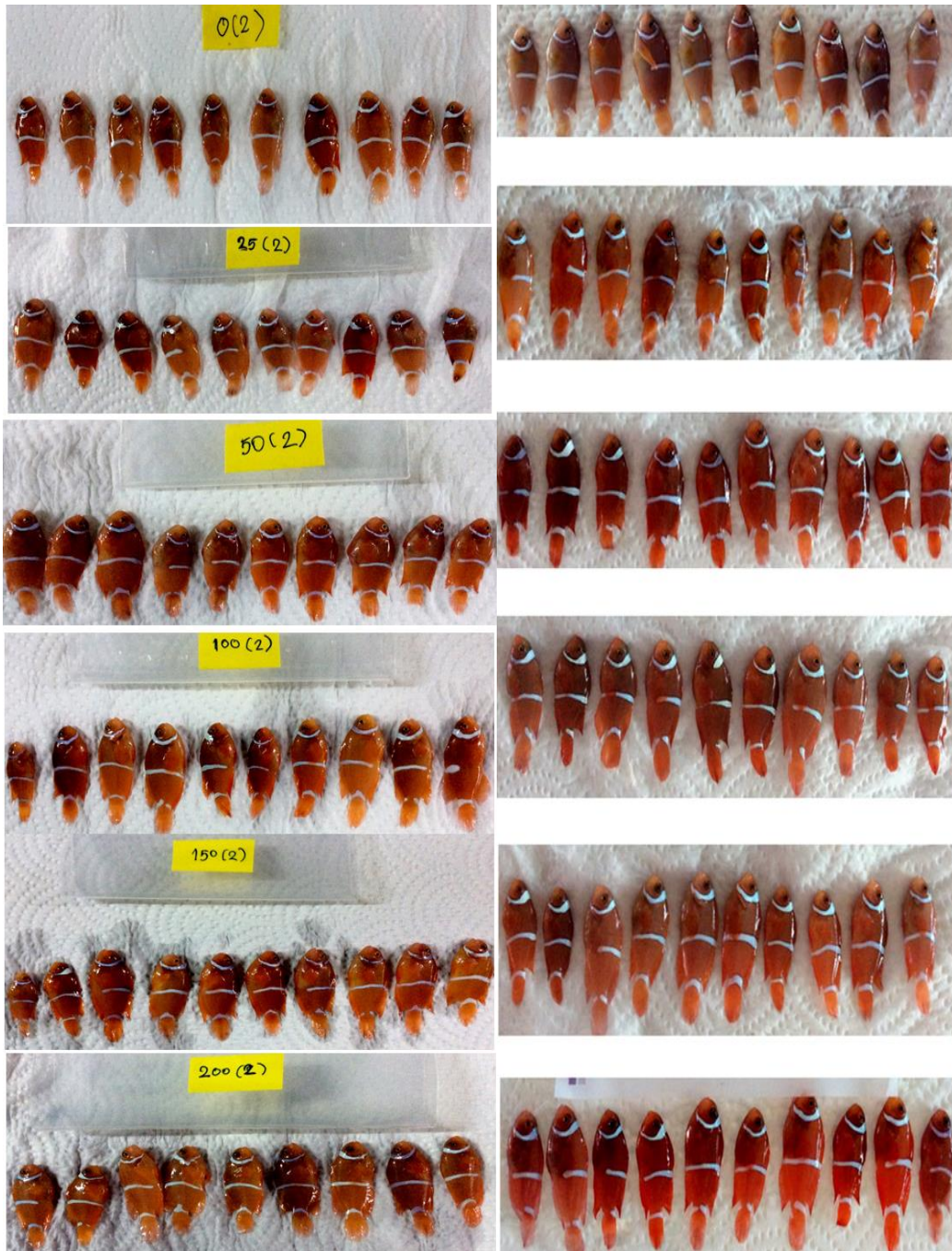
ภาพภาคผนวกที่ 10 การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ (สูตรควบคุม (A)

อาหารที่เสริมเบต้าแคโรทีน (B) แคนทาแซนทิน (C) แอสตาแซนทิน (D) ลูทีน

(E) และ ซีแซนทิน (F) เดือนที่ 3 (3)

สัปดาห์ที่ 2

สัปดาห์ที่ 4



ภาพภาคผนวกที่ 11 การแสดงออกของสีผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารเสริม แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 พีพีเอ็ม และชุดควบคุม ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

สัปดาห์ที่ 6



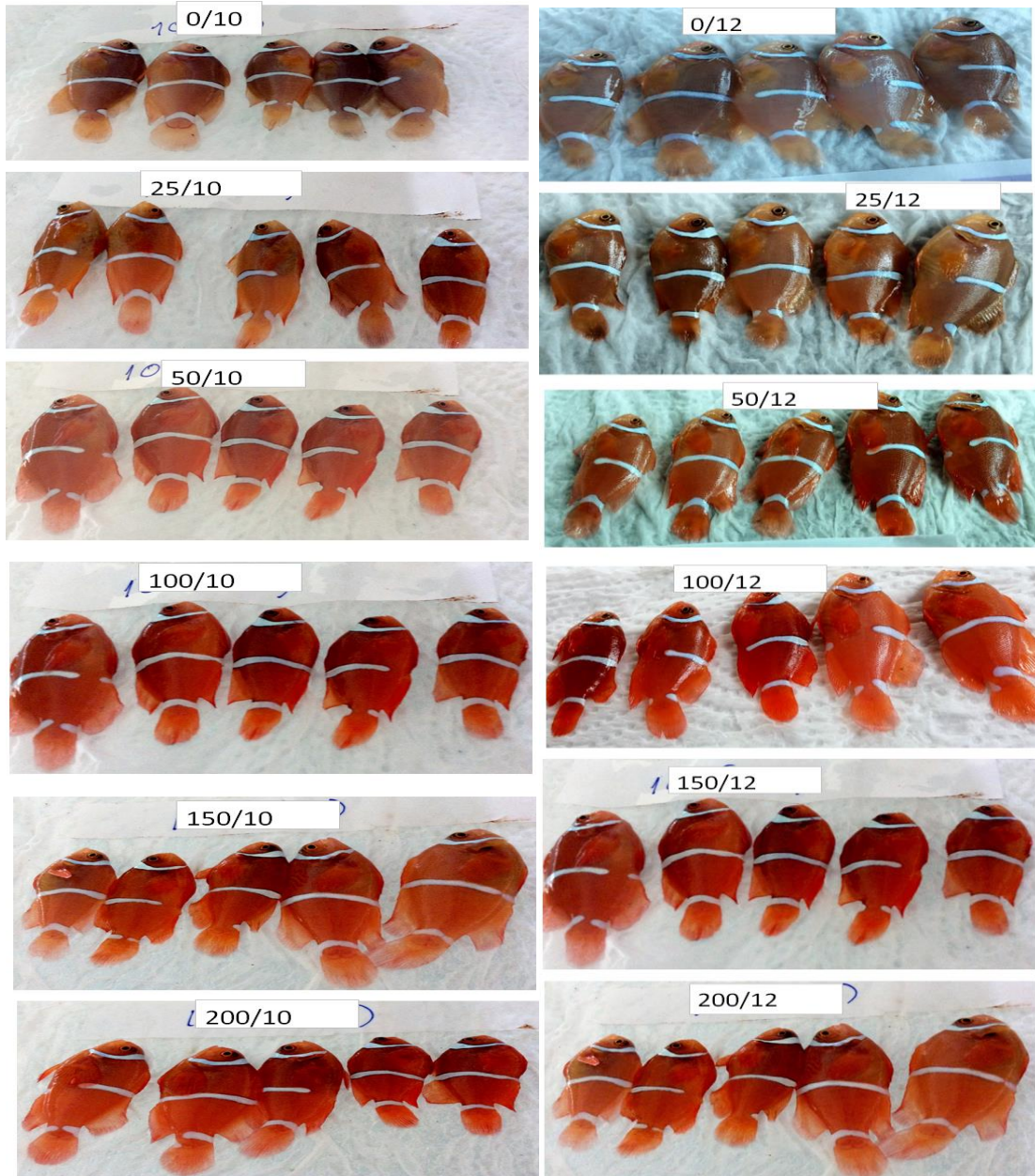
สัปดาห์ที่ 8



ภาพภาคผนวกที่ 12 การแสดงออกของสีผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารเสริม
 แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 พีพีเอ็ม
 และชุดควบคุม ที่ระยะเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

สัปดาห์ที่ 10

สัปดาห์ที่ 12



ภาพภาคผนวกที่ 13 การแสดงออกของสีผิวหนังของปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารเสริม
 แอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 พีพีเอ็ม
 และชุดควบคุม ที่ระยะเวลา 10 และ 12 สัปดาห์