



วิทยานิพนธ์

ผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับ
กินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง (*Carasius auratus*)

**EFFECT OF NONI (*MORINDA CITRIFOLIA*) AND KALMEGH
(*ANDROGRAPHIS PANICULATA*) ON COLORATION AND
PHAGOCYTOSIS IN GOLDFISH (*CARASIUS AURATUS*)**

นายชฎาธาร โทณเดี่ยว

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ภาควิชา

เรื่อง ผลของใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรค
ของเม็ดยอดขาวในปลาทอง (*Carasius auratus*)

Effect of Noni (*Morinda citrifolia*) and Kalmegh (*Andrographis paniculata*) on
Coloration and Phagocytosis in Goldfish (*Carasius auratus*)

นามผู้วิจัย นายชฎาธาร โทณเดี้ยว

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ศรีน้อย ชุ่มคำ, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ประทีปย์ ตาบทพิชัยวรรณ, Doctorat de 3 c)

หัวหน้าภาควิชา

(ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่

เดือน

พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลื้อยขาว
ในปลาทอง (*Carasius auratus*)

Effect of Noni (*Morinda citrifolia*) and Kalmegh (*Andrographis paniculata*) on Coloration and
Phagocytosis in Goldfish (*Carasius auratus*)

โดย

นายชฎาธาร โทณเดี้ยว

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2550

ชฎาธาร โทนเดี่ยว 2550: ผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง (*Carasius auratus*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร, วท.ค. 98 หน้า

การศึกษาผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง ศึกษาปลาทองขนาด 11.45 ± 1.72 กรัมต่อตัว โดยให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเพื่อปรับสีให้คงที่เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วให้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ระดับต่างๆ เพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวอีก 4 สัปดาห์ จากนั้นให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ การศึกษาแบ่งเป็น 4 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในไบยอและฟ้าทะลายโจรพบว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในไบยอและฟ้าทะลายโจรมีปริมาณ 445.21 ± 9.13 และ 316.80 ± 18.52 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณเชื้อไขในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง ปรากฏว่าในเวลา 4 สัปดาห์ปริมาณเชื้อไขในอาหารที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเข้มสีแดงและปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในเลือดและเนื้อลดลง ($p < 0.05$) การทดลองที่ 3 ศึกษาการเสริมไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง พบว่าคาร์โรทีนอยด์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาทอง ($p > 0.05$) แต่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสี ($p < 0.05$) โดยการใช้ไบยอและฟ้าทะลายโจรร่วมกับการใช้แอสตาแซนทินช่วยให้ความเข้มสีแดงสูงขึ้นความคงตัวของสีนานขึ้น ($p < 0.05$) และปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดของปลาทองที่ได้รับสารสีแอสตาแซนทินมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับไบยอและฟ้าทะลายโจร ($p < 0.05$) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีไบยอ 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อมากที่สุด ($p < 0.05$) ในด้านประสิทธิภาพภูมิคุ้มกันโรคพบว่า เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวเพิ่มขึ้นมากที่สุด ($p < 0.05$) ทั้งปลากลุ่มที่ได้รับไบยอและฟ้าทะลายโจรร่วมกับการใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์และในกลุ่มที่ได้รับฟ้าทะลายโจรเพียงอย่างเดียว การทดลองที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของไบยอและฟ้าทะลายโจรในการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง พบว่าประสิทธิภาพการทำงานของเม็คเลือดขาวเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 โดยในกลุ่มที่ได้รับไบยอและฟ้าทะลายโจรร่วมกับการใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์มีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวมากขึ้น ($p < 0.05$) ดังนั้น การใช้ไบยอและฟ้าทะลายโจรในอาหารปลาทองที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลในการเพิ่มความเข้มสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาว

Chadatarn Tondiew 2007: Effect of Noni (*Morinda citrifolia*) and Kalmegh (*Andrographis paniculata*) on Coloration and Phagocytosis in Goldfish (*Carasius auratus*). Master of Science (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Orapint Jintasataporn, Ph.D.
98 pages.

Effect of Noni (*Morinda Citrifolia*) and Kalmegh (*Andrographis Paniculate*) on coloration and phagocytosis in goldfish (*Carasius Auratus*) was studied in goldfishes of 11.45 ± 1.72 g. Fish were fed low carotenoid diet for 4 weeks in order to get the low color intensity. Then, all fish were fed with carotenoid testing diet for the other 4 week to investigate the coloration and phagocytosis activity. After that, fish were fed low carotenoid again for the last 4 weeks. The studied was divided into 4 experiments. Firstly, study on amount of total carotenoid in Noni and Kalmegh. It was found that total carotenoid in Noni and Kalmegh were 445.21 ± 9.13 and 316.80 ± 18.52 $\mu\text{g/g}$, respectively. Secondly, study the effect of dietary fiber on carotenoid absorption for 4 weeks, the result indicated that increasing fiber in feed was retarded the red color and accumulation of total carotenoid in fish blood and muscle ($p < 0.05$). Thirdly, study the effect of Noni and Kalmegh on growth performance, coloration and phagocytosis in goldfish. The results presented that carotenoid showed low effect on growth performance ($p > 0.05$). Moreover, it also found that feeding Noni and Kalmegh with astaxanthin enhanced the red color and the stability of color ($p < 0.05$). On the other hand, fish fed astaxanthin presented the higher carotenoid in fish blood better than group of 10 % Noni and 10 % Kalmegh. However, goldfish fed 10 % Noni with 0.25 % astaxanthin demonstrated the highest carotenoid accumulation in muscle ($p < 0.05$). The lymphocytic activity in terms of percentage of phagocytosis and phagocytosis index was high ($p < 0.05$) in group of fish fed with 10% Noni and 10% Kalmegh incorporated with astaxanthin. Next, Lymphocytic activity was increased ($p < 0.05$) within 6 days after treatment. Therefore, Feeding 10 % Noni and Kalmegh were enhanced red color intensity and Lymphocytic activity in goldfish.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อรพินท์ จินตสถาพร ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. ศรีน้อย ชุ่มคำ กรรมการที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. ประทีกย์ ตาบทิพย์วรรณ กรรมการที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. นนทวิทย์ อารีย์ชน ประธานการสอบ และ ศาสตราจารย์เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวต ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา คำแนะนำและตรวจทานแก้ไข ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. สุภฎา ศิริรัฐนิคม, คุณสุทิน สมบูรณ์, คุณบัณฑิต ขวงสร้อย, คุณรุ่งกานู กล้าหาญ รวมถึงพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ นิสิตบัณฑิตศึกษาศาखाพะเยาเลี้ยงสัตว์น้ำ บุคลากรที่ภาควิชาพะเยาเลี้ยงสัตว์น้ำ และศูนย์พัฒนาเทคโนโลยีอาหารสัตว์น้ำทุกท่าน สำหรับความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และการอำนวยความสะดวก จนกระทั่งงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว โทนเดี้ยว ทุกท่าน ที่สนับสนุนช่วยเหลือในการทำงานวิจัย ตลอดจนเป็นกำลังใจอันสำคัญจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

ชฎาธาร โทนเดี้ยว

สิงหาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	35
อุปกรณ์	35
วิธีการ	36
ผลและวิจารณ์	49
สรุปและข้อเสนอแนะ	71
สรุป	71
ข้อเสนอแนะ	73
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	74
ภาคผนวก	86
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	103

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณสารที่พบในฟ้าทะลายโจร	31
2	สารออกฤทธิ์ในฟ้าทะลายโจรและสรรพคุณทางยา	34
3	องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารทดลองปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง	38
4	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง	39
5	องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารทดลองผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลื้อยขาวในปลาทอง	42
6	องค์ประกอบทางเคมีจากการวิเคราะห์ของอาหารปลาทดลองผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลื้อยขาวในปลาทอง	43
7	ปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวมในใบยอและฟ้าทะลายโจร	49
8	ค่าความสว่าง (L^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์ที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน	50
9	ค่าสีแดง (a^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์ที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน	51
10	ค่าสีเหลือง (b^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์ที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน	52
11	ปริมาณคาร์โบทีนอยด์ในเลือดของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์ที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน	53
12	ปริมาณคาร์โบทีนอยด์ในเนื้อปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์ที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน	53
13	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โบทีนอยด์จากใบยอและฟ้าทะลายโจร	55

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อวันของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบ ขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	55
15	อัตราการแลกเนื้อของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้น และฟ้าทะลายโจร	56
16	ค่าความสว่าง(L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้า ทะลายโจร	58
17	ค่าสีแดง(a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้า ทะลายโจร	59
18	ค่าสีเหลือง(b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้า ทะลายโจร	60
19	ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จาก ใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	62
20	ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบ ขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	64
21	เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาที่ได้รับอาหารคาร์โรที นอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	65
22	ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรที นอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	66
23	เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทองตลอด 12 วันที่ ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	68
24	ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาตลอด 12 วันที่ได้รับ อาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก1 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์ทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T4)(ค่าเฉลี่ย + SD)	87
ก2 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟ้าทะลายโจร และ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T8) (ค่าเฉลี่ย + SD)	88
ก3 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์ทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T12)(ค่าเฉลี่ย + SD)	89
ก4 ค่าความสว่าง(L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟ้าทะลายโจร และ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T8) (ค่าเฉลี่ย + SD)	90
ก5 ค่าความเป็นสีแดง(a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟ้าทะลายโจร และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T8) (ค่าเฉลี่ย + SD)	91
ก6 ค่าความเป็นสีเหลือง(b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟ้าทะลายโจร และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์(T8) (ค่าเฉลี่ย + SD)	92
ก7 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (T12) (ค่าเฉลี่ย + SD)	93
ก8 ค่าความเป็นสีแดง(a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(T12) (ค่าเฉลี่ย + SD)	94
ก9 ค่าความเป็นสีเหลือง(b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(T12) (ค่าเฉลี่ย + SD)	95

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สารสีชนิดต่าง : Beta-carotene, Lutein, Zeaxanthin, Echinenone, Canthaxanthin และ Astaxanthin	9
2 โครงสร้างของ Acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene, β -carotene, canthaxanthin และ astaxanthin	10
3 ขบวนการเมแทบอลิซึม และการเปลี่ยนแปลงคาร์โรทีนอยด์ ในสัตว์พวก Crustaceans	15
4 ความสามารถในการสังเคราะห์สารแอสตาแซนทินในสัตว์กลุ่มต่างๆ	16
5 Partway การเปลี่ยน BETA-CAROTENE , ZEAXANTHIN และ CANTAXANTHIN เป็น ASTAXANTHIN	17
6 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	48
7 ค่าความสว่าง(L^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อยีสต่างกัน	50
8 ค่าสีแดง (a^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อยีสต่างกัน	51
9 ค่าสีเหลือง (b^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อยีสต่างกัน	52
10 ค่าความสว่าง(L^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	58
11 ค่าสีแดง(a^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	59
12 ค่าสีเหลือง(b^*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	60
13 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดของปลาที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	62
14 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร	63

ผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรค ของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง (*Carasius auratus*)

Effect of Noni (*Morinda citrifolia*) and Kalmegh (*Andrographis paniculata*) on Coloration and Phagocytosis in Goldfish (*Carasius auratus*)

คำนำ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสวยงามนับเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจแขนงหนึ่ง เนื่องจากการขยายตัวของปริมาณผลผลิต และมูลค่าการส่งออกที่เพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ตลาดสิงคโปร์ ฮองกง ญี่ปุ่น กลุ่มประเทศสหภาพยุโรป และอเมริกา ด้วยกลไกการตลาดในประเทศดังกล่าว ทำให้มีการขยายตัวของธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสวยงามเพิ่มมากขึ้นในประเทศไทย ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม สีสรรของตัวปลาถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะต้องควบคุมเพื่อให้ได้ตรงความต้องการของตลาด ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในอาหารน้อยเกินไป ทำให้ปลาที่เลี้ยงมีสีไม่ตรงตามความต้องการของตลาด การปรับปรุงสีปลาสามารถทำได้โดยการเสริมคาร์โรทีนอยด์ในอาหาร ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าในตลาดโลกมากขึ้น

ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาจำนวนมากที่ปรับปรุงสีสรรในตัวปลา โดยการเร่งสีปลาด้วยการเสริมคาร์โรทีนอยด์ในอาหารสัตว์น้ำ โดยเฉพาะสัตว์น้ำสวยงามเพื่อช่วยให้มีสีสรรตรงตามความต้องการของท้องตลาด นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าคาร์โรทีนอยด์สามารถต้านทานต่อความเครียด โดยกลุ่มของคาร์โรทีนอยด์ประกอบไปด้วยสารหลายชนิด เช่น เบตา คาร์โรทีน (beta-carotene) , ซีเอแซนทีน (zeaxanthin) , ลูทีน (Lutein) , แอสตาแซนทีน (Astaxanthin) และแคนตาแซนทีน (Cantaxanthin) เป็นต้น คาร์โรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการใช้งานในสัตว์น้ำแต่ละชนิดแตกต่างกันไป การปรับปรุงสีของสัตว์น้ำทำได้โดยการเสริมคาร์โรทีนอยด์ในอาหาร ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของสัตว์น้ำและเป็นแนวทางการเพิ่มผลตอบแทนให้กับผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

คาร์โรทีนอยด์สามารถพบได้ในพืชในธรรมชาติเช่น ใบยอ ใบชา สาหร่ายสไปรูลีนา สาหร่ายคูลาเลียลลา สาหร่ายฮีมาโตคอกคัส แต่ที่ใช้กันโดยทั่วไปจะเป็นสารสังเคราะห์ซึ่งทำให้มี

ต้นทุนในการเลี้ยงสูงขึ้นการใช้คาร์โรทีนอยด์จากแหล่งธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดต้นทุนในการเลี้ยงสัตว์น้ำได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณของคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและใบฟ้าทะลายโจร
2. ศึกษาผลของปริมาณเชื้อในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง
3. ศึกษาผลของคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลื้อยขาวในปลาทอง

การตรวจเอกสาร

1. อุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาในประเทศ

ในกลุ่มประเทศซีกโลกตะวันออก ประเทศจีนเป็นประเทศแรกที่ได้มีการเลี้ยงปลาเพื่อความเพลิดเพลิน ปลาที่เลี้ยงนั้นได้แก่ปลาที่เป็นต้นกำเนิดของปลาทองมีลักษณะคล้ายปลาคะเพียนได้มีการคัดเลือกจนมีสีสรรรูปลักษณ์สวยงามเป็นปลาทองดังที่รู้จักกันในปัจจุบัน ญี่ปุ่นเป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีความพากเพียรเอาใจใส่เป็นพิเศษในการเลี้ยงปลา ทำให้เกิดปลาทองที่สวยงามน่ารัก และน่าเลี้ยงมากขึ้น ต่อมาก็เป็นที่รู้จักกันภายใต้ชื่อว่าปลาสวยงาม ซึ่งทั้งนี้รวมถึงปลาอื่นๆที่สวยงามด้วย

ในประเทศไทยการเลี้ยงปลาสวยงามจากหลักฐานเท่าที่พบปรากฏว่าเมื่อประมาณปี 2479 กรมประมงได้ร่วมมือกับกระทรวงสาธารณสุข ส่งเสริมแนะนำให้ปล่อยปลา Gambusia ซึ่งเป็นปลาชนิดหนึ่งที่กินยุง และเรียกกันว่าปลากินยุงลงเลี้ยงตามบ่อและอ่างน้ำเพื่อกำจัดยุงอันเป็นสื่อนำเชื้อมาเลเรีย นอกจากนี้ยังมีปลาสวยงามที่มีกำเนิดในประเทศไทยซึ่งเป็นที่รู้จักกันมานานแล้ว เช่น ปลาชิวหางแดง ซึ่งปัจจุบันเป็นที่รู้จักในชื่อว่า รัสโบรา (Rasbora) ปลาข้างลาย รู้จักกันในชื่อว่า เสือสมมาตร หรือ Tiger barb และปลาทรงเครื่อง รู้จักกันในชื่อว่า Red-finned shark เมื่อระยะเริ่มแรกนั้นปลาสวยงามมีราคาแพงมาก ยากที่คนทั่วไปจะซื้อหาเลี้ยงได้ทั้งนี้เพราะยังไม่แพร่หลายนัก

ในปัจจุบันนี้การเลี้ยงปลาสวยงาม กำลังเป็นที่แพร่หลายและยังเติบโตขยายเป็นธุรกิจขนาดใหญ่ทั้งในและต่างประเทศ การส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำก่อให้เกิดการดำเนินงานเป็นธุรกิจที่มีมูลค่าหลายพันล้านในแต่ละปี โดยที่ประเทศไทยมีศักยภาพสูงในการส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ เนื่องจากมีปัจจัยเอื้ออำนวยหลายอย่าง อาทิ สภาพภูมิอากาศ คุณภาพน้ำ แหล่งอาหาร แรงงาน โดยเฉพาะเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง และผู้ส่งออกปลาสวยงามมีความสามารถ ซึ่งมีส่วนสร้างเสริมให้ธุรกิจการส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำมีความเจริญก้าวหน้ามากขึ้น

นอกจากนี้กรมประมงได้มีนโยบายพัฒนาการผลิตและการส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ เพื่อผลักดันให้ประเทศไทยเป็นผู้นำด้านการผลิตและการส่งออกสัตว์น้ำสวยงามของภูมิภาค

โดยได้จัดตั้งสถาบันพัฒนาปลาสวยงามและพันธุ์ไม้น้ำในปี พ.ศ. 2540 และเปลี่ยนชื่อเป็น สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ ขึ้นในปี พ.ศ. 2542 โดยมีหน้าที่ความรับผิดชอบในการศึกษาวิจัยเทคโนโลยีการผลิตและพัฒนาคุณภาพผลผลิตปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำเชิงพาณิชย์ การจัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน การส่งเสริมเผยแพร่และพัฒนาอาชีพการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ การพัฒนาธุรกิจการส่งออก ตลอดจนให้บริการตรวจสอบออกใบรับรองฟาร์มผลิตสัตว์น้ำสวยงาม

ด้านการพัฒนาธุรกิจการผลิตและการส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ กรมประมงร่วมกับกรมศุลกากรได้แก้ไขกฎระเบียบการนำเข้าและการส่งออกสินค้าปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ มีการยกเว้นภาษีการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการเพาะขยายพันธุ์ เพื่อสนับสนุนให้มีการเพิ่มความหลากหลายของสายพันธุ์ในการผลิตเพื่อส่งออก นอกจากนี้ยังได้จัดตั้งศูนย์ส่งออกและตลาดกลางการซื้อขายปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำที่จังหวัดปทุมธานี เพื่อรองรับผลผลิตภายในประเทศและผลักดันการส่งออก มีการขยายตลาดเชิงรุก โดยมีการประชาสัมพันธ์นิทรรศการแสดงสินค้าปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำของไทยในงานระดับนานาชาติที่ประเทศอิตาลี เยอรมัน และสิงคโปร์ ประสานงานนำผู้ผลิตผู้ส่งออกของไทยเจรจาทางการค้ากับผู้ซื้อต่างประเทศและสนับสนุนผู้ผลิตของไทยให้ส่งปลาสวยงามเข้าประกวดแข่งขันในระดับสากล

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศอันดับที่ 3 ในธุรกิจการส่งออกปลาสวยงาม การส่งออกปลาสวยงามในต่างประเทศส่งออกทางอากาศเป็นส่วนใหญ่ ประเทศที่ส่งออกปลาสวยงามมากที่สุดคือ สิงคโปร์ รองลงมาคือ มาเลเซีย และไทย ในการดำเนินงานของกรมประมงซึ่งมีผลสำเร็จในการผลิตและส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำอย่างกว้างขวาง พบว่ามูลค่าการส่งออกจากรายงานของกรมศุลกากรมีมูลค่าการส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำในช่วง พ.ศ. 2540 - 2544 เพิ่มขึ้นทุกปี นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการจ้างงานและเสริมสร้างอาชีพให้แก่ผู้ว่างงานในเขตพื้นที่กรุงเทพฯ และปริมณฑล และกรมประมงยังมีเป้าหมายที่จะพัฒนาการผลิตให้ได้ผลผลิตที่มีทั้งปริมาณความหลากหลายของชนิดพันธุ์เพิ่มขึ้นและมีคุณภาพได้มาตรฐานสากล ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จะเพิ่มปริมาณและมูลค่าการส่งออก จนกระทั่งนำไปสู่การก้าวขึ้นเป็นผู้นำด้านการผลิต การส่งออกปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำของโลกต่อไปในอนาคต

2. ปลาทอง

ปลาทองมีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและญี่ปุ่น ต่อมาถูกนำไปเลี้ยงในยุโรปเมื่อศตวรรษที่ 17 และถูกนำไปเผยแพร่ในอเมริกา ในศตวรรษที่ 19 ชาวจีนและชาวญี่ปุ่นรู้จักผสมพันธุ์ปลาทองมานานแล้ว และได้ปลาทองลูกผสมที่น่าสนใจ มีสีหลากหลายตั้งแต่สีแดง สีทอง สีส้ม สีเทา สีดำและสีขาว แม้กระทั่งปลาทองสารพัดสีในตัวเดียวกัน ปลาทองมีชีวิตอยู่ตามแหล่งธรรมชาติจนกระทั่งมีชาวจีนบางคนได้จับมาเลี้ยงตามบ่อเพราะดูสวยดี สีสรรแปลกตา สร้างความเพลิดเพลินใจได้เป็นอย่างดี จึงเลี้ยงสืบต่อกันมาเรื่อย ๆ ทำให้มีการพัฒนาเรื่อยมา ประกอบกับความนิยมเลี้ยงที่มีมากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้ปลาทองที่เลี้ยงมีลักษณะเปลี่ยนไป เช่น แต่เดิมปลาทองจะหาอาหารตามบ่อน้ำธรรมชาติเพื่อเลี้ยงชีวิตซึ่งต้องใช้พลังงานร่างกายจึงไม่อ้วนเหมือนปัจจุบันและหากลักษณะต่างๆ ดังกล่าวเกิดเป็นที่ประทับใจมนุษย์ ปลาทองถูกมนุษย์เลี้ยงมาตั้งแต่อดีต ประมาณ พ.ศ. 1161-1450 เมื่อพิจารณาจะพบว่าปลาใน ปลาตะเพียนทั้งหลายต่างก็อยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาทอง คือ Family Cyprinidae

ปลาทอง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carassius auratus* (Linn) เป็นปลาในครอบครัว (Family) Cyprinidae ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน ปลาทองพันธุ์ดั้งเดิมของจีนมีลักษณะคล้ายปลาไน (*Cyprinus carpio*) มีลำตัวค่อนข้างยาวและแบนข้าง หัวสั้นกว้าง หางธรรมดาเช่นเดียวกับปลาไน เป็นปลาที่อดทน กินอาหารได้เกือบทุกชนิด ปลาทองสีเทามักนิยมนำไปเป็นอาหาร ส่วนสีทองนิยมเลี้ยงไว้ดูเล่น (รัชชัย , 2545) จากการที่ปลาทองเป็นปลาที่อดทนเลี้ยงง่าย แพร่พันธุ์ได้เร็วและขนาดพอเหมาะที่จะเลี้ยงในภาชนะแคบ ๆ เช่น ตู้กระจกหรือบ่อขนาดเล็กได้ จึงได้มีผู้พยายามผสมพันธุ์และคัดพันธุ์ปลาทองจนได้ลูกปลาที่มีลักษณะแปลก ๆ สีสวย ๆ ออกมามากมายและมีการตั้งชื่อตามลักษณะและสีสรรของพันธุ์เหล่านั้น ซึ่งพันธุ์ใหม่ ๆ ที่กำลังได้รับความนิยมในตลาดปัจจุบันได้แก่

ปลาทองพันธุ์ออเรนดา (Oranda) จะมีลักษณะลำตัวค่อนข้างยาวกว่าปลาทองพันธุ์หัวสิงห์ และริวกิ้น ลำตัวมองดูด้านข้างคล้ายรูปไข่ หรือรูปรี ส่วนท้องไม่ป่องมาก เช่น พันธุ์หัวสิงห์ ครีบทุกครีบยาวใหญ่ โดยเฉพาะครีบหางจะยาวแผ่ห้อยสวยงามมาก ปลาทองพันธุ์นี้ยังแบ่งออกไปเป็นพันธุ์ย่อย ๆ ได้อีก ตามลักษณะหัว และ สี ได้แก่

ออเรนดาธรรมดา มีลำตัวค่อนข้างยาวรี หัวไม่มีวุ้น ครีบทุกครีบยาวมาก

ออเรนดาหัววุ้น ลำตัวและหางไม่ยาวเท่าออเรนดาธรรมดา แต่บริเวณหัวจะมีวุ้นคลุมอยู่ คล้ายกับหัวปลาทองพันธุ์หัวสิงห์ แต่วุ้นจะไม่ปกคลุมส่วนของหัวทั้งหมด จะมีวุ้นเฉพาะตรงกลางของส่วนหัวเท่านั้น และวุ้นที่ดีจะต้องมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมเมื่อมองจากด้านบน

ออเรนดาหัวแดง ออเรนดาชนิดนี้คือ ออเรนดาหัววุ้น แต่เน้นลักษณะสีเฉพาะออกไป กล่าวคือ วุ้นบนหัวจะเป็นสีแดง ขณะที่ลำตัวมีสีขาว ปลาพันธุ์นี้คัดพันธุ์ได้ในประเทศญี่ปุ่น เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์หัวสิงห์และริวกิ้น ตัวที่มีขนาดใหญ่ยาวถึง 60 ซม. แต่ส่วนมากปลาขนาดใหญ่มักมีความยาวไม่เกิน 30 ซม.

ปลาทองหัวสิงห์ (Lion head) มีแหล่งกำเนิดในประเทศจีน ปลาทองหัวสิงห์เป็นปลาทองชนิดที่ได้รับความนิยมมากในหมู่ผู้เลี้ยงปลา ปลาชนิดนี้มีรูปทรงสง่างาม มีอยู่ 2 สายพันธุ์คือ สิงห์จีนและสิงห์ญี่ปุ่น สิงห์จีนจะมีลักษณะหัวใหญ่ส่วนใหญ่จะมีวุ้นหนา ลำตัวยาว สิงห์ญี่ปุ่นส่วนหัวจะเล็กกว่าส่วนใหญ่ไม่มีวุ้นลำตัวสั้น หลังจะโค้งมน หางสั้นและเขี้ยวขึ้นดูสง่างาม ปลาทองหัวสิงห์เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย กินลูกน้ำ ไรแดง ไข่น้ำ การเลี้ยงปลาชนิดนี้ให้ได้ดีควรเลี้ยงในอ่างตื้น ๆ ลึกไม่เกิน 8 นิ้ว จะทำให้ปลา มีรูปร่างสวยงาม

ปลาทองริวกิ้น (Ryukin) มีแหล่งกำเนิดในประเทศจีน ปลาทองริวกิ้นเป็นปลาทองที่นิยมของผู้เลี้ยงปลา เนื่องจากมีรูปทรงสวยงาม ลำตัวป้อมสั้น ท้องใหญ่ หางยาวเป็นพวง ส่วนหัวสูง ลำตัวเป็นสีส้ม หรือส้มแดงปนขาว เวลาว่ายน้ำจะเป็นท่วงท่าที่ดูสง่างาม ปลาชนิดนี้มีทั้งที่สั่งมาจากประเทศญี่ปุ่นและเพาะพันธุ์ขึ้นเองในประเทศ ปลาจากญี่ปุ่นจะมีรูปร่างและสีดีกว่าของไทยแต่มีราคาสูงกว่าของไทยมาก ผู้ที่เลี้ยงปลาชนิดนี้ต้องมีน้ำใสสะอาด ไม่ควรให้น้ำเย็นเกินไป ปลา ริวกิ้น ชอบกินลูกน้ำ ไรสีน้ำตาล และอาหารสำเร็จ

3. คาร์โรทีนอยด์(carotenoids)

คาร์โรทีนอยด์เป็นสารสีที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ โดยเฉพาะทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในพัฒนาการของตัวอ่อน ระบบการสืบพันธุ์ ระบบภูมิคุ้มกัน ตลอดจนมีส่วนสำคัญในการเกิดสี ทำให้

สิ่งมีชีวิตมีสีตัวแตกต่างกันออกไป (Lastcha, 1991) สัตว์น้ำทั้งกุ้ง และปลา ไม่สามารถสร้างคาร์โรทีนอยด์ในร่างกายได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่กินเท่านั้น อาจได้จากอาหารเสริมหรือแพลงก์ตอนในน้ำ (Yamada, 1990) อย่างไรก็ตามสารกลุ่มคาร์โรทีนอยด์ประกอบไปด้วยสารหลายชนิด เช่น เบตา-คาร์โรทีน (β -carotene), ซีเอแซนทีน (zeaxanthin), ลูทีน (Lutein), แอสตาแซนทีน (astaxanthin) และแคนตาแซนทีน (cantaxanthin) เป็นต้น คาร์โรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการใช้งานในสัตว์น้ำแต่ละชนิดแตกต่างกัน (Chien, 1992) นอกจากนี้คาร์โรทีนอยด์ชนิดเดียวกันอาจพบได้ทั้งในรูปคาร์โรทีนอยด์อิสระ และในรูปเอสเทอร์ ซึ่งเป็นผลให้แหล่งของสารสีในสัตว์น้ำแตกต่างกันไป

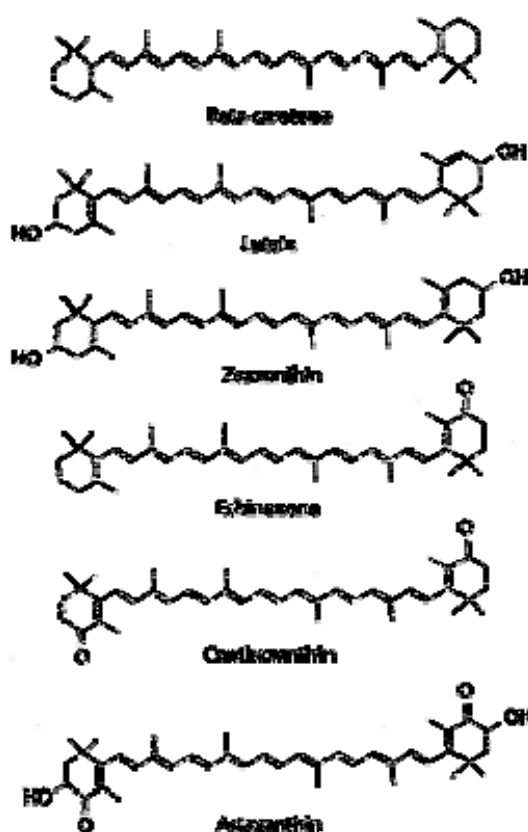
คาร์โรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบในธรรมชาติ ทั้งในพืชและสัตว์ โดยรงควัตถุเหล่านี้อยู่ในพลาสติด (plastids) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ (Fox และ Vevers, 1960) Fox (1957) รายงานว่าพบคาร์โรทีนอยด์ภายในคลอโรพลาสต์ของใบไม้ที่มีสีเขียวด้วย แต่จะมองไม่เห็นจนกระทั่งคลอโรฟิลล์จางหายไป คาร์โรทีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยคาร์บอนเรียงตัวกันเป็นสายยาวพันธะเดี่ยว (single bonds) สลับกับพันธะคู่ (double bonds) และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้งสองปลายมีคาร์บอนเรียงตัวกันเป็นวง (ring structure) ทำให้คาร์โรทีนอยด์มีคุณสมบัติในการดูดซับคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-600 นาโนเมตร

3.1 ชนิดและโครงสร้างของคาร์โรทีนอยด์

Greenberg (1968) สามารถแบ่งคาร์โรทีนอยด์ออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีคือ คาโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll)

ก. คาโรทีน เป็นไฮโดรคาร์บอน ซึ่งประกอบไปด้วยอะตอมของคาร์บอนกับไฮโดรเจนเรียงตัวกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยว (single bonds) สลับกับพันธะคู่ (double bonds) และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองปลาย จะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงที่เรียกว่า ไอโอโนนริง (ionone ring) คาโรทีนส่วนใหญ่จะมีสีส้ม คาโรทีนที่สำคัญและเป็นที่รู้จักกันมากที่สุดคือ เบตา คาร์โรทีน (beta carotene) เพราะสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้

ข. แชนโทฟิล เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของคาโรทีน เป็นการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุลของคาโรทีน แชนโทฟิล พบทั่วไปในธรรมชาติ ในรูปอิสระ (free form) เอสเทอร์ (esters) หรือคาโรทีโนโปรตีน (carotenoproteins) แชนโทฟิลที่พบในสัตว์น้ำส่วนมาก ได้แก่ ลูทีน (lutein), ซีเอแซนทิน (zeaxanthin), แคนตาแซนทิน (canthaxanthin), แอสตาแซนทิน



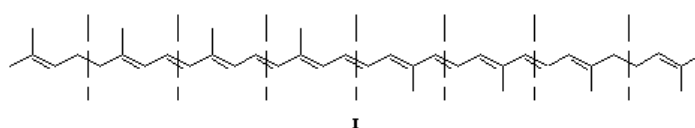
ภาพที่ 1 สารสีชนิดต่าง : Beta-carotene, Lutein, Zeaxanthin, Echinone, Canthaxanthin และ Astaxanthin

ที่มา : Johnson and Lewis (1979)

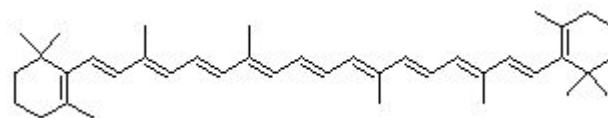
3.2 คุณสมบัติของคาร์โรทีนอยด์

คาร์โรทีนอยด์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจึงสามารถละลายในไขมันและตัวทำละลายไขมัน (lipid solvent) เช่น อะซิโตน (acetone) แอลกอฮอล์ (alcohol) ไดเอทิลอีเทอร์

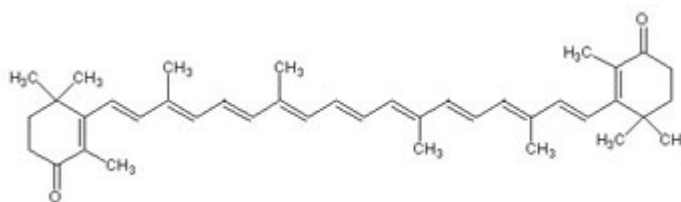
(diethylether) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (nonpolar solvent) เช่น ปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether) และ เฮกเซน (hexane) ยกเว้น คาร์โรทีนพวกที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated carotene) เช่น phytoene, phytofluene และ ξ - carotene ซึ่งไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วนี้ (Goodwin, 1984)



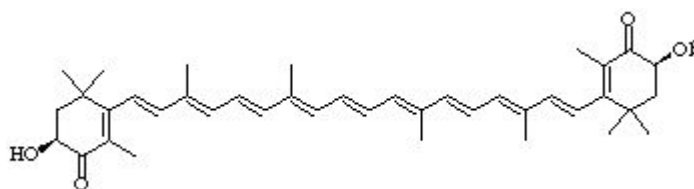
Acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene



Beta-carotene



Canthaxanthin



Astaxanthin

ภาพที่ 2 โครงสร้างของ Acyclic $C_{40}H_{56}$ Carotene, Beta-carotene, Canthaxanthin และ Astaxanthin
ที่มา : Plander (1992)

3.3 คาร์โรทีนอยต์ในสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำไม่สามารถสังเคราะห์คาร์โรทีนอยด์ได้ด้วยตัวเอง จึงต้องรับคาร์โรทีนอยด์ในรูปของอาหาร เมื่อผ่านขบวนการย่อยแล้วคาร์โรทีนอยด์จะถูกดูดซึมผ่านทางเดินอาหารร่วมกับ

ไขมันอื่นๆ ในรูปที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสภาพทางดินอาหารของสัตว์น้ำแต่ละชนิดคาร์โรทีนอยด์เหล่านี้จะสะสมอยู่ภายในร่างกายเป็นผลให้เกิดสีขึ้นในส่วนต่างๆ คาร์โรทีนอยด์ปรากฏอยู่ในสัตว์แทบทุกประเภท ตั้งแต่สัตว์ชั้นต่ำจนถึงสัตว์ชั้นสูง เช่น ในหอยไข่ม้วนของโคพีพอด (copepod) และแคพเนียบเพสผู้ (Fox, 1957) ในรังไข่ของหอยเชลล์ (scallop) ไข่เดือนทะเล ไฮดราบางชนิด (Fox and Vevers, 1960) ฟองน้ำทะเล (Goodwin, 1951) สิ่งมีชีวิตพวกโปรติสตา (Fox and Vevers, 1960) พวกเอไคโนเดอร์ม (echinoderm) ซึ่งได้แก่ หอยเม่น ปลิงทะเล และปลาดาว ในพวกหอยบางชนิด ในพวก กุ้ง ปู (Beuernfeind, 1981) แอมฟิพอด เพรียง (Beuernfeind, 1981 อ้างถึง Fox and Vevers, 1960) ส่วนในพวกแมลง พบคาร์โรทีนอยด์ในแมลงเลดีเบอร์ด ซึ่งเป็นแมลงปีกแข็ง (Fox and Vevers, 1960) ในรังของไหม (*Bombyx mori*) มีสารประกอบลูทีนซึ่งเป็นคาร์โรทีนอยด์ชนิดหนึ่งและสามารถสกัดออกมาได้ (Beuernfeind, 1981) นอกจากนี้ยังแยกคาร์โรทีนอยด์ได้จากสาหร่ายสีเขียว โดยตรวจพบเบต้าคาโรทีนในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ เอปซิลอนคาโรทีน (epsilon-carotene) (Nakayama, 1962) ส่วนแซนโทฟิลตรวจพบลูทีน, นีโอแซนทิน, ซีเอแซนทิน และไอโอลาแซนทิน (Beuernfeind, 1981)

Philip (1970) รายงานว่า แหล่งให้สีที่สกัดออกมาจำหน่ายเป็นการค้า ได้แก่ สาหร่ายและกลีบดอกไม้บางชนิด กลีบดอกดาวเรืองที่ได้จากเม็กซิโกเป็นแหล่งของแซนโทฟิลที่ดี กล่าวคือมีองค์ประกอบของคาร์โรทีนอยด์สูงกว่าที่พบในหญ้าขนแห้งถึง 30 เท่า Quackenbush and Miller, (1972) ได้ทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบของกลีบดอกดาวเรืองสดและแห้งพันธุ์ American marigolds (*Tagetes erecta*) ทั้งสีแดง สีทอง และสีเหลือง พบว่า มีปริมาณลูทีนสูง และรองลงมาคือ ซีเอแซนทิน ซึ่งสารทั้งสองอย่างรวมกันคิดเป็นร้อยละ 88-92 ของคาร์โรทีนอยด์ในกลีบดอกดาวเรือง ส่วนสารอื่น ๆ มีน้อยมาก ซึ่งตรงกับผลงานของ Alam และคณะ (1968) รายงานว่าในกลีบดอกดาวเรืองแห้ง (*Tagetes erecta*) มีลูทีนและซีเอแซนทินอยู่ 64.1 เปอร์เซ็นต์ แอนเทอราแซนทิน (antheraxanthin) 31.1 เปอร์เซ็นต์ และอัลฟา-คริฟโตแซนทิน 3.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคาร์โรทีนมีอยู่ในปริมาณน้อย เมื่อคิดเทียบจากปริมาณสารสีทั้งหมดที่สกัดได้ Quackenbush (1972) พบว่า คาร์โรทีนอยด์ในกลีบดอกดาวเรืองแห้งที่ใช้ทางการค้ามีอยู่ 14.016 กรัมต่อกิโลกรัม และส่วนใหญ่เป็นสารพวกไดไฮดร็อกซี พิกเมนต์ ซึ่งได้แก่ ลูทีน และซีเอแซนทิน ซึ่งมีอยู่ 13.833 กรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังสรุปต่อไปอีกว่า ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในแต่ละพันธุ์มีความผันแปรน้อยมาก และแซนโทฟิลในกลีบดอกดาวเรืองแห้งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเอสเทอร์ Livingston et al, (1973) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาโรทีนและแซนโทฟิลในกลีบดอกดาวเรืองแห้ง พบว่า มีคาโรทีนอยู่ 54.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าในคอร์น กลูเตน

(corn gluten) (63.36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และอัลฟาฟา (230.56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่มีแซนโทฟิลอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าคือ มีอยู่ 10.626 กรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเทียบกับคอร์น กลูเตน และอัลฟาฟา ซึ่งมี 363.88 และ 326.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับผลงานของ Bramblia *et al*, (1963) รายงานว่า กลีบดอกดาวเรืองแห้งมีแซนโทฟิลอยู่ 12.5 กรัมต่อกิโลกรัม และ Scott *et al*, (1967) พบว่า ปริมาณแซนโทฟิลในกลีบดอกดาวเรืองแห้งมีอยู่ 6,000-10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Boonyaratpalin (1975, อ้างถึง Prem and Tollin, 1964) รายงานว่าจากการสกัดเม็ดสีจากตาของยูกลีนา (*Euglena gracilis*) พบว่าคาร์โรทีนอยด์ส่วนใหญ่เป็น ลูทีน และ cryptoxanthin ส่วนในแพลงก์ตอนพืชชนิด *Senedesmus obliquus* และ *Chlorella vulgaris* ตรวจพบ loraxanthin ซึ่งเป็น คาร์โรทีนอยด์ ชนิดหนึ่ง Riley and Segar (1969) ทำการตรวจสอบรงควัตถุจากแพลงก์ตอนทะเล 20 ชนิด พบว่าเป็น alloxanthin, ลูทีน, fucoxanthin และ pteridine

Bauernfeind (1981) กล่าวว่า น้ำมันสีแดงที่ได้จากปลาบางชนิดเป็นแหล่งของแอสตาแซนทิน ได้แก่ น้ำมันจากปลาคาปิลิน (capelin) แม็กเคอเรล (mackerel) และปลาค็อด (cod) นอกจากนี้ในการเลี้ยงกุ้งและปลาแซลมอนเพื่อให้สีเข้มขึ้น จำเป็นต้องใช้น้ำมันปลาเหล่านี้ผสมลงในอาหารและให้กับปลาบ่อยๆ

Bauernfeind (1981) รายงานถึงการสกัดน้ำมันจากหัวกุ้ง *Penaeus setiferus* และนำไปผสมในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) พบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารนี้มีอัตราการรอด น้ำหนักเฉลี่ย ปริมาณไขมัน และปริมาณคาร์โรทีนอยด์ สูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารธรรมดา อีกทั้งมีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าด้วย นอกจากนี้ Bauernfeind (1981, อ้างถึง Tanaka *et al*, 1974) รายงานถึงการใช้คาร์โรทีนอยด์ที่สกัดจากข้าวโพด หล้าขน และสาหร่ายสไปรูลินา นำไปผสมอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้ง *Penaeus japonicus* พบว่า เกิดการสะสมของแอสตาแซนทินในตัวกุ้งเพิ่มขึ้นหลายเท่าตัว Choubert (1979) กล่าวว่าสาหร่ายสไปรูลินาเป็นแหล่งของ รงควัตถุที่ดีในการใช้เร่งสีปลา ซึ่งเมื่อแยกองค์ประกอบของคาร์โรทีนอยด์ในสาหร่ายชนิดนี้ พบว่าประกอบด้วย เบต้าคาโรทีน 26 เปอร์เซ็นต์, เบต้า-คาโรทีน -5-6-อีพ็อกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์, อิซิดิโนน 7 เปอร์เซ็นต์, คริปโตแซนทิน 23 เปอร์เซ็นต์, ซีเอแซนทิน 9 เปอร์เซ็นต์ รวมปริมาณของรงควัตถุเหล่านี้ประมาณ 1.7 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายสไปรูลินา

3.4 การสะสมคาร์โรทีนอยด์ในปลา

คาร์โรทีนอยด์ที่พบในปลาก็เหมือนกับที่พบในสัตว์อื่นๆ ส่วนใหญ่จะละลายในไขมัน โดยจะทำให้เกิด สีเหลือง ส้ม หรือแดง ในส่วนของไข่ อวัยวะสืบพันธุ์ ตับและผิวหนัง (Goodwin, 1951) ปลาที่มีการสะสม แชนโทฟิล มากกว่าคาร์โรทีนหรือไฮโรคาร์บอนตัวอื่นๆซึ่ง มักพบในรูปของ เตราแซนทีน, ลูทีน และ แอสตาแซนทีน (Steven, 1948; Goodwin, 1951; Fox, 1957)จากการตรวจเนื้อเยื่อและผิวหนังของปลา พบว่ามีส่วนประกอบของ เบตา คาร์โรทีน และ แชนโทฟิล รวมอยู่ด้วย (Steven, 1948; Goodwin, 1951) Bellamy (1966) รายงานว่า สี เหลืองและสีส้มที่เกิดบริเวณครีบของปลากระบอก (*Mugil cephalus*) ปลาซีกเดียว (*Solea vulgaris*) และปลาในกลุ่มปลากระรัง (*Serranus scriba*) เป็นสีที่เกิดจาก แชนโทฟิล เช่นกัน Crozier and Wilke (1966) ทำการวิเคราะห์ คาร์โรทีนอยด์จากผิวหนังของปลา *Apodichthys flavidus* Girard พบว่า ประกอบด้วย 3-3 ไคไฮดรอกซี แอพซิลอน-คาร์โรทีน ส่วนในกล้ามเนื้อ ของปลา ซ็อกอาย แซลมอน มีสีแดงเนื่องจากการสะสมของคาร์โรทีนอยด์ 2 ชนิด ซึ่งมี คุณสมบัติคล้ายแอสตาซิน (Bailey, 1937) Fox (1957) รายงานว่า พบรงควัตถุที่มีคุณสมบัติคล้าย ซีโอแซนทีนในไข่ปลา *Salmo irideus* และตรวจพบรงควัตถุที่คล้าย แอสตาแซนทีน ในส่วนของ ผิวหนังเนื้อ ตา ตับ และรังไข่ของปลา *Perca fluviatilis*

Greenberg (1968, อ้างถึง Schmidt-Nielsen *et al*, 1932) รายงานถึง เม็ดสีที่พบในเนื้อ ของปลา *Salmo salar* ในตับของปลา *Cyclopterus lumpus* และในน้ำมันสีแดงของปลาอาฟ ซึ่ง ปลาเหล่านี้ได้รับคาร์โรทีนอยด์มาจากอาหารและเปลี่ยนไปเป็นแอสตาแซนทีน

Macpherson (1933) ศึกษาความสัมพันธ์ของสีและทำการเปรียบเทียบปริมาณของวิตามิน เอในน้ำมันจากตับของปลาคอดที่มีอายุต่างกัน พบว่าน้ำมันจากตับปลาคอด ที่มีอายุน้อยจะมีสีจาง และวิตามินเอต่ำ ส่วนในปลาคอดที่มีอายุมากขึ้น ตับจะมีสีเข้มขึ้น และมีวิตามินเอสูงตามไปด้วย

Bauernfeind (1981) รายงานว่า ปลาในกลุ่ม แซลมอนได้แก่ *Salmon fario* และ *Scumbla* ที่ได้รับอาหารพวกแอมฟิพอดจะมีการสะสมคาร์โรทีนอยด์ที่ผิวหนังและทำให้เกิดจุดสี แดงที่บริเวณครีบ แต่ถ้าให้อาหารเป็นพวกหนอน annelid ปรากฏว่าไม่ทำให้เกิดสีขึ้น Macwalter และ Drummond (1933) รายงานว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในรังไข่ของปลาบราวน์เทร้าและปลา เรนโบว์เทร้า จะจางหายไปในช่วงการเจริญของคัพภะ ขณะเดียวกันวิตามินเอก็จะเพิ่มขึ้นด้วย

Steven (1947) รายงานว่าที่ผิวหนังของปลา *Salmo trutta* มีองค์ประกอบของคาร์โรทีนอยด์ 2 ชนิด คือ ลูทีน และ แอสตาแซนทิน ส่วนของผิวหนังที่มีสีเหลืองพบ ลูทีน ในปริมาณ 80 ถึง 120 ไมโครกรัมต่อกรัม และมี แอสตาแซนทิน อยู่บ้างเล็กน้อย จากการตรวจที่ส่วนปลายของครีบไขมัน ซึ่งมีสีแดงและจุดสีแดงที่ผิวหนังพบ ลูทีน ปริมาณ 300 ไมโครกรัมต่อกรัม และ แอสตาแซนทิน 1,600 ไมโครกรัมต่อกรัม ต่อมา Steven (1948) ตรวจพบคาร์โรทีนอยด์ในรูปของเอสเทอร์ที่ผิวหนังและครีบของปลาเทราท์ที่จับได้จากธรรมชาติ พบว่าเป็น ลูทีน และ แอสตาแซนทิน

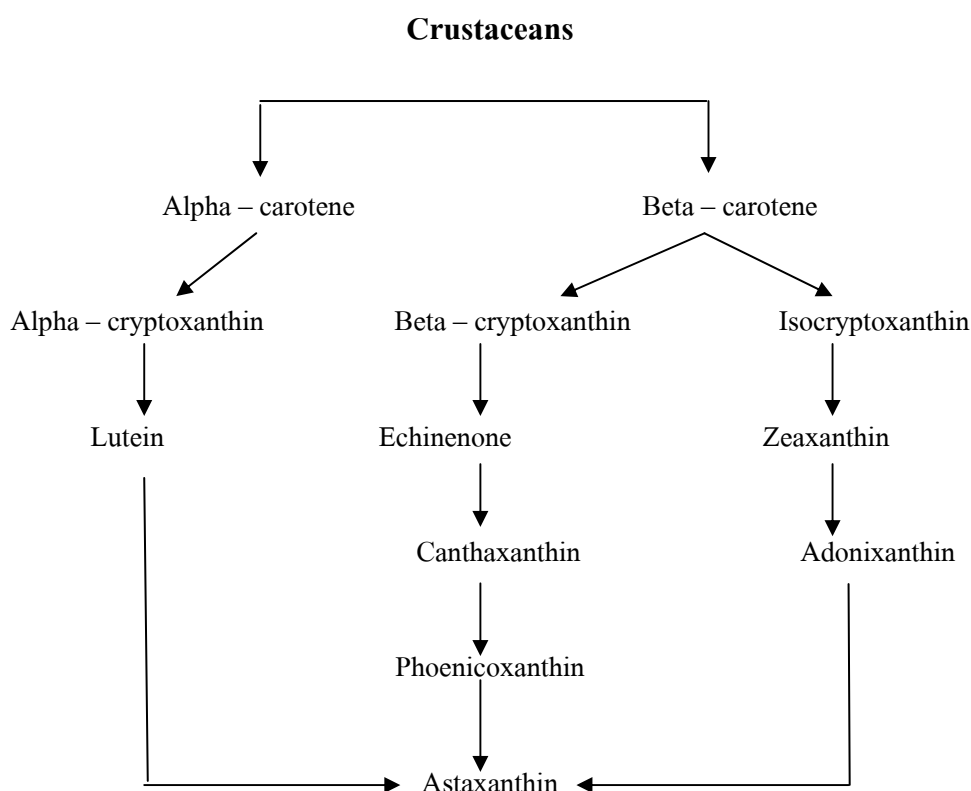
Sumner and Fox (1933;1935a;b); Fox (1936); Young และ Fox (1936) ศึกษาคาร์โรทีนอยด์ในปลา 5 ชนิด คือ *Fundulus parvipinnis*, *Girella nigricans*, *Gillichthys mirabilis*, *Cymatogaster aggregatus* และ *Hypsypops rubicunda* พบว่าปลาเหล่านี้มีการสะสม แชนโทฟิลในรูปของเอสเทอร์โดยจะสะสมในส่วนของผิวหนัง เกล็ด ครีบ และกระดูกส่วนหน้า ครั้นถึงช่วงสืบพันธุ์วางไข่ คาร์โรทีนอยด์ จะเคลื่อนไปสะสมที่อวัยวะสืบพันธุ์

Katayama *et al*, (1972) สามารถแยกสารประกอบ ลูทีน, เบตา คาร์โรทีน, แอสตาแซนทิน และ อัลฟา-โครราดิแซลทิน จากปลาทอง เมื่อพิจารณาจากสูตรโครงสร้างของคาร์โรทีนอยด์ที่แยกได้ พบว่า แอสตาแซนทิน ได้มาจากการเปลี่ยนแปลงของ ลูทีน และ อัลฟา-โครราดิแซลทิน โดยขบวนการออกซิเดชันและไอโซเมอไรเซชัน ซึ่งต่อมา Bauernfeind (1981) ยืนยันรายงานดังกล่าวนี้โดยใช้คาร์บอนกัมมันตรังสีผสมในอาหาร แล้วนำไปเลี้ยงปลาทองเป็นเวลา 4 วัน จากนั้น เปลี่ยนมาเลี้ยงด้วยอาหารธรรมดาเป็นเวลา 4 วัน เมื่อวิเคราะห์กัวดูล์ในปลา พบว่าคาร์บอนกัมมันตรังสีไปปรากฏที่ แอสตาแซนทิน และ อัลฟา-โครราดิแซลทิน ต่อมา Katayama *et al*, (1972) ทดลองให้อาหารที่มี เบตา คาร์โรทีน ซึ่งมีคาร์บอนกัมมันตรังสีกับปลาชิบริม (*Chrysohrys major*) และปลาเรดชิบริม (*Erythrin japonica*) พบว่าต่อมามีการสะสมของ แอสตาแซนทิน ในปลาทั้งสองชนิดนี้

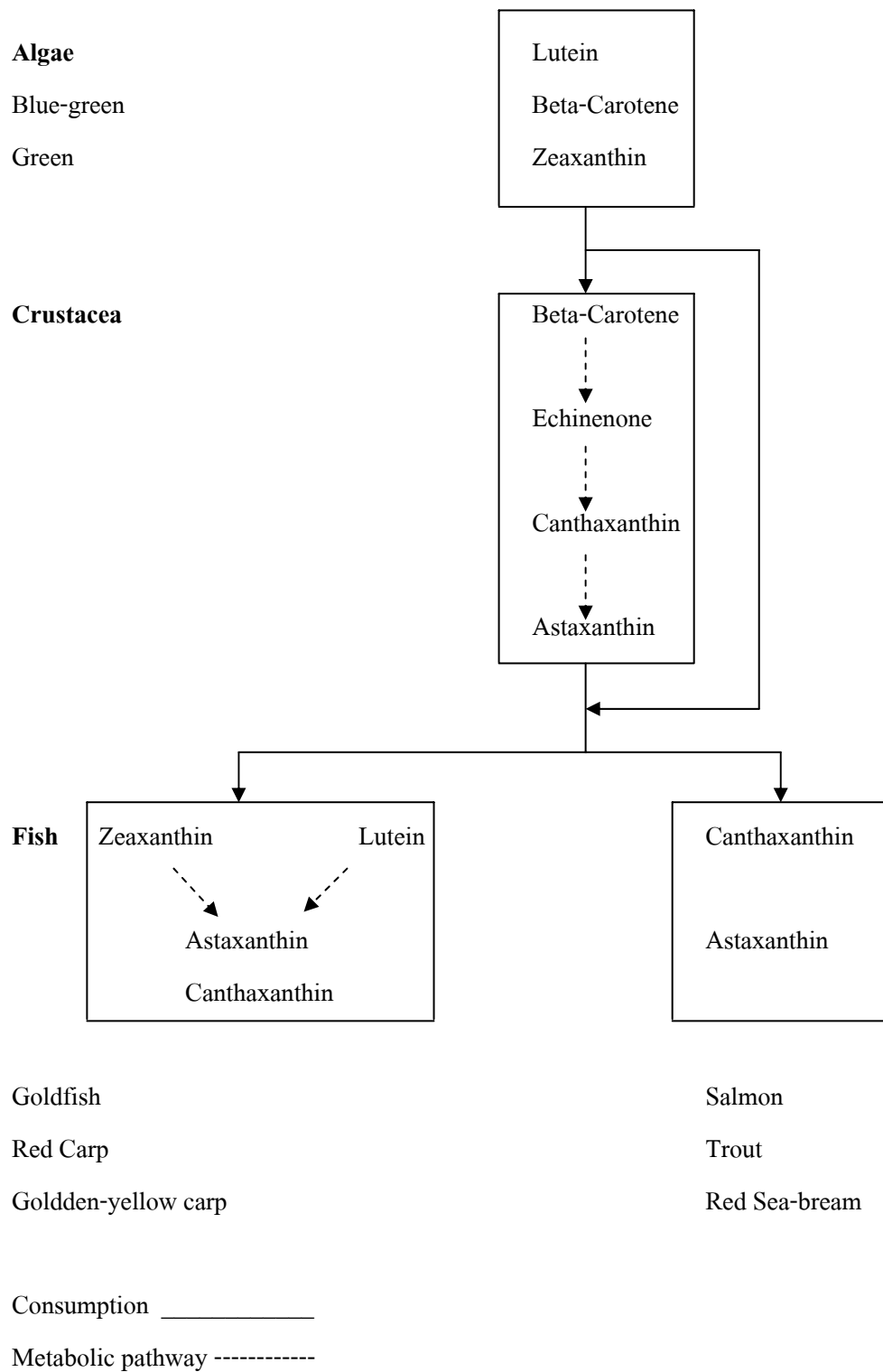
พวกครัสตาเซีย สามารถออกซิไดซ์ปลาย 3,3 และปลาย 4,4' ของวงแหวนไอโอโนนริงของ คาร์โรทีน ทำให้มันสามารถเปลี่ยน เบตา คาร์โรทีน, ซีเอแซนทินและ คาร์โรทีน อื่นๆ ให้อยู่ในรูปของ แอสตาแซนทิน (ภาพที่ 3) (Latscha, 1990)

พวกปลากินพืช (herbivorous fish) เช่น ปลาตะกวดคาร์พสามารถออกซิไดซ์ปลาย 4,4' ของวงแหวนไอโอโนนริง ของ คาร์โรทีน ทำให้มันสามารถเปลี่ยนซีเอแซนทินและ ลูทีน ให้ อยู่ในรูปของ แอสตาแซนทิน (ภาพที่ 4) (Latscha, 1990)

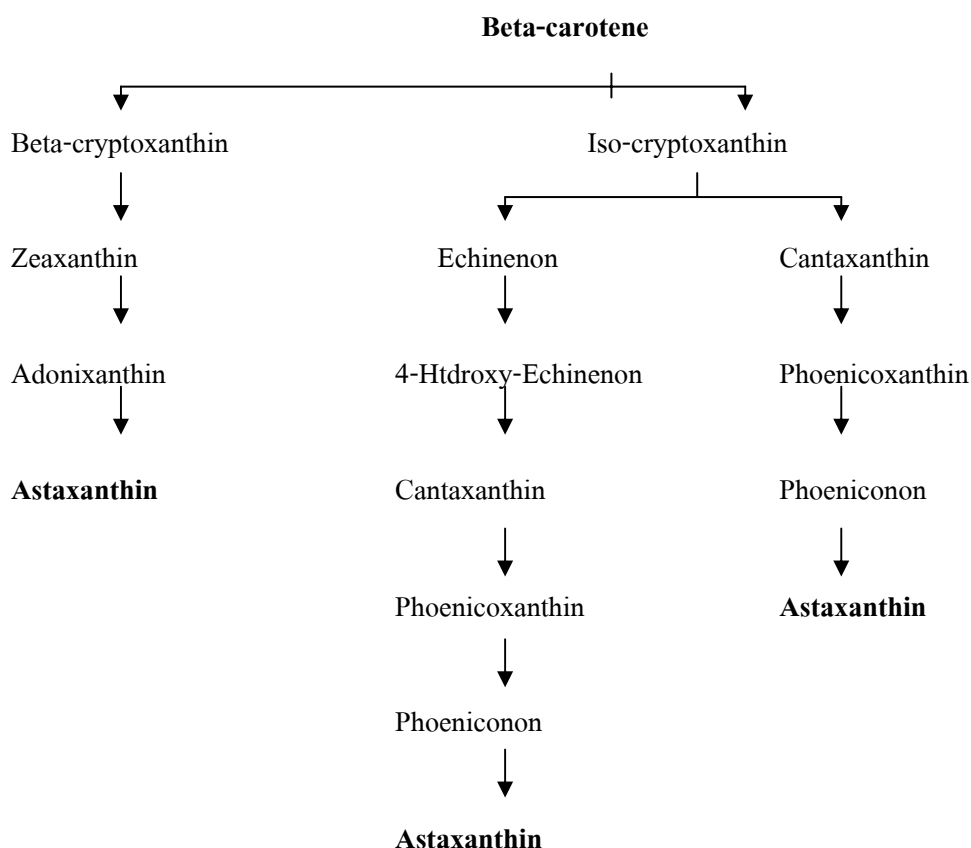
พวกปลากินเนื้อ (carnivorous fish) เช่น ในครอบครัว salmonidae ไม่สามารถ ออกซิไดซ์วงแหวนไอโอโนนริง จึงสะสม คาร์โรทีน และ แซนโทฟิล เช่น ลูทีน, ซีเอแซนทิน และ แคนตาแซนทิน โดยไม่เปลี่ยนรูป สำหรับ แอสตาแซนทิน เมื่อได้รับเข้ามาแล้วสามารถเปลี่ยนให้ อยู่ในรูปของซีเอแซนทินและ ลูทีน ได้โดยขบวนการย่อย (ภาพที่ 4) (Latscha, 1990)



ภาพที่ 3 ขบวนการเมแทบอลิซึม และการเปลี่ยนแปลงคาร์โรทีนอยด์ ในสัตว์พวก Crustaceans
ที่มา : Latscha(1990)



ภาพที่ 4 ความสามารถในการสังเคราะห์สารแอสตาแซนทินในสัตว์กลุ่มต่างๆ
ที่มา : Latscha (1990)



ภาพที่ 5 Partway การเปลี่ยน Beta-carotene , Zeaxanthin และ Cantaxanthin เป็น Astaxanthin
ที่มา : Lastcha (1991)

3.5 แหล่งของคาร์โรทีนอยด์

3.5.1 สังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีทางเคมี

ปัจจุบันมีบริษัทที่ผลิตแอสตาแซนทินขึ้นหลายบริษัท เช่น บริษัท F. Hoffmann-LaRoche&Co Ltd. ที่ผลิตเฉพาะออกทรานส์แอสตาแซนทิน(all-*trans* astaxanthin) ซึ่งได้รับการอนุมัติจากหน่วยงานอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาแซลมอน แต่เมื่อพิจารณาถึงแนวโน้มการบริโภคในปัจจุบันพบว่า ผู้คนส่วนใหญ่เริ่มมีความระมัดระวังในการบริโภคอาหารที่มีสารสังเคราะห์เจือปน (food additive) ดังนั้นการใช้แอสตาแซนทินที่ได้จากธรรมชาติน่าจะปลอดภัยและได้รับความไว้วางใจจากผู้บริโภคมากกว่า นอกจากนั้น แอสตาแซนทินที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีนั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน จึงทำให้ราคาแพงมากโดยแอสตาแซนทินที่มีความเข้มข้น 5-10 เปอร์เซ็นต์ มีราคาสูงถึง 500 เหรียญสหรัฐต่อ

กิโลกรัมและเมื่อนำไปผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สัตว์จะดูดซึมได้ไม่เท่ากับคาร์โรทีนอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ (Johnson and Schroeder, 1995)

3.5.2 สังเคราะห์ขึ้นในธรรมชาติ

แอสตาแซนทีนที่มีในธรรมชาติมักจะอยู่ในรูป carotenoid protein complex ซึ่งมีสีต่างๆ มากมายจากเหลืองถึงแดง น้ำเงิน เขียว น้ำตาล เป็นต้น แอสตาแซนทีนที่อยู่ในรูป carotenolipo (glyco) protein จะแทรกอยู่ในส่วนของไขมัน เช่น ไข่ของ crustacean แต่ในแอสตาแซนทีนที่อยู่ในรูป carotenoprotein จะต่ออยู่กับโปรตีนโดยไม่ใช้พันธะโคเวเลนต์ แอสตาแซนทีนที่อยู่ในรูป คาร์โรทีโนโปรตีน ที่รู้จักดีที่สุดคือ รังควัตถุสีน้ำเงินของ crustacyanin (Zagalsky and Jones, 1982; Renström *et al.*, 1982) รังควัตถุสีเขียวของ ovoverdin (Renström *et al.*, 1982; Ceccalde *et al.*, 1996) จากกุ้งมังกร(lobster)(Zagalsky, 1982)

3.5.3 แหล่งจากพืชและสัตว์

การสำรวจของ Goodwin(1984) พบว่ามีการสะสมของแอสตาแซนทีนที่อยู่ในปีกและตาของแมลงจำพวกตั๊กแตน ส่วนในสัตว์จำพวก crustacean จะพบแอสตาแซนทีนสะสมที่เปลือก ระบบสืบพันธุ์ ระบบย่อยอาหาร และไข่ ส่วนดาวทะเลจะมีการสะสมแอสตาแซนทีนจำนวนมากที่เปลือก ในปลาแอสตาแซนทีนจะมีการสะสมมากที่ผิวหนังและเกล็ดของปลาทองส่วนปลาเซลมอนและปลาเทราท์จะสะสมมากในเนื้อทำให้เห็นเนื้อเป็นสีส้มแดงและบางครั้งจะพบในตับและน้ำมันของปลาวาฬ ในนกจะมีการสะสมแอสตาแซนทีนที่ขน เช่นนก สการ์เลต, โอบิส, ฟลามิงโก ส่วนในไก่จะสะสมที่บริเวณผิวหนัง และตา ในพืช *Adonis annua* จะพบแอสตาแซนทีนที่กลีบดอก (Goodwin, 1984)

3.5.4 แหล่งจากจุลินทรีย์

3.5.4.1 ยีสต์และรา

Arpin *et al.*, (1966) รายงานว่าพบแอสตาแซนทีนในยีสต์สกุล *Peniophora* (Hymenomyeetes) *Phaffia rhodozyma* คือสายพันธุ์เดียวของยีสต์ที่สามารถสร้าง

แอสตาแซนทินได้โดย Johnson and Lewis (1979) ได้ทดลองเลี้ยง *Phaffia rhodozyma* ใน standard medium พบว่าการเจริญจะหยุดเมื่อกลูโคสหมด แต่การสร้างแอสตาแซนทินจะยังคงสร้างต่อไป และที่พีเอช 4.5 นั้นจะเหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างแอสตาแซนทินของยีสต์ ส่วนแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการสร้างแอสตาแซนทิน คือ cellulobiose โดยที่ cellulobiose จะใช้ได้เฉพาะในสถานะที่มีอากาศเท่านั้นซึ่งต่างกับแหล่งคาร์บอนอื่นๆ สำหรับแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญและการสร้างคาร์โรทีนอยด์ค่อนข้างจะจำกัดมาก

3.5.4.2 แบคทีเรีย

Mycobacterium lacticola เป็นแบคทีเรียชนิดแรกที่มีรายงานว่าสามารถสร้างแอสตาแซนทินในอาหารที่มีสารไฮโดรคาร์บอนได้ แต่เชื่อว่าจะไม่สร้างแอสตาแซนทินในอาหาร nutrient agar (Hass and Bushnell, 1944)

Brevibacterium sp. เป็นแบคทีเรียชนิดที่สองที่พบว่าสามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างแอสตาแซนทินได้ ส่วนใน mineral medium ที่มี kerosene เข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตเซลล์ 3 กรัมต่อลิตร ในขณะที่มีการสร้างแอสตาแซนทิน เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (Iizuka and Nishimura, 1969)

Halobacteria salinarium เป็นแบคทีเรียชนิดที่สามารถสร้างรงควัตถุชนิด ketocarotenoid โดยคิดเป็นคาร์โรทีนอยด์รวมเท่ากับ 2400 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีทรานส์-แอสตาแซนทินอยู่ 265 ไมโครกรัม คิดเป็น 11 เปอร์เซ็นต์ และมี 3-hydroxy-echinenone อยู่ 588 ไมโครกรัม คิดเป็น 24 เปอร์เซ็นต์ (Calo *et al.*, 1995)

3.5.5 แหล่งจากสาหร่าย

สาหร่ายที่สามารถสร้างแอสตาแซนทินได้มีดังนี้ *Ankistrodesmus braunii*, *Euglena saguiana* (Borowitzka, 1989), *Euglena rubina* (Czeezuga, 1974), *Chlorella fusa*, *Chlorella zofingiensis* (Borowitzka, 1989), *Chlamydomonas nivalis* (Czygan, 1968), *Neosporiococcum sp.* (Borowitzka, 1989), *Neochloris wimmeri* (Brown *et al.*, 1976), *Sporiochloris typical*

(Borowitzka, 1989) และ *Haematococcus* sp. (Droop, 1955) ซึ่งสาหร่ายแต่ละชนิดสามารถสร้างแอสตาแซนทีนได้ในสภาวะที่แตกต่างกัน

3.6 หน้าที่หลักของ แอสตาแซนทีน

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมา สามารถสรุปถึงหน้าที่ของแอสตาแซนทีนได้ดังนี้

3.6.1 ทำหน้าที่ในการเกิดสี (pigmentation)

Storebakken *et al.* (1986) ศึกษาการใช้คาร์โรทีนอยด์เพื่อเพิ่มคุณภาพของสีเนื้อปลา Atlantic salmon โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ แอสตาแซนทีน, แอสตาแซนทีน ไดปาลมิเตต และ แคนตาแซนทีน ที่ระดับ 0, 30, 60 และ 90 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทดลองผสมในอาหารให้ปลากินเป็นเวลา 56 สัปดาห์ อาหารที่ใช้ในกลุ่มควบคุมเป็นอาหารสำเร็จรูปที่มีปริมาณ คาร์โรทีนอยด์ มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่วน แคนตาแซนทีน จะใช้ carophyll red (10%) ที่มีขายในท้องตลาด การวิเคราะห์สีจะให้คะแนนด้วยตาเปล่า โดย 0 หมายถึงไม่มีสี และ 8 หมายถึงแดงที่สุด พบว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์ที่ตรวจพบในปริมาณมากมีผลทำให้สีที่มองเห็นเพิ่มมากขึ้นด้วย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างคาร์โรทีนอยด์แต่ละชนิดพบว่า แอสตาแซนทีน ทำให้เนื้อปลามีสีแดงมากที่สุด รองลงมาคือ แคนตาแซนทีน และ แอสตาแซนทีน ไดปาลมิเตต ตามลำดับ และปริมาณคาร์โรทีนอยด์ที่พบในกล้ามเนื้อก็จะมีความสัมพันธ์เช่นเดียวกัน ส่วนที่ผิวหนังจะพบปริมาณ แคนตาแซนทีน มากกว่า แอสตาแซนทีน การทดลองนี้ แสดงว่า แอสตาแซนทีน มีการดูดซึมและสะสมดีกว่าคาร์โรทีนอยด์ทั้ง 2 ชนิด ซึ่งการทดลอง (Storebakken *et al.*, 1987) ได้ผลเช่นเดียวกับ Torrissen (1986) ที่ทำการเปรียบเทียบการดูดซึมและการตกค้างในกล้ามเนื้อของ แอสตาแซนทีน และ แคนตาแซนทีน โดยใช้ แคนตาแซนทีน 48 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และ แอสตาแซนทีน 27 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สุ่มตรวจปริมาณ แอสตาแซนทีน ในกล้ามเนื้อ พบว่ามีปริมาณมากกว่า แคนตาแซนทีน และปลายังมีน้ำหนักมากขึ้นจะมีการดูดซึม แอสตาแซนทีน ที่บริเวณ pylorus มากที่สุด จากผลที่ได้มีส่วนที่คล้ายคลึงกันตรงที่ปลาจะมีการดูดซึม แอสตาแซนทีน ได้รวดเร็วกว่า แคนตาแซนทีน

ปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายได้โดยขบวนการสังเคราะห์ (biosynthesis) ของคาร์โรทีนอยด์ โดยคาร์โรทีนอยด์ที่มีอยู่ในธรรมชาติจะมีอยู่หลายรูปแบบ ซึ่งเมื่อสัตว์นำพวกปลาและกุ้ง

กินเข้าไปจะผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างต่างๆ ให้อยู่ในรูป แอสตาแซนทิน แล้วดูดซึมเข้ากล้ามเนื้อ (D'Abramo *et al.*, 1983) เพราะฉะนั้นการให้คาร์โรทีนอยด์ในรูปแอสตาแซนทินจะสามารถดูดซึมได้เร็วกว่าแคนตาแซนทินและคุณสมบัติในการรวมตัวกับลิพิดโปรตีนที่ดีกว่าของแอสตาแซนทินทำให้มีการตกค้างในกล้ามเนื้อมากกว่าด้วย ดังนั้นการใช้แอสตาแซนทินจึงให้ผลดีกว่าการใช้แคนตาแซนทิน

3.6.2. หน้าที่ทางสรีรวิทยา (Physiological Function)

จากการศึกษาปลาในธรรมชาติพบว่า ปลาที่จะเริ่มมีการสะสมคาร์โรทีนอยด์มากในช่วงก่อนวางไข่ แอสตาแซนทิน และ แคนตาแซนทิน จะมีการถ่ายทอดมาจากรังไข่ของเพศเมีย ส่วนในเพศผู้ก็จะมีการสะสมคาร์โรทีนอยด์เพื่อเพิ่มสีที่ผิวหนังในช่วงสืบพันธุ์ เพื่อเป็นการดึงดูดความสนใจจากเพศเมีย และยังพบการสะสมคาร์โรทีนอยด์ที่ผิวหนังและตับด้วย คาร์โรทีนอยด์นอกจากจะมีบทบาทในการเป็นโปรวิตามิน เอ แล้ว ยังมีบทบาทสำคัญที่ทำให้การพัฒนาของปลาในระยะวัยอ่อนเป็นไปอย่างปกติ มีรายงานว่า แอสตาแซนทิน ที่พบในไข่จะทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนในการกระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิของปลาเรนโบว์เทราต์ นอกจากนี้ยังทำให้เชื้ออสุจิของปลาเกิดพฤติกรรม chemotaxis เพิ่มขึ้น มีรายงานว่าการใช้ แอสตาแซนทิน เสริมในอาหารจะสามารถเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราสมบูรณ์เพศและความดกของไข่ในปลาเรนโบว์เทราต์ และมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับเม็ดสีของไข่กับอัตราการตายในช่วงพัฒนาตัวอ่อน โดยจะทำให้ตัวอ่อนมีความทนทานต่อสภาพที่มีออกซิเจนต่ำ อุณหภูมิ และแอมโมเนีย ในระดับสูงๆ ได้ดี (Tacon, 1981) นอกจากนี้ Torrisen and Christiansen (1994, อ้างถึง Bendich, 1989) รายงานว่าคาร์โรทีนอยด์มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

4. การเสริมคาร์โรทีนอยด์ในอาหารเพื่อเร่งสีสัตว์น้ำ

สีของปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ มีความสำคัญต่อผู้บริโภคไม่แพ้ขนาดและรูปร่างของมัน ดังนั้น ผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงพยายามผลิตอาหารที่มีส่วนผสมของคาร์โรทีนอยด์เพื่อเร่งสีของสัตว์น้ำ ซึ่งจะทำให้สามารถจำหน่ายได้ในราคาสูงขึ้น การจะเลือกใช้คาร์โรทีนอยด์ชนิดใดต้องพิจารณาถึงชนิดของสัตว์น้ำด้วย ทั้งนี้เพราะสัตว์น้ำต่างชนิดกันจะมีความสามารถ ในการเปลี่ยนและสะสมคาร์โรทีนอยด์ได้ต่างกัน

มะลิและคณะ (2537) ทดลองศึกษาผลการเสริมแคนตาแซนทินและแอสตาแซนทิน ระดับต่างๆในอาหารต่อสีของกุ้งกุลาดำ ด้วยอาหารทดลอง 6 สูตร คือ สูตรควบคุมเป็นสูตรที่ไม่เสริมสารรงควัตถุใดๆ สูตร 1 และ 2 เสริมแคนตาแซนทินที่ระดับ 50 และ 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ส่วนสูตร 3, 4 และ 5 เสริมแอสตาแซนทิน ที่ระดับ 25, 50 และ 75 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ทดลองเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่าแคนตาแซนทินและแอสตาแซนทิน ช่วยปรับปรุงสีกุ้งกุลาดำและช่วยให้กุ้งสีฟาดจางลงโดยแอสตาแซนทินมีประสิทธิภาพสูงกว่าแคนตาแซนทิน ประมาณ 2.8 เท่า และมีการสะสมในเนื้อเยื่อเป็นส่วนใหญ่ การเสริมรงควัตถุทั้งสองชนิดนี้ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ยังพบว่าถ้าเสริมแอสตาแซนทิน 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงกุ้งเพียง 4 สัปดาห์ ก็เพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งมีสีตามที่ตลาดต้องการ

บานชื่น (2532) ทดลองเลี้ยงปลาดุกอุยด้วยอาหารที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองสด (*Spirulina* sp.) ที่ระดับ 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เพื่อศึกษาสีของเนื้อปลาดุกอุย พบว่าสีของเนื้อปลาดุกอุยจะเข้มขึ้น หากใช้สาหร่ายเกลียวทองสดผสมในอาหารปริมาณตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ความเข้มของสีเนื้อปลาจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสาหร่ายเกลียวทองและระยะเวลาที่เลี้ยง

วุฒิพร (2527) ทดลองหาแหล่งคาร์โรทีนอยด์ในการเร่งสีปลาแฟนซีคาร์พ โดยผสมรงควัตถุจากแหล่งต่างๆจากอาหาร ได้แก่ สาหร่ายสไปรูลินา กุ้งป่น คาร์โรทีล เรด, หอยแมลงภู่, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์เทอร์คอต, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์ไซเวอร์เรียนและฟักทอง พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 10 เปอร์เซ็นต์ มีสีเข้มที่สุด ปลาที่รับอาหารเสริมกลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์เทอร์คอต 1 เปอร์เซ็นต์ และกลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์ไซเวอร์เรียน 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลรองลงมา ส่วนอาหารเสริมคาร์โรทีนอยด์จากแหล่งอื่นๆ ได้แก่ หอยแมลงภู่, กุ้งป่น, ฟักทอง และอาหารสูตรพื้นฐาน ให้ผลของความเข้มของสีปลาน้อยมาก รงควัตถุในอาหารทดลองแต่ละสูตรไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์พและได้ทดลองหาปริมาณคาร์โรทีนอยด์ที่เหมาะสมในการเร่งสีปลา โดยใช้สาหร่ายสไปรูลินา, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์เทอร์คอต, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์ไซเวอร์เรียน 3 ระดับ คือ 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ผลลงในอาหาร พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 15 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มของสีมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองอื่นๆ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมคาร์โรทีนอยด์จากแหล่ง

อื่นในทุกระดับมีความเข้มข้นของสีต่างกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรพื้นฐานแต่ไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง

Katyama *et al.*, (1972) รายงานถึงการเร่งสีในสัตว์น้ำ 3 กลุ่ม ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ

กลุ่มที่ 1 ปลาทอง ปลาการ์ฟสีแดง และปลาแฟนซีการ์ฟสีแดง ความเข้มข้นของสีปลาเหล่านี้สามารถทำให้ดีขึ้นได้โดยการผสมคาร์โรทีนอยด์บริสุทธิ์ลงในอาหารปริมาณ 1-4 เปอร์เซ็นต์ คาร์โรทีนอยด์ที่ใช้ได้แก่ ซีเอแซนทิน, ลูทีน, แคนตาแซนทิน และ แอสตาแซนทิน นอกจากนี้ อาจใช้สารหยาบสไปรูไลนา ซึ่งมีคาร์โรทีนอยด์หลักคือซีเอแซนทินและกลีบดอกดาวเรือง ซึ่งมี ลูทีน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญผสมในอาหารก็ได้

กลุ่มที่ 2 สัตว์จำพวกกุ้งและปูที่มี แอสตาแซนทิน เป็นคาร์โรทีนอยด์หลัก สีของสัตว์น้ำเหล่านี้สามารถเร่งให้เข้มข้นได้โดยการผสมคาร์โรทีนอยด์บริสุทธิ์ 1-3 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร คาร์โรทีนอยด์ ที่ใช้ ได้แก่ เบตา คาร์โรทีน, แอสตาแซนทิน, แคนตาแซนทิน และซีเอแซนทิน หรืออาจใช้สารหยาบสไปรูไลนาในปริมาณเท่ากันผสมในอาหารก็จะให้ผลเช่นเดียวกัน

กลุ่มที่ 3 ปลากลุ่ม แซลมอนิคและ ซิบริมให้ผสม ทุน่าแซนทิน-ลูทีน-ซีเอแซนทิน-แอสตาแซนทิน ในอัตราส่วน 2:1:1:6 ลงในอาหารซึ่งจะมีผลทำให้ปลาที่เลี้ยงมีสีเข้มเท่าสีปลาในธรรมชาติ Bauernfeind (1981) เสนอแนะว่า หากต้องการเร่งสีปลาเทร้าและปลาแซลมอลให้เข้มข้น ต้องผสม แอสตาแซนทินในปริมาณ 20 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม เป็นเวลา 2-4 เดือน หรืออาจใช้ แคนตาแซนทินในปริมาณ 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม ในระยะเวลาที่เท่ากันในการใช้คาร์โรทีนอยด์ผสมในอาหารเพื่อเร่งสีของปลา สิ่งที่ต้องพิจารณาควบคู่กันไป คือ อายุและชนิดของปลา อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมอื่นๆ รวมถึงปริมาณไขมันในอาหารก็มีความสำคัญเช่นกัน

Peterson *et al.*, (1966) พบว่า ลูทีน ที่ผสมลงไปในการอาหารของปลาเทร้าจะสะสมในเนื้อปลาโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังพบว่ามีการสะสมของคาร์โรทีนอยด์ได้แก่ ที่บริเวณผิวหนัง ไข่ ตับ และเนื้อ (Saito and Regier, 1971; Schmidt and Baker, 1969) Bauernfeind (1981) อ้างถึง Hata and Hata (1975) รายงานการทดลองใช้ เบตา คาร์โรทีน, ลู

ทิน และ ซีเอแซนทิน ที่มีคาร์บอนกัมมันตรังสีผสมลงในอาหารของปลาเรนโบว์เทราหลังจากเลี้ยงปลาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก็สามารถตรวจพบคาร์โรทีนอยด์ทั้งสามชนิดนี้ที่ผิวหนัง เนื้อ ตับ และระบบทางเดินอาหาร จากการทดลองนี้ สรุปได้ว่า ปลาเทราสามารถเปลี่ยนรงควัตถุเหล่านี้ไปเป็นแอสดาแซนทินได้น้อยมาก และหากทดลองให้ปลาเทรากินอาหารพวกเนื้อสัตว์ พบว่าสีเหลืองและสีแดงที่ตัวปลาจะจางหายไปอย่างรวดเร็ว หากเปลี่ยนมาเลี้ยงปลาด้วยอาหารที่เป็นแหล่งของคาร์โรทีนอยด์ ได้แก่ *Simocephalus*, *Daphnia* และ *Corethra* จะทำให้สีปลาเข้มขึ้นเหมือนเดิม

Saito and Regier (1971) ทดลองให้อาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกกุ้ง 20 เปอร์เซ็นต์ และเปลือกปู 30 เปอร์เซ็นต์ แก่ปลา บรุค เทรา เปรียบเทียบกับอาหารที่มีส่วนผสมของแคนดาแซนทิน บริสุทธิ์ 0.004 เปอร์เซ็นต์ โดยเลี้ยงปลาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสม แคนดาแซนทิน บริสุทธิ์มีการสะสมของคาร์โรทีนอยด์ที่เนื้อและผิวหนังมากที่สุด แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกกุ้งและเปลือกปู ให้สีเป็นที่ต้องการของตลาดมากที่สุด

Bauernfeind (1981) รายงานว่าส่วนของหัวและเปลือกแข็งของกุ้งจัดว่าเป็นแหล่งของคาร์โรทีนอยด์ที่ดี แต่ต้องระวังในเรื่องของอุณหภูมิ แสงสว่าง และออกซิเจน ในระหว่างขบวนการผลิต

Meyers and Rutledge(1971) พบว่า หากนำส่วนดังกล่าวของกุ้งมาทำให้แห้ง โดยผ่านสุญญากาศ แล้วนำมาผสมในอาหารเลี้ยงปลาจะทำให้สีและรสชาติของปลานั้นดีขึ้น แต่ถ้าทำให้แห้งโดยใช้อุณหภูมิสูงจะใช้ในการเร่งสีไม่ได้ผล

Lambertsen and Braekkan (1971) เสริมว่าแอสดาแซนทินที่ตรวจพบในกุ้งป่นที่จำหน่ายทางการค้ามีปริมาณต่ำ แต่เปลือกกุ้งที่ผ่านการทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศจะมีปริมาณแอสดาแซนทินมากกว่ากุ้งป่นถึง 3 เท่า เมื่อนำปูชนิด *Pleuroncodes planopes* มาทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนสูง พบว่าจะสูญเสียคาร์โรทีนอยด์ไปมากเช่นกัน (Bauernfeind, 1981)

Spinelli *et al.*, (1974) เตรียมอาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกปูชนิดนี้ในปริมาณ 10 และ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยทดลองกับปลาเรนโบว์เทราอายุ 7 เดือน เป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกปูทั้งสองสูตรนี้ มีความเข้มของสีเท่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกกุ้ง 25 เปอร์เซ็นต์

Ellis (1979) รายงานว่า ปลา โคโฮแซลมอน ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของเปลือกกุ้ง 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8-12 สัปดาห์ จะมีสีเข้มคล้ายคลึงกับปลาธรรมชาติ ส่วนปลาเทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของคาร์โรทีนอยด์สกัดในปริมาณ 107 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 ปอนด์ โดยที่คาร์โรทีนอยด์นี้สกัดได้จากพริกจะแสดงความเข้มของสีภายในเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งคาร์โรทีนอยด์ในพริกประกอบด้วย เบตา คาร์โรทีน, คริปโตแซนทิน และซีเอแซนทิน (De la Mar และ Francis, 1969)

Bauernfeind (1981) รายงานถึงการให้ ลูทีน ที่สกัดได้จากกลีบดอกดาวเรืองแห้งผสมในอาหารของปลา บรูค เทราท์ ในปริมาณ 200 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 ปอนด์ พบว่าทำให้เกิดสีเหลืองตามธรรมชาติภายใน 2-4 สัปดาห์ ซึ่งคาร์โรทีนอยด์ชนิดนี้ พบได้ในสาหร่ายและเป็นตัวทำให้เกิดสีเหลืองในปลา

Fox and Vevers (1960) กล่าวถึงการทดลองให้อาหารที่มีส่วนผสมของคาร์โรทีนอยด์จากกลีบดอกไม้ 2 ชนิด คือ *Aesculus hippocastanum* และ *A. parviflora* แก่ปลา trout ซึ่งต่อมาได้มีการสะสมของ คาร์โรทีน ในปลาดังกล่าว

Boonyaratpalin (1975) ทดลองใช้กลีบดอกดาวเรืองและสารให้สีที่สกัดจากเมล็ด annatto ผสมลงในอาหารเพื่อเป็นแหล่งของคาร์โรทีนอยด์โดยทดลองกับปลา 3 ชนิด คือ ปลา เทวดา (*Pterophyllum scalare Lichtenstein*) ปลาออสการ์ (*Astronotus ocellatus Cuvier*) และปลาเสือสุมาตรา (*Barbus tetrazona Bleeker*) พบว่า ปลาเสือสุมาตราที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกลีบดอกดาวเรือง แอปเปิ้ลแดงบนลำตัว ครีบหลัง ครีบกัน และครีบหาง จะมีสีแดงเข้มและสดอย่างเห็นได้ชัด ชัดเจนกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของสารสีที่สกัดจากเมล็ด annatto และ อาหารที่ไม่ได้ใส่สารสี

4. ไบยอ

ยอ (Yor) หรือยอบ้าน (Yor Ban) มีชื่อเรียกหลายชื่อแต่ละสถานที่เช่น มะดาเลื่อ (เหนือ) แะใหญ่ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เป็นพืชชนิดเดียวกับโนนิ (NONI) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morinda citrifolia* เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูง 1-6 เมตร ใบ เป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ออกตรงข้ามกัน (opposite) รูปรี หรือรูปขอบขนาน กว้าง 6-17 ซม. ยาว 15-30 ซม. โคน และปลายใบแหลม ขอบใบเป็นคลื่น ขนเกลี้ยงทั้งสองด้าน ด้านบนมักพบมีดุมซึ่งเกิดจากแบคทีเรียอยู่ทั่วไป ผิวใบเป็นมัน สีเขียว ก้านใบยาว 1 ซม. ดอกออกเป็นช่อกลมเดี่ยว ๆ ตามง่ามใบ ก้านช่อดอกยาว 3-4 ซม. ไม่มีก้านดอกย่อย เป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบรองดอกเชื่อมติดกัน ปลายตัด กลีบดอกสีขาว โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ ยาว 8-11 มม. ดอกด้านนอกเรียบ ด้านในมีขนหนาแน่น เฉพาะครึ่งบนปลายแยกออกเป็น 4-5 แฉก ยาว 4.5-5 มม. เกสรผู้ติดอยู่บนช่อกลิบดอก อับเรณูรูปขอบขนานแคบ ยาว 3 มม. ก้านเกสรผู้ ก้านเกสรเมีย ยาวประมาณ 15 มม. แยกเป็น 2 แฉก ผล เป็นผลสด (drupe) ชนิดผลรวม (multiple fruit) มีขนาดเล็ก ภายในมี 1 เมล็ด เชื่อมติดกันเป็นผลขนาดใหญ่กว้าง 2-3 ซม. ยาว 3-10 ซม. ผิวเป็นคุ่มพอง ขนเกลี้ยง ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่จะมีสีขาวอมเขียว เมื่อสุกมีสีเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีขาวในที่สุด เมล็ด มีลักษณะแบน สีน้ำตาลเข้ม เมล็ดมีถุงอากาศ (air sac) ทำให้สามารถลอยน้ำได้จึงทำให้มีการกระจายตัวในบริเวณกว้าง ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและเมล็ดมีการพักตัวก่อนการงอก (dormancy) (วิทย์, 2542)

4.1 สรรพคุณทางยาและสารออกฤทธิ์ของยอ

ใบ กินแก้กระษัย หรือคั้นเอาน้ำมาสระผมฆ่าเหา ทาแก้โรคเก๊าท์ ปวดตามข้อนิ้วมือ นิ้วเท้า ใช้ผสมกับสมุนไพรอื่นเป็นยารักษาวัณโรค

ดอก เป็นส่วนผสมของสมุนไพรชนิดอื่น ๆ แก้วฉวีโรค

ผล มีรสเผ็ดร้อน ช่วยขับลมบำรุงธาตุ เจริญอาหาร อมแก้เหงือกเปื่อย ระดูเสีย ฟอกเลือด ขับน้ำคาวปลา แก้เสียงแหบแห้ง แก้วตัวเย็น แก้วร้อนในอก แก้วกระษัย แก้วอาเจียน สารที่ออกฤทธิ์คือ asperuloside จะนำมาหมก หรือดื่มรับประทานกับน้ำก็ได้ บางครั้งใช้จิ้มกับน้ำผึ้งรับประทาน

ราก (อายุ 3-4 ปี) แก่กระษัยเป็นยาระบาย ใช้ผสมกับยารักษาวัณโรค ใช้เป็นสีย้อมผ้า เปลือกรากจะให้สีแดง เนื้อรากจะให้สีเหลือง แต่ถ้าใช้โดยไม่แยกจะได้สีเหลืองปนแดง แต่ถ้าจะให้สีต่างกันออกไป ก็ต้องนำโลหะต่างชนิดกันมาผสม เช่น สีนํ้าตาลอ่อนเมื่อผสมกับเกลือของ chromium สีม่วงแดงดำก็ผสมกับเกลือของเหล็ก และสีแดงหรือสีชมพูเมื่อผสมกับเกลือของ alumina สีที่ข้อมจากรากขอนี้จะเป็นสีที่คงทน ชักฟอกสี ไม่ตก เนื่องจากในรากขอมมีสารพวก glycoside ซึ่งจะสลายตัวเมื่อเติมกรด ได้สารประกอบ anthraquinone

4.2 สารออกฤทธิ์ในขอม

4.2.1 Xeronine

4.2.1.1 ให้ผลทางด้านเพิ่มความแข็งแรงของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์มีความยืดหยุ่นได้ดีขึ้น ทำให้เซลล์เหล่านั้นมีอายุยาวนานและทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

4.2.1.2 เพิ่มจำนวน T-lymphocytes และ macrophages ทำให้ร่างกายมี immune activities ดีขึ้น ต่อต้านการเกิดเซลล์มะเร็ง รวมถึงทำให้การทำงานของเซลล์ที่ผิดปกติ ค่อยๆ กลับมาทำงานอย่างเป็นปกติได้ และกระตุ้นการสร้างเซลล์ใหม่ ขึ้นเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่สูญเสียไป รวมถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวใหม่ นอกจากนี้ยังช่วยในด้านระบบประสาท ลดอาการเครียด วิตกกังวลได้ดี

4.2.1.3 ช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยจะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ส่วนในรายที่มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำนั้น xeronine จะช่วยเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในภาวะปกติ

4.2.1.4 ช่วยในการปรับสภาพสมดุลของความดันโลหิตได้ดี ทำให้สามารถป้องกันโรคหัวใจและอาการสมองขาด oxygen (stroke) ได้

4.2.1.5 สาร xeronine, terpene และ scopoletin ช่วยทำให้การหลั่งสาร endorphin ในร่างกายมากขึ้น พบว่าสามารถลดอาการปวดทั้งจากกล้ามเนื้อและไขข้ออักเสบ ได้มากถึง 75 % ของ morphine

4.2.1.6 ช่วยให้ร่างกายมีขบวนการเผาผลาญสารอาหารได้ดีขึ้น โดยเฉพาะไขมันในร่างกาย

4.2.2 Scopoletin

4.2.2.1 ช่วยในการขยายหลอดเลือด ลดความดันโลหิตได้ดี ลดความดันโลหิตในคนปกติ

4.2.2.2 จะช่วยลดการหลั่งสาร histamine ในร่างกาย ลดอาการบวม อักเสบ และหอบหืดได้ดี

4.2.2.3 สาร scopoletin และ xeronine จะกระตุ้นต่อมใต้สมองให้หลั่ง serotonin ให้มากขึ้น มีผลให้ร่างกายหลั่งสาร melatonin และ endorphin มากขึ้น ทำให้มีอารมณ์ดี ขึ้น และนอนหลับได้สบายขึ้น

4.2.3 Anthraquinones

ใน Noni มีรสขม กระตุ้นการอยากอาหาร ป้องกันการติดเชื้อบิดและเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบการย่อยอาหาร เพิ่มการหลั่ง Enzymes สำหรับย่อยอาหาร และน้ำดี

4.2.4 Damnacanthal

ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Anthraquinone ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ทำให้เซลล์มะเร็งเปลี่ยนกลับเป็นเซลล์ปกติได้

นอกจากนี้แล้วยอบ้านยังมีคุณค่าทางโภชนาการ ใบยอบ 100 กรัม ให้พลังงานต่อร่างกาย 73 กิโลแคลอรี มีเส้นใย 4 กรัม แคลเซียม 469 มิลลิกรัม เหล็ก 1.4 มิลลิกรัม วิตามินเอ 43333 IU

วิตามินบีหนึ่ง 0.30 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง 0.14 มิลลิกรัม ในอาซีน 7.2 มิลลิกรัม วิตามินซี 3 มิลลิกรัม (วิทช์, 2542)

5. ฟ้ายะลวยโจร

ฟ้ายะลวยโจร มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Andrographis paniculata* อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ประเภทไม้ล้มลุก ประเทศไทยมีการใช้สมุนไพรและเครื่องเทศมาแต่โบราณ โดยเฉพาะสมุนไพร นั้น ได้นำมาใช้ในการรักษาโรคจนถึงปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องมาจากการแพทย์แผนปัจจุบัน ยังกระจาย ไปไม่ทั่วถึง ทำให้ร้อยละ 70-80 ของจำนวนครั้งของความเจ็บป่วย ต้องบำบัด ด้วยยาแผนโบราณ และสมุนไพร ซึ่งพบว่ายังคงมีการใช้กับประชาชนถึงร้อยละ 24.6 ของประชากรทั้งประเทศ และ หนึ่งในบรรดาพืชสมุนไพรทั้งหลายที่มีการใช้ในปัจจุบันคือ "ฟ้ายะลวยโจร" ฟ้ายะลวยโจรเป็นพืช สมุนไพรที่รู้จักกันมานานและมีชื่อเรียกกันหลายอย่างตามแต่ละท้องถิ่น เช่น น้ำลายพังพอน ขวง ชิมน้อย เจิงเกี้ยงฮี้ ฟ้ายาง หญ้ากันงู สามสิบดี เขยตายายคุม ฟ้ายะลวยโจรห้าร้อย ฟ้ายะลวย เป็นต้น บางทีชาวจีนก็เรียกฟ้ายะลวยโจรว่า " ซิงกักโช่ว เซ่า" ซึ่งหมายถึงพืชที่มีลำต้นสีเหลือง มี รสขม อันเป็นความหมายที่ชัดเจนและตรงกับ ลักษณะเด่น ของพืชสมุนไพรชนิดนี้มากกว่าคำว่า "ฟ้ายะลวยโจร" และทุกส่วนของต้นฟ้ายะลวยโจรนั้นจะมีรสขมถึงกับมีการขนานนามพืชชนิดนี้ว่า "เจ้าแห่งความขม" (King of the bitterness)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ฟ้ายะลวยโจรเป็นพืชล้มลุก 30 - 100 ซม. ลำต้นตั้งตรงเป็น สีเหลือง แตกกิ่งก้านสาขามาก มีใบออก ตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ก้านใบสั้นมากหรือไม่มีก้านใบ ใบ เรียวยาว ปลายใบแหลม สีเขียวเข้มเป็นมัน ขอบใบหยักเล็กน้อยมีขนาดกว้าง 1.3 ซม. ยาว 2.5 - 3 ซม. เกลี้ยงทั้งสองด้าน มีดอกเล็กๆสีขาว ออกเป็นช่อที่ยอดและตามง่ามใบ ช่อยาว 2.5 - 10 ซม. ดอกมักจะออกด้านเดียวและทยอยบานจากโคนช่อไปสู่ปลายช่อ ก้านดอกยาว 0 - 6 มม. กลีบรอง กลีบดอกสีขาวยาวประมาณ 3 มม. ส่วนโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็นกลีบแหลมๆ 5 กลีบ มีขน กลีบดอกสีขาว โคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 กลีบ ใหญ่ ๆ กลีบบนใหญ่ กว่ากลีบล่าง มี 3 หยัก มีจุดสีม่วงแดง ปลายกลีบล่างมี 2 หยัก เกสรผู้ 2 อัน ติดกับกลีบดอก ก้านเกสรมีขน อับ เรณูสีม่วงดำ รางไข่ 1 อัน ท่อเกสรเมียเรียวยาว มีผลเป็นฝักขนาดกว้าง 3 - 5 มม. ยาวประมาณ 1.5 ซม. มีร่องลึกตามยาว ฝักแก่จะแตกเป็น 2 ซีก ภายในมี หลายเมล็ด เมล็ดรูปค่อนข้างจะสีเหลืองแข็ง สีเหลืองถึงน้ำตาลเข้มค่อนข้างโปร่งแสง ฝักจะติดเมล็ดออกมา ฝักแก่จะเป็นสีน้ำตาล เมื่อแตกออก

จะมีเมล็ดเล็ก ๆ นำไปขยายพันธุ์ได้ พบได้ทั่วไป ในเขตร้อน เช่น อินเดีย จีน ไทย สำหรับทางภาคใต้ของประเทศไทยนั้นนิยมปลูกตามบ้าน และยังพบขึ้นตามป่าดงดิบ ป่าสน ป่าอ้อ และป่าเต็งรัง โดยธรรมชาติแล้ว ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชปลูกง่าย ชอบอากาศร้อนชื้น เจริญเติบโตได้ในทุกฤดูกาล สามารถขึ้นได้ในดินทุกชนิด แต่จะชอบดินร่วนซุยที่มีการระบายน้ำดี ทั้งในที่ร่ม และกลางแจ้ง การขยายพันธุ์ฟ้าทะลายโจรนั้นโดยการใช้เมล็ด ดังนั้นเมล็ดที่จะนำมาปลูก ควรคัดจากต้นที่มีความแข็งแรง เป็นเมล็ดที่ได้จากฝักแก่และมีสีน้ำตาลแดง ฤดูกาลปลูกที่เหมาะสมคือ ช่วงฤดูฝน

การปลูกฟ้าทะลายโจรสามารถทำได้หลายวิธีคือ การหว่าน โรยเป็นแถวหรือหยอดเป็นหลุม การเก็บเกี่ยวสามารถทำได้เมื่อมีอายุได้ 3-5 เดือน ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ ระยะที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ และเริ่มออกดอก หรืออายุ 110-150 วัน ซึ่งเป็นระยะที่ให้ผลผลิตสูง การเก็บเกี่ยวนั้นให้ตัดทั้งต้นเหลือเพียงตอสูงประมาณ 5-10 เซนติเมตร เพื่อให้ต้น เจริญต่อไป อีกโดยไม่ต้องปลูกใหม่ ฟ้าทะลายโจร เป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างกว้างขวางมานานแล้ว เพราะเป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ ได้ทั้งต้น ใบสดและใบแห้ง ในทางการแพทย์แผนโบราณของจีน นิยมใช้ฟ้าทะลายโจรในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบน เช่น เจ็บคอ ทอนซิลอักเสบ ในประเทศอินเดียใช้เป็นยาบำรุงประเภทที่มีรสขม ใช้แก้โรคบิด และท้องร่วง ประเทศอินโดนีเซียใช้ใบแก้พิษงู และแมลงต่อย โดยนำไปมาชงยี้ แล้วทาที่แผล หรือคั้นเอาน้ำมารับประทานแก้โรคเบาหวาน โดยเชื่อว่า รสขมนั้น จะมีส่วนช่วยในการ บำรุงโลหิต สำหรับในประเทศไทย ฟ้าทะลายโจรเพิ่งได้รับการพิจารณาจากกระทรวงสาธารณสุข ให้เป็นสมุนไพรที่จะส่งเสริมให้ประชาชนใช้ในการสาธารณสุขมูลฐาน โดยใช้รักษา อาการเจ็บคอ อาการท้องเสีย แก้ไข้ และส่งเสริมให้พัฒนาสมุนไพรนี้เพื่อใช้เป็น ยาแผนปัจจุบันต่อไป

ดังนั้นในช่วงระยะเวลาประมาณ 5 ปีที่ผ่านมา จึงมีหลายหน่วยงานได้ให้ความสนใจ ในการวิจัยศึกษาทางวิทยาศาสตร์ในด้านต่าง ๆ ทั้งด้านการเพาะปลูก วิธีการเก็บรักษา และความคงตัวของยา องค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา การศึกษาทางคลินิก ตลอดจนพิษวิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำเอาประโยชน์ทางยาของฟ้าทะลายโจร มาใช้ได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย ในประเทศไทย ได้มีการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีพื้นฐานของฟ้าทะลายโจร พบว่าในใบแห้งประกอบด้วยสารพวก diterpene lactones หลายชนิด สารเหล่านี้เป็นสารที่ให้รสขมและมีปริมาณมาก ใบและก้านแห้งหนัก 100 กรัม แยกสารพวกนี้ได้ 4 ชนิดคือ

ตารางที่ 1 ปริมาณสารที่พบในฟ้าทะลายโจร

สารที่พบในฟ้าทะลายโจร	ปริมาณ (กรัมต่อ100กรัม)
andrographolide	1.7
14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide	0.9
neoandrographolide	0.1
deoxyandrographolide-19-D-glucose	0.055
KH_2PO_4	3.8

ที่มา : จริยา (2536)

จากการศึกษาทางเภสัชวิทยาและทางคลินิก นั้นพบว่า ฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพร ที่นำมาใช้กับผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงและบิดแบคทีเรียได้ผล ใกล้เคียงกับเตตราไซคลิน ซึ่งฤทธิ์ของฟ้าทะลายโจรนั้นมีผลในการลดความเคลื่อนไหว และลดการหดเกร็งของลำไส้ มากกว่าการออกฤทธิ์เป็น antibacterial โดยมีสารออกฤทธิ์เป็นพวก diterpene lactones เช่นเดียวกัน และผลในการใช้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรในการรักษาอาการเจ็บคอและลดไข้ นั้น ก็อาจเนื่องมาจากฤทธิ์ด้านการอักเสบมากกว่าการเป็น antibacterial และจากผลการวิจัยต่าง ๆ สรุปได้ว่าสมุนไพรฟ้าทะลายโจร นั้นมีความปลอดภัยที่จะนำมาใช้โดยวิธีรับประทาน เนื่องจากไม่ปรากฏอาการเป็นพิษ แต่อย่างไรก็ตาม การนำฟ้าทะลายโจรมาใช้นั้นควรจะมีคำแนะนำในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อรุนแรง มีไข้สูง หนาวสั่น ในเด็กเล็ก และคนสูงอายุ ตลอดจนคนที่มียโรคเกี่ยวกับหัวใจ

ดังนั้นการที่จะขยายพันธุ์ฟ้าทะลายโจรเพื่อนำมาใช้เป็นยานั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องวิเคราะห์สาร diterpene lactone โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร andrographolide ซึ่งได้มีการพิสูจน์แล้วว่า เป็นสารออกฤทธิ์เป็นยาเพื่อที่จะได้พันธุ์ที่มีคุณภาพในการใช้ยาสูง และสามารถศึกษาแหล่งปลูกที่เหมาะสมได้ งามฟ่องและบุญส่ง(2541)ได้ทำการวิจัยโดยสกัดและแยกสาร andrographolide จากฟ้าทะลายโจร เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ คุณภาพของฟ้าทะลายโจร เมื่อมีการปรับปรุงพันธุ์หรือขยายพันธุ์พบว่า ใบฟ้าทะลายโจร 1.5 กิโลกรัม เมื่อนำมาสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ สามารถแยกสารออกฤทธิ์ซึ่งเป็นของแข็ง สีขาวได้ 50 กรัม มีความบริสุทธิ์ 74% เมื่อนำมาตกผลึกด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ได้ผลึกสีน้ำตาลอ่อน 37.7 กรัม คิดเป็น 2.51% เมื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์

พบว่ามีความบริสุทธิ์ 100% นอกจากนี้ ราเชนทร์ (2548) ศึกษาการเกษตรกรรมและปรับปรุงพันธุ์ ฟ้ายะลวยโจร โดยศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการปลูกฟ้ายะลวยโจรเป็นพืชสมุนไพร และ เก็บเกี่ยวเมื่อฟ้ายะลวยโจรอายุ 140 วัน พบว่า ฟ้ายะลวยโจรสามารถเจริญเติบโตแตกต่างกันในแต่ละช่วงการปลูก คือ การปลูกในเดือน มิถุนายนจะให้ผลผลิต น้ำหนักสดของใบสูงกว่าการปลูกในเดือนกรกฎาคม, พฤศจิกายน, ตุลาคม และสิงหาคม ตามลำดับ

ผลทางคลินิกในการรักษาอาการท้องร่วง จากบิดไม่มีตัวและโรคทางเดินหายใจส่วนบน อักเสบและไข้หวัดใหญ่ดีมาก สามารถลดไข้ได้ดี ลดอาการเจ็บคอ ไม่พบรายงานความเป็นพิษ จึงแนะนำให้ผู้ป่วยที่มีอาการเจ็บคอใช้ได้ ปัจจุบันได้มีการใช้ฟ้ายะลวยโจรอย่างกว้างขวาง ทั้งในรูปสดและตากแห้ง มีการนำมาทำเป็นลูกกลอนหรือบรรจุลงในแคปซูลอย่างกว้างขวาง มีการศึกษาผลทางคลินิกของฟ้ายะลวยโจรในการรักษาอาการเจ็บคอเปรียบเทียบกับเพนนิซิลินวีในกลุ่มตัวอย่าง 114 ราย ที่มีอาการเจ็บคอ และกลืนแล้วเจ็บก่อนเข้ารับการรักษาครั้งนี้ไม่เกิน 72 ชั่วโมง ไม่มีประวัติโรคประจำตัวเรื้อรัง ผลการรักษาหลังรับยาโดยภาพรวมทั้งอาการไข้ และสภาพภายในคอ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับฟ้ายะลวยโจรและเพนนิซิลินวี โดยพบว่ามากกว่าร้อยละ 15 มีอาการดีขึ้น ขนาดรับประทานครั้งละ 4 แคปซูล วันละ 4 ครั้ง หรือครั้งละ 10 ใบสด วันละ 4 ครั้ง การเลือกซื้อฟ้ายะลวยโจร ควรดูชนิดที่มีการควบคุมคุณภาพมาอย่างดีผ่านการฆ่าเชื้อมาเป็นอย่างดีด้วยรังสีแกมมา สะอาดและถูกต้อง ตามมาตรฐานจึงจะมีผลการรักษาตามต้องการ ฟ้ายะลวยโจร จัดเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งใน 19 ชนิด ที่ถูกสนับสนุนให้ใช้ในงาน สาธารณสุขมูลฐาน ที่ได้แนะนำให้ประชาชนปลูกขึ้นใช้ในหมู่บ้านใช้เป็นยารักษาโรค

5.1 สรรพคุณทางยาและสารออกฤทธิ์ของฟ้ายะลวยโจร

สรรพคุณทางยาของฟ้ายะลวยโจร

1.ฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 50% และ 85% มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ และมีผู้พบสารออกฤทธิ์คือ 14 deoxy-11, 12 dihydroandrographolide, andrographolide, neoandrographolide และ deoxyandrographolide

2.ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดด้วยเอทานอล 70% และ 80% สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุอาการท้องเสีย ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Vibrio cholerae* ซึ่งสารสำคัญ

ในการออกฤทธิ์คือ andrographolide และ deoxyandrographolide แต่มีรายงานว่าไม่พบฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย

3. การทดลองทางคลินิกใช้รักษาอาการท้องเสีย มีการทดลองรักษาอาการท้องเสีย โดยใช้ผงฟ้าทะลายโจรบรรจุแคปซูลขนาด 1 กรัม ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน รักษาอาการท้องเสีย และอธิบายว่าโรคคือ tetracycline

4. ฤทธิ์ลดการอักเสบ สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ สารสกัดด้วยน้ำ และคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ลดการอักเสบ

5. สารสำคัญในการออกฤทธิ์ลดการอักเสบสารสำคัญในการออกฤทธิ์ คือ deoxyandrographolide, andrographolide, deoxyandrographolide และ neoandrographolide

6. ฤทธิ์เพิ่มการหลั่งน้ำลายในลำคอ ฟ้าทะลายโจรมีรสขมมาก ความขมจะเหนี่ยวนำให้การขับน้ำลายออกมามาก จึงทำให้ชุ่มคอ

7. ฤทธิ์การสร้างภูมิคุ้มกัน ฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย อาจจะช่วยลดการเจ็บคอเนื่องจากแบคทีเรีย

8. รักษาอาการไอและเจ็บคอ อมร และคณะ (2538) ได้ทดลองเปรียบเทียบผลการรักษาอาการไอและเจ็บคอ เปรียบเทียบกับพาราเซตามอล พบว่ากลุ่มที่ได้รับยาขนาด 6 กรัมต่อวัน มีอาการไอและการเจ็บคอลดลง ในวันที่ 3 ได้ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับฟ้าทะลายโจร 3 กรัม/วัน หรือได้รับพาราเซตามอล แต่หลัง 7 วัน ผลการรักษาไม่ต่าง แต่ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย อันที่เป็นสาเหตุของการเจ็บคอฟ้าทะลายโจรไม่สามารถฆ่าเชื้อได้

ตารางที่ 2 สารออกฤทธิ์ในฟ้าทะลายโจรและสรรพคุณทางยา

สมุนไพร	สารออกฤทธิ์สำคัญหลัก	สรรพคุณทางยาที่สำคัญ
ฟ้าทะลายโจร(<i>Andrographis paniculata</i>)	Lactones จำพวก	แก้เจ็บคอต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์
	Andrographolide	ในทางเดินอาหารและระบบ
	Neoandrographolide	หายใจมาเชื้อ แก้อักเสบ
	Dehydroandrographolide	ท้องเสีย
	Deoxyandrographolide	

ที่มา : จริยา (2536)

5.2 Tannin

มีฤทธิ์เป็นยาฝาดสมาน สามารถบรรเทาอาการท้องร่วงและห้ามเลือดได้ , ช่วยสมานแผล และบรรเทาอาการเจ็บคอ นอกจากนี้ยังช่วยระงับกลิ่นปากและรักษาแผลเรื้อรังเช่น น้ำกัดเท้า และ ผื่นคันจากผิวหนังที่ถูกใบไม้คันได้ กรดแทนนิก (Tannic Acid) หรือ Tannin เมื่อรวมตัวกับสาร โปรตีนแล้วจะย่อยได้ยาก ทำให้การย่อยและดูดซึมอาหารได้ไม่เต็มที่ ซึ่งเท่ากับเป็นอุปสรรคในการ เจริญเติบโต

ฟ้าทะลายโจร กุศล (2535) นำผลฟ้าทะลายโจรที่ได้จากการนำพืชทั้งต้นที่ตากแดดให้แห้ง แล้วป่น มาเติมลงในอาหารไก่เนื้อสำเร็จรูปในระดับ 1 % และพบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักปริมาณ อาหารที่กิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และรสชาติของเนื้อไก่ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติม สมุนไพรและพบว่าไก่ทดลองซึ่งแม้ไม่ได้รับวัคซีนหลอกลมอักเสบก็ยังมีสุขภาพดีเทียบได้กับกลุ่ม ควบคุมในการทดลองต่อมา กุศล (2537) ใช้ผงสมุนไพรฟ้าทะลายโจรทดแทนยาปฏิชีวนะคลอ เทตราไซคลิน(50 มก./กก.) ในอาหารสำเร็จรูปที่ระดับ 0.5 หรือ 1.0 % ของอาหาร พบว่า อัตรา การเพิ่มน้ำหนักอาหารที่กิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการตายของไก่เนื้อ ไม่แตกต่าง จากกลุ่มที่เติมยาปฏิชีวนะแต่อย่างใด อย่างไรก็ตาม หากเติมผงฟ้าทะลายโจรในอาหารในระดับสูง กว่า 1.0 % การกินอาหารและน้ำหนักตัวของไก่มีแนวโน้มลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

ปลาทอง(*Carasius auratus*) สายพันธุ์อรันดา น้ำหนักเฉลี่ย 11.45 กรัม จำนวน 500 ตัว

อุปกรณ์การเลี้ยง

1. ตู้กระจกขนาด 45 X 60 X 45 เซนติเมตร จำนวน 35 ตู้ พร้อมอุปกรณ์ให้อากาศ
2. ถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุน้ำประมาณ 500 ลิตร จำนวน 2 ถัง พร้อมอุปกรณ์ให้อากาศ
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. ชุดเครื่องผสม บด อัดอาหาร

อุปกรณ์การวิเคราะห์

1. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน ยี่ห้อ Buchii รุ่น 323
2. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน ยี่ห้อ Buchii รุ่น B-811
3. เครื่องวิเคราะห์เชื้อไข ยี่ห้อ VELP
4. เครื่อง Minolta Color Reader CR-10 แสดงค่าความสว่าง(L) ค่าสีแดง(a) ค่าสีเหลือง(b)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วัตถุดิบ

1. สารสีแอสตาแซนทินสังเคราะห์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
2. ไบโย จากโรงงานจังหวัดนครปฐม
3. ฟาทะเลาโยจ จากโรงงานจังหวัดนครปฐม

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในใบยอและฟ้าทะลายโจร

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณคาร์โรทีนอยด์

การวิเคราะห์ชนิดแอสตาแซนทินทำได้โดยวิธี ทินเลเยอร์ โครมาโทกราฟี (Thin layer chromatography : TLC)(Lambertsen and Braekkan, 1971) โดยใส่ตัวอย่างแอสตาแซนทินที่จะทดสอบ ประมาณ 10 - 50 μ l ลงบน TLC plate ที่เคลือบซิลิกาเจล(Merek, ขนาด 20 x 20 cm หนา 0.25 mm) developing solvent ที่ใช้คือ 25% isopropyl acetate ใน benzene ค่า Rf ที่อยู่ในช่วง 0.90 – 0.96 คือ แอสตาแซนทิน ไดเอสเทอร์, 0.75 – 0.80 คือ แอสตาแซนทิน โมโนเอสเทอร์ และ 0.35 – 0.45 คือ แอสตาแซนทิน อิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณแอสตาแซนทินใช้วิธีของ สุกสายชล(2541)ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Kobayashi *et al.*(1991) โดยใช้วิธีการวัดค่า absorbance ด้วย UV/Vis spectrophotometer โดยนำตัวอย่างมาปรับปริมาตรด้วย hexane ให้ได้ 100 ml นำไปวัด absorbance ที่ความยาวคลื่น 480 nm ใช้ค่า $A^{1\%}$ (Absorbance coefficient) = 2,500 (Kobayashi *et al.*, 1991) ค่าความเข้มข้นของ แอสตาแซนทิน(คาร์โรทีนอยด์ทั้งหมด)เป็น mg/ml คำนวณจากสูตร

$$\text{Total carotenoid} = \frac{\text{OD}_{480} \times 100(\text{ml ของ hexane}) \times 1000}{2,500 \times 100 \times 10(\text{ml ของตัวอย่าง})} \quad \text{mg/ml}$$

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง

2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาทองน้ำหนักเฉลี่ย 11.45 ± 1.72 กรัม จำนวน 150 ตัว มาเลี้ยงในตู้ทดลองตู้ละ 10 ตัว ขนาดตู้ 12x24x12 นิ้ว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วัน ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรน้ำทั้งหมด

2.2 แผนการทดลอง

จัดแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomize design) 3 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยตู้ทดลอง 3 ตู้ ระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์

2.3 การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองโดยผสมเมทิลเซลลูโลสลงในอาหารทดลอง โดยการทดลองด้วยอาหาร 3 สูตร คือ

สูตรที่ 1 : ไม่เสริมเมทิลเซลลูโลสและแอสตาแซนทินสังเคราะห์

สูตรที่ 2 : เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 3 : เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์และเมทิลเซลลูโลส 1 เปอร์เซ็นต์

โดยอาหารที่ใช้ในการทดลองมีสูตรพื้นฐานเหมือนกัน และมีโปรตีน 35 % ดังสูตรในตารางที่ 3 ในระหว่างการทดลองเก็บอาหารไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ $5^{\circ} - 10^{\circ} \text{C}$

ตารางที่ 3 องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารทดลองปริมาณเชื้อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง

ส่วนประกอบของอาหารทดลอง	องค์ประกอบของอาหารทดลอง(เปอร์เซ็นต์)		
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
ปลาป่น	47	47	47
แป้งสาลี	14.78	14.53	13.53
แป้งมัน	10	10	10
รำละเอียด	15	15	15
วิตามินผสมสำเร็จรูป *	0.5	0.5	0.5
แร่ธาตุผสมสำเร็จรูป **	0.5	0.5	0.5
น้ำมันถั่วเหลือง	1.2	1.2	1.2
ดัดปลาหมึก	8	8	8
BHT	0.02	0.02	0.02
สารเหนียว	3	3	3
ไบยอ	0	0	0
ฟ้าทะลายโจร	0	0	0
แอสตาแซนทีน(10%)***	0	0.25	0.25
เมทิลเซลลูโลส	0	0	1
น้ำมันปลา : น้ำมันพืช	4.6:1.2	4.6:1.2	4.6:1.2
รวม	100	100	100

* วิตามินผสมสำเร็จรูป (ปริมาณ / อาหาร 1 กก.) ประกอบด้วย Thiamine (B1) 10 มิลลิกรัม ; Riboflavin (B2) 20 มิลลิกรัม ; Pyridoxine (B6) 10 มิลลิกรัม ; Cabolamin (B12) 2 มิลลิกรัม ; Retinal (A) 4 มิลลิกรัม ; Cholecalciferol (D3) 0.4 มิลลิกรัม ; Phylloquinone (K1) 80 มิลลิกรัม ; Folic acid 5 มิลลิกรัม ; Calciumpantothenate 40 มิลลิกรัม ; Inositol 400 มิลลิกรัม ; Niacin 150 มิลลิกรัม ; Tocopherol (E) 60 มิลลิกรัม ; Choline 6000 มิลลิกรัม ; Ascorbic acid (C) 500 มิลลิกรัม

** แร่ธาตุผสมสำเร็จรูป (ปริมาณ / อาหาร 1 กก.) ประกอบด้วย NaCl 0.25 กรัม ; MgSO₄ 3.75 กรัม ; KH₂PO₄ 8 กรัม ; Ca(H₂PO₄) 5 กรัม ; FeSO₄ 0.72 กรัม ; (CH₃COO)₂Ca.5H₂O 0.88 กรัม ;

ZnSO₄·7H₂O 0.088 กรัม ; MnSO₄·4H₂O 0.040 กรัม ; CuSO₄·5H₂O 0.008 กรัม ; COCl₂·6H₂O 0.00025 กรัม ; KIO₃·6H₂O 0.00075 กรัม

***แอสตาแซนทินสังเคราะห์ใช้ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของแอสตาแซนทินบริสุทธิ์ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณความเข้มข้นของแอสตาแซนทินบริสุทธิ์ 250 ppm

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารจากการวิเคราะห์ของอาหารทดลองปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง

องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)	สูตรที่1	สูตรที่2	สูตรที่3
ความชื้น	6.90	6.90	6.83
โปรตีน	28.15	28.15	28.15
ไขมัน	12.14	11.64	12.14
คาร์โบไฮเดรต	22.62	22.82	21.62
เยื่อใย	2.11	2.11	3.11
เถ้า	13.61	13.61	13.61
ปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวม (ไมโครกรัม/กรัม)	6.06	28.04	28.03
พลังงาน(cal/kgfeed)	2734	2698	2712

2.4 สภาวะการทดลอง

นำปลาทอง มาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 12 x 24 x 12 นิ้ว ปล่อยปลาตู้ละ 10 ตัว ให้อาหารที่มีคาร์โบทีนอยด์ต่ำ เพื่อปรับตัวเข้ากับสภาวะการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อให้ปลามีสีที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นในสัปดาห์ที่ 4 – 8 ให้อาหารทดลองเพื่อศึกษาการสะสมของสีในตัวปลา และให้กินอาหารคาร์โบทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ในสัปดาห์ที่ 8 – 12 เพื่อศึกษาความคงตัวของสีในตัวปลา

2.5 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผล

การเก็บข้อมูลสีตัวปลา

ก่อนการทดลองนำตัวอย่างปลาทดลองในช่วงก่อนสัปดาห์ที่ 1 มาวัดค่าของสีด้วย Minolta Color Reader CR-10 ซึ่งแสดงเป็นค่าความสว่าง(L) ค่าสีแดง(a) และค่าสีเหลือง(b) โดยสุ่มวัดปลา treatment ละ 15 ตัว วัดสีบริเวณฐานครีบหลังทั้งด้านซ้ายและขวา และเก็บตัวอย่างปลาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด และในเนื้อก่อนกินอาหารเพื่อให้ทราบปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในปลาเริ่มต้น การวัดสีภายนอกตัวปลา ตลอด 4 สัปดาห์แรก วัดสีภายนอกตัวปลา 2 สัปดาห์ต่อครั้ง เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 นำตัวอย่างปลาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดและในเนื้ออีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ทราบว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในปลาเริ่มต้นก่อนให้กินอาหารทดลอง จากนั้นเลี้ยงด้วยอาหารทดลอง เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4 - 8) วัดสีภายนอกตัวปลาทุก 2 สัปดาห์ เมื่อครบสัปดาห์ที่ 4 นำปลาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดและในเนื้อ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในตัวสัตว์ทดลอง จากนั้นให้ปลากินอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำในสัปดาห์ที่ 8 - 12 วัดสีภายนอกตัวปลาทุก 2 สัปดาห์ เมื่อครบสัปดาห์ที่ 4 นำปลาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดและในเนื้อ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในตัวปลาทอง

เก็บตัวอย่างปลาแต่ละตู้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่าง จากเนื้อ และเลือด จากนั้นจึง นำไปสกัดคาร์โรทีนอยด์ และตรวจวัดปริมาณคาร์โรทีนอยด์ทั้งหมดตามวิธีการของ Lambertsen and Braekkan (1971) ดังการทดลองที่ 1

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ย (analysis of variance : ANOVA)

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของไบยอและฟัทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็คเล็ดขาวในปลาทอง

3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาทองน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม จำนวน 350 ตัว โดยแยกเลี้ยงตู้ละ 10 ตัว ซึ่งเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 12 x 24 x 12 นิ้ว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วัน ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำทั้งหมด

แผนการทดลอง

จัดแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomize design) 7 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยตู้ทดลอง 5 ตู้ ระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์

การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองโดยผสมไบยอและฟัทะลายโจรลงในอาหารทดลอง 7 สูตร คือ

- สูตรที่ 1 : ไม่เสริมไบยอ ฟัทะลายโจร และแอสตาแซนทินสังเคราะห์
- สูตรที่ 2 : เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 3 : เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์และเมทิลเซลลูโลส 1 เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 4 : เสริมไบยอที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 5 : เสริมฟัทะลายโจรที่ 10 เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 6 : เสริมไบยอที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ และเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์
- สูตรที่ 7 : เสริมฟัทะลายโจรที่ 10 เปอร์เซ็นต์ และ เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 0.25 เปอร์เซ็นต์

ดังตารางที่ 3 โดยอาหารที่ใช้ในการทดลองมีสูตรพื้นฐานเหมือนกัน และมีโปรตีน 35 % ดังสูตรในตาราง แล้วนำอาหารทดลองไปวิเคราะห์ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย โดยวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC ในระหว่างการทดลองเก็บอาหารไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 ° - 10 ° C

ตารางที่ 5 องค์ประกอบวัตถุดิบอาหารทดลองผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต
การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลื้อยขาวในปลาทอง

	องค์ประกอบของอาหารทดลอง(เปอร์เซ็นต์)						
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6	สูตรที่ 7
ปลาป่น	47	47	47	47	47	47	47
แป้งสาลี	14.78	14.53	13.53	2.68	2.68	2.43	2.43
แป้งมัน	10	10	10	10	10	10	10
รำละเอียด	15	15	15	15	15	15	15
วิตามินผสมสำเร็จรูป *	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
แร่ธาตุผสมสำเร็จรูป **	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
น้ำมันถั่วเหลือง	1.2	1.2	1.2	3.3	3.3	3.3	3.3
ตับปลาหมึก	8	8	8	8	8	8	8
บีเอชที	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
สารเหนียว	3	3	3	3	3	3	3
ไบยอ	0	0	0	10	0	10	0
ฟ้าทะลายโจร	0	0	0	0	10	0	10
แอสตาแซนทิน(10%)* **	0	0.25	0.25	0	0	0.25	0.25
เมทิลเซลลูโลส	0	0	1	0	0	0	0
น้ำมันปลา : น้ำมันพืช	4.6:1.2	4.6:1.2	4.6:1.2	4.3:3.3	4.4:3.3	4.3:3.3	4.4:3.3
รวม	100	100	100	100	100	100	100

* วิตามินผสมสำเร็จรูป (ปริมาณ / อาหาร 1 กก.) ประกอบด้วย Thiamine (B1) 10 มิลลิกรัม ; Riboflavin (B2) 20 มิลลิกรัม ; Pyridoxine (B6) 10 มิลลิกรัม ; Cabolamin (B12) 2 มิลลิกรัม ; Retinal (A) 4 มิลลิกรัม ; Cholecalciferol (D3) 0.4 มิลลิกรัม ; Phylloquinone (K1) 80 มิลลิกรัม ; Folic acid 5 มิลลิกรัม ; Calciumpantothenate 40 มิลลิกรัม ; Inositol 400 มิลลิกรัม ; Niacin 150 มิลลิกรัม ; Tocopherol (E) 60 มิลลิกรัม ; Choline 6000 มิลลิกรัม ; Ascorbic acid (C) 500 มิลลิกรัม

** แร่ธาตุผสมสำเร็จรูป (ปริมาณ / อาหาร 1 กก.) ประกอบด้วย NaCl 0.25 กรัม ; $MgSO_4$ 3.75 กรัม ; KH_2PO_4 8 กรัม ; $Ca(H_2PO_4)_2$ 5 กรัม ; $FeSO_4$ 0.72 กรัม ; $(CH_3COO)_2Ca \cdot 5H_2O$ 0.88 กรัม ;

ZnSO₄·7H₂O 0.088 กรัม ; MnSO₄·4H₂O 0.040 กรัม ; CuSO₄·5H₂O 0.008 กรัม ; COCl₂·6H₂O 0.00025 กรัม ; KIO₃·6H₂O 0.00075 กรัม

***แอสตาแซนทินสังเคราะห์ใช้ 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของแอสตาแซนทินบริสุทธิ์ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณความเข้มข้นของแอสตาแซนทินบริสุทธิ์ 250 ppm

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีจากการวิเคราะห์ของอาหารทดลองผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง

องค์ประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	สูตรที่1	สูตรที่2	สูตรที่3	สูตรที่4	สูตรที่5	สูตรที่6	สูตรที่7
ความชื้น	6.90	6.90	6.83	6.57	6.84	6.56	6.83
โปรตีน	28.15	28.15	28.15	28.2	28	28.2	28
ไขมัน	12.14	11.64	12.14	14.84	14.94	14.84	14.94
คาร์โบไฮเดรต	22.62	22.82	21.62	14.62	13.82	14.42	13.62
เยื่อใย	2.11	2.11	3.11	3.28	3.69	3.28	3.69
เถ้า	13.61	13.61	13.61	13.26	13.49	13.26	13.49
ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวม (ไมโครกรัม/กรัม)	6.06	28.04	28.03	14.09	11.73	32.18	30.21
พลังงาน (cal/kgFeed)	2734	2698	2712	2719	2730	2715	2726

สภาวะการทดลอง

นำปลาทอง มาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 12 x 24 x 12 นิ้ว ปล่อยปลาตู้ละ 10 ตัว ให้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำ เพื่อปรับตัวเข้ากับสภาพการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อให้ปลามีสีที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นในสัปดาห์ที่ 4 – 8 ให้อาหารทดลองเพื่อศึกษาการสะสมของสีในตัวปลา และให้กินอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ในสัปดาห์ที่ 8 – 12 เพื่อศึกษาความคงตัวของสีในตัวปลา

3.5 การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผล

3.5.1 การเจริญเติบโตของปลา

ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยชั่งน้ำหนักปลาทั้งตู้ บันทึกจำนวนตัวเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตาย บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้เพื่อนำมาคำนวณอัตราแลกเนื้อ

นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาอัตราการรอดตาย (survival rate) ดังสมการ

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น}}$$

คำนวณอัตราการเจริญเติบโต ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (percentage of weight gain %)

$$= \frac{[\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}] \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}$$

คำนวณอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio)

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$$

3.5.2 การเปลี่ยนแปลงสีในปลาทอง

นำตัวอย่างปลาทดลอง มาวัดค่าของสีด้วย Minolta color reader CR-10 โดยสุ่มวัดปลา treatment ละ 9 ตัว โดยสุ่ม replication 1 - 3 ตัว วัดสีบริเวณฐานกรีบหลังทั้งด้านซ้ายและขวา และเก็บตัวอย่างปลามาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดและในเนื้อก่อนกินอาหารทดลอง วัดสีภายนอกตัวปลา 2 สัปดาห์ต่อครั้ง เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 , 8 และ 12 นำตัวอย่างปลามาวิเคราะห์ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดและในเนื้อ ตามวิธีของ Lambertsen and Braekkan (1971) ดังการทดลองที่ 1

3.5.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของปลาเมื่อได้รับอาหารที่มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ต่ำ ระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.5.2.2 ศึกษาการสะสมของสารสีในตัวปลาเมื่อได้รับอาหารทดลองที่มีแหล่งของคาร์โรทีนอยด์ต่างกัน ระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.5.2.3 ศึกษาการคงตัวของสารสีในตัวปลาเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่ใช้ในการทดลอง แล้วได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.5.3 ผลของไบออกซิเจนและฟอสฟอรัสต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง

เก็บตัวอย่างปลาเพื่อวิเคราะห์อัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทองทุก 4 สัปดาห์ จนครบ 12 สัปดาห์โดยเก็บเลือดจากปลาตัวอย่างชุดการทดลองละ 10 ตัว เติม RPMI 1640 และ histopaque นำไป centrifuge เพื่อแยกชั้นเม็ดเลือดขาว (Opaque interface) แล้วนำเม็ดเลือดขาวที่แยกได้มาบ่มบน Cover slide เติมน้ำยสี ลงไปบน Cover slide จากนั้นนำมาย้อมสีเม็ดเลือดและยีสต์ โดยใช้ Wright & Gimsa แล้วนำไปนับอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวได้กล้องจุลทรรศน์

โดยมาคำนวณหาค่า

Percent phagocytosis

$$\text{Percent phagocytosis} = \frac{\text{จำนวนเม็ดเลือดที่จับกินยีสต์} \times 100}{\text{จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด}}$$

Phagocytosis index(PI)

$$\text{PI} = \frac{\text{จำนวนเม็ดเลือดที่จับกินยีสต์}}{\text{จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด}} \times \frac{\text{จำนวนยีสต์ที่ถูกจับกินทั้งหมด} \times 100}{\text{จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด}}$$

3.6 ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ย(analysis of variance : ANOVA)

การทดลองที่ 4 ประสิทธิภาพของไบยอลและฟัาทะเลายโอรในการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง

4.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาทองน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม จำนวน 350 ตัว มาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 12 x 24 x 12 นิ้ว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 7 วัน ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมด

4.2 แผนการทดลอง

จัดแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomize design) 7 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยตู้ทดลอง 5 ตู้ ระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์

4.3 การเตรียมอาหารทดลอง

ใช้อาหารทดลองเดียวกันการทดลองที่ 3

4.4 สภาพการทดลอง

นำปลาทอง มาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 12 x 24 x 12 นิ้ว ปล่อยปลาตู้ละ 10 ตัว ให้อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตต่ำเพื่อปรับตัวเข้ากับสภาพการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อให้ปลามีสีที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นในวันที่ 0 - 12 ให้อาหารทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของไบยอลและฟัทะลายโจรในการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง

4.5 การเก็บข้อมูล

เก็บตัวอย่างปลาเพื่อวิเคราะห์อัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทองทุก 3 วัน โดยระยะเวลาการทดลอง 12 วันคือวันที่ 0, 3, 6, 9 และ 12 โดยเก็บเลือดจากปลาตัวอย่างชุดการทดลองละ 10 ตัว เติม RPMI 1640 และ histopaque นำไป centrifuge เพื่อแยกชั้นเม็ดเลือดขาว (Opaque interface) แล้วนำเม็ดเลือดขาวที่แยกได้มาบ่มบน Cover slip เติมนีลสตี ลงไปบน Cover slip จากนั้นนำมาย้อมสีเม็ดเลือดและนีลสตี โดยใช้ Wrigth & Gimsa แล้วนำไปนับอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวได้กล้องจุลทรรศน์

4.6 ข้อมูลทางสถิติ

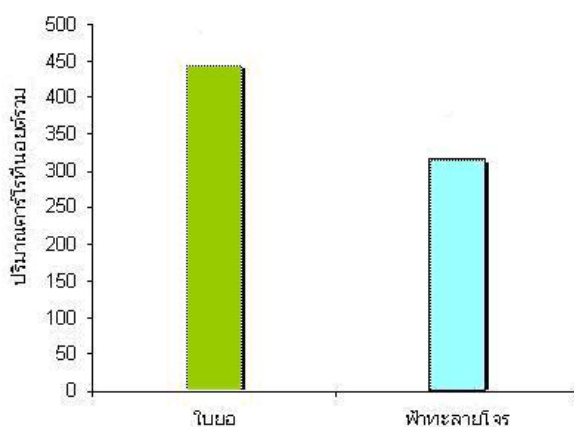
นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าเฉลี่ย (analysis of variance : ANOVA)

ผลและวิจารณ์

การศึกษาผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง ทำการทดลองในปลาทองขนาด 11.45 ± 1.72 กรัมต่อตัว เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่มีวัตถุดิบแหล่งคาร์โบทีนอยด์แตกต่างกัน 7 สูตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงผลการทดลองดังนี้

1. การศึกษาปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวมใน ใบยอและฟ้าทะลายโจร

ปริมาณคาร์โบทีนอยด์ที่มีการสะสมอยู่ในวัตถุดิบใบยอและฟ้าทะลายโจร จากการสกัดคาร์โบทีนอยด์รวมในใบยอที่วัดพบว่า ได้มีค่า 445.21 ± 9.13 ไมโครกรัมต่อกรัม และปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวมในฟ้าทะลายโจรที่วัดได้มีค่า 316.80 ± 18.52 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวม ในวัตถุดิบจากธรรมชาติจะมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และฤดูกาลการเพาะปลูก (ทวีผล, 2542)



ภาพที่ 6 ปริมาณคาร์โบทีนอยด์รวมในใบยอและฟ้าทะลายโจร(ไมโครกรัมต่อกรัม)

ตารางที่ 7 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในใบยอและฟ้าทะลายโจร

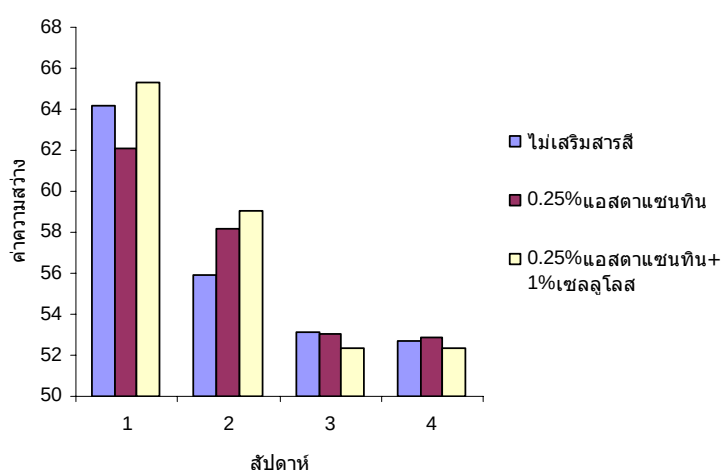
ชนิดวัตถุคิ	ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวม(ไมโครกรัมต่อกรัม)
ใบยอ	445.21±9.13
ฟ้าทะลายโจร	316.80±18.52

2. ผลการศึกษาปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง

การศึกษาผลของปริมาณเยื่อใยในอาหารต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง โดยใช้ปลาทอง ขนาด 11.45 ± 1.72 กรัมต่อตัว ทำการทดลอง 12 สัปดาห์ ใช้อาหารที่มีปริมาณเยื่อใยต่างกัน 3 สูตร โดยสูตร 1 : สูตรควบคุม (อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำ) สูตร 2 : เสริม 0.25% แอสตาแซนทิน สูตร 3 : เสริม 0.25% แอสตาแซนทิน + 1% เซลลูโลส พบว่า เมื่อเริ่มการศึกษาหลังปรับสภาพปลาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ความเข้มสีภายนอกตัวของปลาทองเมื่อเริ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน (สัปดาห์ที่ 4) จากนั้นให้อาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) พบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีค่าสีแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่ได้รับ 0.25 % แอสตาแซนทิน มีค่าสีแดงสูงสุด ($p < 0.05$) และ กลุ่มควบคุมมีค่าสีแดงน้อยสุด ค่าสีของปลาที่ได้รับอาหาร 0.25 % แอสตาแซนทิน คือ ค่า L อยู่ในที่ 53.03 ± 1.91 ค่า a อยู่ในที่ 21.41 ± 0.56 และ ค่า b อยู่ในที่ 45.51 ± 0.37 โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมจะมีความเข้มสีต่ำสุด ($L = 53.11 \pm 1.20$ a = 15.56 ± 0.68 และ b = 44.14 ± 0.73) (ตารางที่ 8, 9 และ 10) จากนั้นเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8 - 12) พบว่า ค่าสีแดงของกลุ่มที่เคยได้รับ 0.25 % แอสตาแซนทิน มีค่ามากที่สุด ($p < 0.05$) และค่าความเข้มสีแดงจะลดลงในกลุ่ม 0.25 % แอสตาแซนทิน + 1% เซลลูโลส ส่วนกลุ่มควบคุมจะมีค่าสีแดงน้อยที่สุด ค่าของความสว่างและค่าของสีเหลืองทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ตลอดช่วงการทดลอง 12 สัปดาห์ไม่ว่าจะได้รับอาหารที่เสริมคาร์โรทีนอยด์หรือไม่

ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในเนื้อและเลือดของปลาหลังจากที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในเนื้อและเลือดไม่มีความแตกต่างกัน จากนั้นเมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม 0.25 % แอสตาแซนทิน และ 0.25 % แอสตาแซนทิน + 1% เซลลูโลส มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในเลือดเพิ่มขึ้น ส่วนการสะสมคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม 0.25 % แอสตาแซนทิน มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์สูงสุด ($p > 0.05$) และค่าความเข้มสีจะลดลงในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม 0.25% แอสตาแซนทิน + 1% เซลลูโลส ส่วนกลุ่มควบคุมมีระดับสะสมคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ

ต่ำที่สุด($p<0.05$) ดังตารางที่ 11 สอดคล้องกับการทดลองของ Kenan (2004) ทำการศึกษาปริมาณการดูดซึมสารอาหารในปลานิลโดยใช้แหล่งวัตถุดิบหลายชนิด คือ anchovy meal, corn gluten meal, soybean meal, gammarid meal และ crayfish exoskeleton meal สรุปว่าการดูดซึมสารอาหารมีดังนี้ การดูดซึมโปรตีน 90.5%, 89.0%, 87.4%, 75.8% และ 71.0% การดูดซึมไขมัน 97.5%, 94.0%, 92.1%, 75.8%, และ 72.0% ปริมาณเชื้อไขในตัวอย่าง 1.1%, 1.8%, 3.9%, 6.6%, และ 10.2% ตามลำดับ เห็นได้ว่ายังมีปริมาณเชื้อไขในวัตถุดิบอาหารมากกว่าการดูดซึมสารอาหารของปลานิลก็ยังคงลดลง ซึ่งการสะสมสารสีในปลาทองก็ลดลงตามปริมาณเชื้อไขในอาหารเช่นกัน เนื่องจากเชื้อไขเป็นตัวขัดขวางการดูดซึมของสารอาหารหรือสารสีทำให้ในการศึกษานี้มีค่าสีแดง ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด และในเนื้อลดลง

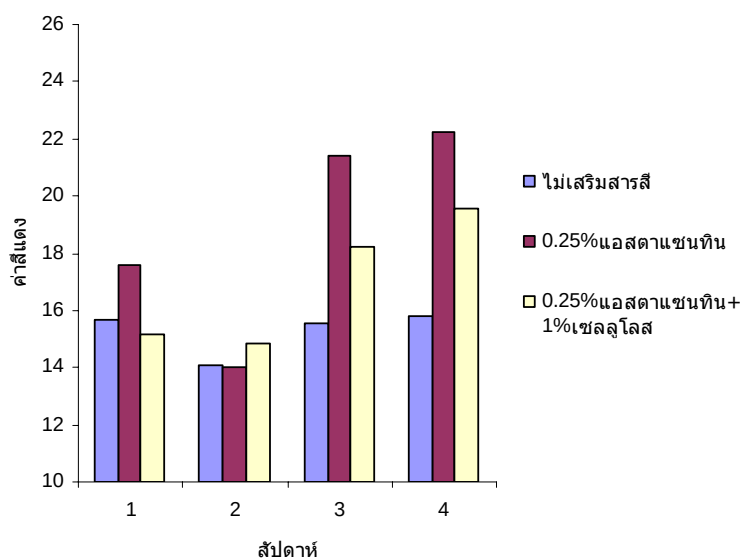


ภาพที่ 7 ค่าความสว่าง(L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ตารางที่ 8 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	64.14±2.42 ^a	55.93±1.06 ^a	53.11±1.20 ^a	52.73±0.22 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน	62.05±1.66 ^a	58.16±1.29 ^a	53.03±1.91 ^a	52.86±3.07 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	65.27±1.21 ^a	59.03±2.60 ^a	52.35±0.46 ^a	52.31±52.31 ^a
p - value	0.317	0.197	0.358	0.717

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)

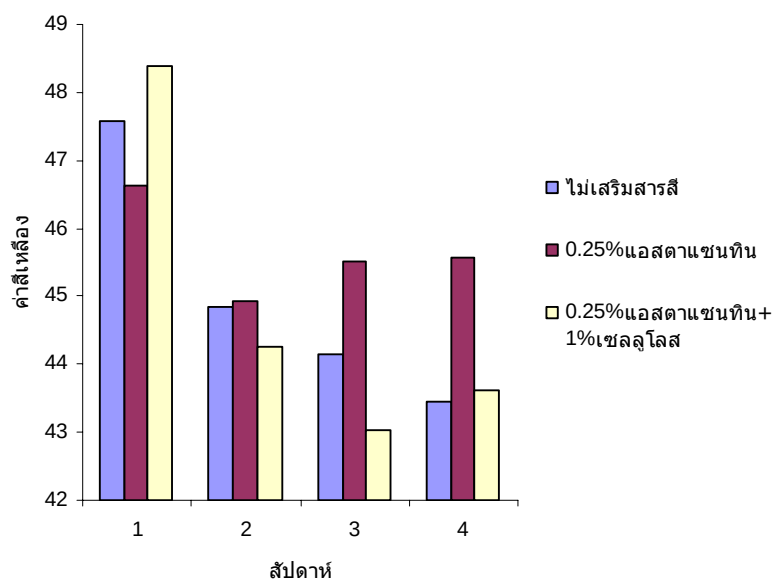


ภาพที่ 8 ค่าสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ตารางที่ 9 ค่าสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณ เชื้อไขต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	15.68±2.15 ^a	14.07±0.20 ^a	15.56±0.68 ^c	15.80±0.63 ^c
0.25%แอสตาแซนทิน	17.61±1.33 ^a	14.02±2.80 ^a	21.41±0.56 ^a	22.24±0.60 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	15.16±0.94 ^a	14.87±2.30 ^a	18.21±1.23 ^b	19.58±0.80 ^b
p - value	0.375	0.195	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)



ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ย (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ย (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	47.59±1.12 ^a	44.84±1.82 ^a	44.14±0.75 ^a	43.45±2.04 ^a
0.25%แอสตาแซนทีน	46.62±3.04 ^a	44.93±1.27 ^a	45.51±0.37 ^a	45.58±0.91 ^a
0.25%แอสตาแซนทีน + 1%เซลลูโลส	48.40±1.89 ^a	44.26±1.30 ^a	43.04±0.50 ^a	43.62±1.50 ^a
p - value	0.397	0.279	0.076	0.084

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด

ตารางที่ 11 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดของปลาทอง (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) ที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณ เชื้อไขต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	0.081±0.004 ^b	0.058±0.004 ^a	0.063±0.002 ^b	0.073±0.003 ^b
0.25%แอสดาแซนทิน	0.087±0.003 ^a	0.049±0.011 ^a	0.132±0.026 ^a	0.085±0.003 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	0.080±0.004 ^b	0.047±0.004 ^a	0.112±0.005 ^a	0.075±0.004 ^b
p - value	0.002	0.146	0.002	0.002

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ

ตารางที่ 12 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อปลาทอง (ไมโครกรัมต่อกรัม) ที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ที่มีปริมาณเชื้อไขต่างกัน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	4.31±0.30 ^b	2.76±0.13 ^a	2.69±0.12 ^c	2.13±0.30 ^c
0.25%แอสดาแซนทิน	4.72±0.40 ^a	2.77±0.47 ^a	6.96±0.07 ^a	4.45±0.40 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	4.51±0.54 ^b	2.72±0.23 ^a	6.71±0.10 ^b	4.27±0.54 ^b
p - value	< 0.001	0.105	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

3. ผลศึกษาการเสริมไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงสี และการจับกิน เชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง

3.1 ผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโตในปลาทอง

การศึกษาผลไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโตในปลาทอง โดยใช้ปลาทอง ขนาด 11.45 ± 1.72 กรัมต่อตัว ทำการทดลอง 12 สัปดาห์ ใช้อาหารที่มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ต่างกัน 7 สูตร พบว่า เมื่อเริ่มการศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วให้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นให้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ รวม 12 สัปดาห์ ปลาทดลองมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) ในทุกช่วงการทดลอง (สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 8, สัปดาห์ที่ 12) พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเพิ่มต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ ของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อได้รับอาหารทดลอง สัปดาห์ที่ 4 – 8 พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเพิ่มต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ ของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) และเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำ พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเพิ่มต่อวัน อัตราการแลกเนื้อ ของแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นกัน โดยในช่วง สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง $34.45 \pm 9.84 - 52.34 \pm 18.15$, ค่าน้ำหนักเพิ่มต่อวันอยู่ในช่วง $0.103 \pm 0.031 - 0.141 \pm 0.021$, ค่าอัตราการแลกเนื้ออยู่ในช่วง $1.34 \pm 0.57 - 1.99 \pm 0.76$ ในช่วง สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง $18.59 \pm 11.03 - 29.60 \pm 7.20$, ค่าน้ำหนักเพิ่มต่อวันอยู่ในช่วง $0.074 \pm 0.028 - 0.125 \pm 0.011$, ค่าอัตราการแลกเนื้ออยู่ในช่วง $1.75 \pm 1.55 - 2.96 \pm 0.80$ ในช่วง สัปดาห์ที่ 12 มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง $6.06 \pm 2.20 - 25.79 \pm 9.84$, ค่าน้ำหนักเพิ่มต่อวันอยู่ในช่วง $0.030 \pm 0.027 - 0.131 \pm 0.091$, ค่าอัตราการแลกเนื้ออยู่ในช่วง $1.65 \pm 0.80 - 7.23 \pm 3.87$

ดังนั้นอาหารที่ผสมไบออก 10 เปอร์เซ็นต์ ฟ้าทะลายโจร 10 เปอร์เซ็นต์ และแอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการศึกษาของ มะลิและคณะ (2537) ทดลองศึกษาผลการเสริม แคนตาแซนทิน และ แอสตาแซนทิน ระดับต่างๆในอาหารต่อสีของกุ้งกุลาดำ พบว่าการเสริม แคนตาแซนทิน และ แอสตาแซนทิน ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ยังพบว่าถ้าเสริม แอสตาแซนทิน 50 มิลลิกรัม/อาหารกิโลกรัม เลี้ยงกุ้งเพียง 4 สัปดาห์ ก็เพียงพอที่จะช่วยให้กุ้งมีสีตามที่ตลาดต้องการ

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบยอและฟัทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	34.45±9.84 ^a	27.44±8.32 ^a	9.59±3.29 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน	49.86±27.20 ^a	28.71±8.15 ^a	21.59±5.98 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน+1%เซลลูโลส	52.34±18.15 ^a	27.90±3.29 ^a	25.79±9.84 ^a
10%ไบยอ	45.98±5.98 ^a	29.60±7.20 ^a	9.97±8.32 ^a
10%ฟัทะลายโจร	35.04±3.29 ^a	18.59±11.03 ^a	11.28±18.15 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทิน	46.77±11.03 ^a	24.92±5.98 ^a	9.59±3.03 ^a
10%ฟัทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทิน	42.50±8.32 ^a	23.06±9.84 ^a	6.06±2.20 ^a
p - value	0.317	0.197	0.318

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

ตารางที่ 14 น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ย(กรัมต่อวัน)ของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบยอและฟัทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	0.117±0.032 ^a	0.125±0.011 ^a	0.056±0.061 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน	0.141±0.021 ^a	0.122±0.091 ^a	0.118±0.020 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน+1%เซลลูโลส	0.136±0.041 ^a	0.110±0.032 ^a	0.131±0.091 ^a
10%ไบยอ	0.128±0.040 ^a	0.121±0.061 ^a	0.053±0.011 ^a
10%ฟัทะลายโจร	0.103±0.031 ^a	0.074±0.028 ^a	0.053±0.032 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทิน	0.124±0.037 ^a	0.097±0.037 ^a	0.047±0.028 ^a
10%ฟัทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทิน	0.118±0.028 ^a	0.091±0.020 ^a	0.030±0.027 ^a
p - value	0.358	0.717	0.215

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

ตารางที่ 15 อัตราการแลกเนื้อของปลาทองเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบยอ และฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	1.75±0.78 ^a	1.98±0.87 ^a	4.69±0.78 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน	1.34±0.57 ^a	1.75±1.55 ^a	1.90±0.73 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน+1%เซลลูโลส	1.52±0.55 ^a	1.90±0.78 ^a	1.65±0.80 ^a
10%ใบยอ	1.69±0.87 ^a	1.85±0.57 ^a	4.32±0.76 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร	1.99±0.76 ^a	2.96±0.80 ^a	4.24±2.57 ^a
10%ใบยอ+0.25%แอสดาแซนทิน	1.63±0.80 ^a	2.16±0.73 ^a	4.74±2.55 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทิน	1.67±0.73 ^a	2.23±0.76 ^a	4.23±3.87 ^a
p - value	0.325	0.296	0.216

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

3.2 ผลของใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีในปลาทอง

การศึกษาผลใบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีในปลาทอง พบว่า เมื่อเริ่มการศึกษาลงจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4) ค่าความสว่างไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่8) ค่าความสว่างมีค่าลดลงทุกชุดการทดลองแต่ไม่มีความแตกต่างกัน หลังจากนั้นเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่12) ค่าความสว่างมีค่าคงที่และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) (ตารางที่ 16)

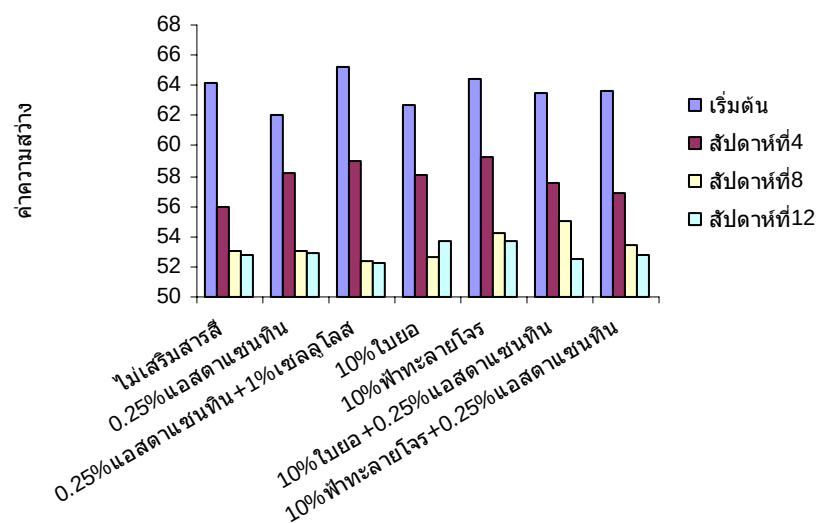
เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4) ค่าสีแดงไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) ค่าสีแดงของปลาที่ได้รับอาหารผสม 0.25%แอสดาแซนทิน มีค่ามากที่สุด คือ 21.41±0.56 รองลงมาคือ กลุ่มที่ได้รับ 10%ใบยอ+0.25%แอสดาแซนทิน กลุ่มควบคุมที่มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในอาหารต่ำมีค่าของสีแดงน้อยที่สุด คือ 15.56±0.68 หลังจากนั้นเมื่อได้รับอาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์

ที่ 12) ค่าของสีแดงยังคงที่และในชุดที่ได้รับ 0.25% แอสตาแซนทินค่าสีแดงมีค่ามากที่สุด (ตารางที่ 17)

ส่วนค่าสีเหลืองหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4) ค่าสีเหลืองไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) และ หลังจากนั้นเมื่อได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 12) ค่าความสีเหลืองมีค่ามีค่าคงที่และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 18)

เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ กลุ่มที่ได้รับอาหารแอสตาแซนทินสังเคราะห์จะมีความเข้มสีแดงมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ได้รับอาหารไบออยร่วมกับแอสตาแซนทินสังเคราะห์ โดยไบออยและฟ้าทะลายโจรสามารถช่วยในการเพิ่มของความเข้มสีในตัวปลาได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Bauernfeind (1981) รายงานถึงการใส่คาร์โรทีนอยด์ที่สกัดจากข้าวโพด หนุ่ยขาน และสาหร่ายสไปรูลินา นำไปผสมอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้ง *Penaeus japonicus* พบว่า เกิดการสะสมของแอสตาแซนทินในตัวกุ้งเพิ่มขึ้น และ วุฒิพร (2527) ทดลองในปลาแฟนซีคาร์พ โดยผสมรงควัตถุจากแหล่งต่างๆ จากอาหาร ได้แก่ สาหร่ายสไปรูลินา กุ้งป่น คาร์โรฟิล เรด, หอยแมลงภู่, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์เทอร์คอตร์, กลีบดอกดาวเรืองแห้งพันธุ์ไซเวอร์เรียนและฟักทอง พบว่าในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินา 10 เปอร์เซ็นต์ มีสีเข้มที่สุด ซึ่งบานชื่น (2532) ทดลองเลี้ยงปลาคูอกุ้ยด้วยอาหารที่ผสมสาหร่ายเกลียวทองสด (*Spirulina* sp.) ที่ระดับ 0, 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เพื่อศึกษาสีของเนื้อปลาคูอกุ้ย พบว่าสีของเนื้อปลาคูอกุ้ยจะเข้มขึ้น หากใช้สาหร่ายเกลียวทองสดผสมในอาหารปริมาณ ตั้งแต่ 5 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ความเข้มของสีเนื้อปลาจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสาหร่ายเกลียวทองและระยะเวลาที่เลี้ยงซึ่งการใช้แหล่งคาร์โรทีนอยด์จากพืชจะสามารถช่วยเพิ่มสีให้กับสัตว์น้ำได้

การเสริมวัตถุดิบจากพืชนั้นสามารถเพิ่มสีสรรของตัวปลาได้โดยแหล่งของพืชแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการสะสมของสีในตัวปลาแต่ละชนิดต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณคาร์โรทีนอยด์ที่สะสมในพืชชนิดนั้น

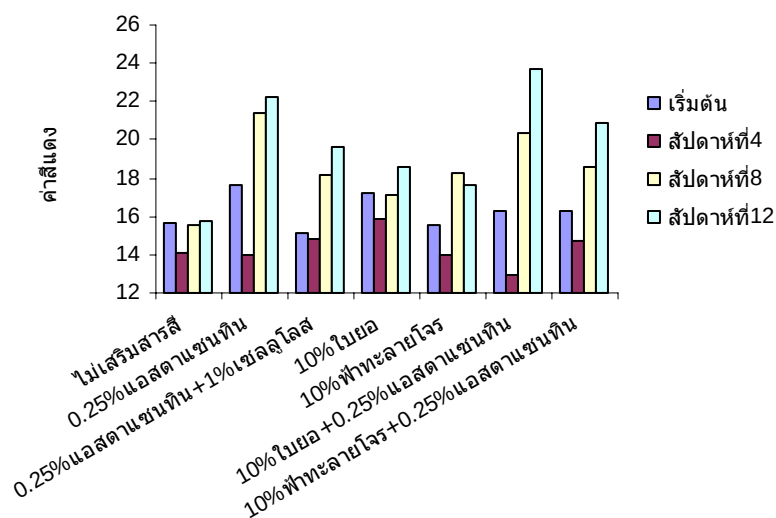


ภาพที่ 10 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟัทะลายโจร

ตารางที่ 16 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟัทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	64.14±2.42 ^a	55.93±1.06 ^a	53.11±1.20 ^a	52.73±0.22 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน	62.05±1.66 ^a	58.16±1.29 ^a	53.03±1.91 ^a	52.86±3.07 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน+ 1%เซลลูโลส	65.27±1.21 ^a	59.03±2.60 ^a	52.35±0.46 ^a	52.31±52.31 ^a
10%ไบโย	62.71±3.38 ^a	58.13±1.41 ^a	52.61±1.18 ^a	53.67±0.41 ^a
10%ฟัทะลายโจร	64.40±0.60 ^a	59.31±3.36 ^a	54.24±0.67 ^a	53.72±0.79 ^a
10%ไบโย+0.25%แอสตาแซนทิน	63.56±2.31 ^a	57.50±2.06 ^a	55.09±1.11 ^a	52.57±0.98 ^a
10%ฟัทะลายโจร+ 0.25%แอสตาแซนทิน	63.59±1.25 ^a	56.84±2.57 ^a	53.45±2.97 ^a	52.73±1.64 ^a
p-value	0.317	0.197	0.358	0.717

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

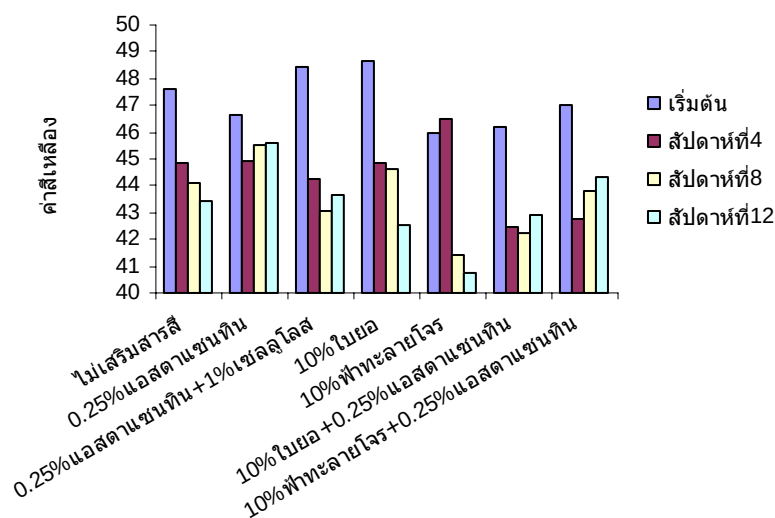


ภาพที่ 11 ค่าสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟัทะลายโจร

ตารางที่ 17 ค่าสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟัทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	15.68±2.15 ^a	14.07±0.20 ^a	15.56±0.68 ^d	15.80±0.63 ^{cd}
0.25%แอสตาแซนทิน	17.61±1.33 ^a	14.02±2.80 ^a	21.41±0.56 ^a	18.66±0.60 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	15.16±0.94 ^a	14.87±2.30 ^a	18.21±1.23 ^b	16.94±0.80 ^{bc}
10%ไบโย	17.22±1.36 ^a	15.83±1.38 ^a	17.16±1.88 ^{cd}	15.35±0.81 ^d
10%ฟัทะลายโจร	15.58±1.26 ^a	13.94±1.71 ^a	18.22±1.21 ^{bc}	14.42±0.74 ^d
10%ไบโย + 0.25%แอสตาแซนทิน	16.24±2.39 ^a	12.99±1.79 ^a	20.37±0.68 ^b	17.41±0.69 ^{ab}
10%ฟัทะลายโจร + 0.25%แอสตาแซนทิน	16.29±1.12 ^a	14.73±1.33 ^a	18.63±0.36 ^{bc}	17.41±1.20 ^{ab}
p-value	0.375	0.195	< 0.001	0.039

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)



ภาพที่ 12 ค่าเฉลี่ย (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟ้าทะลายโจร

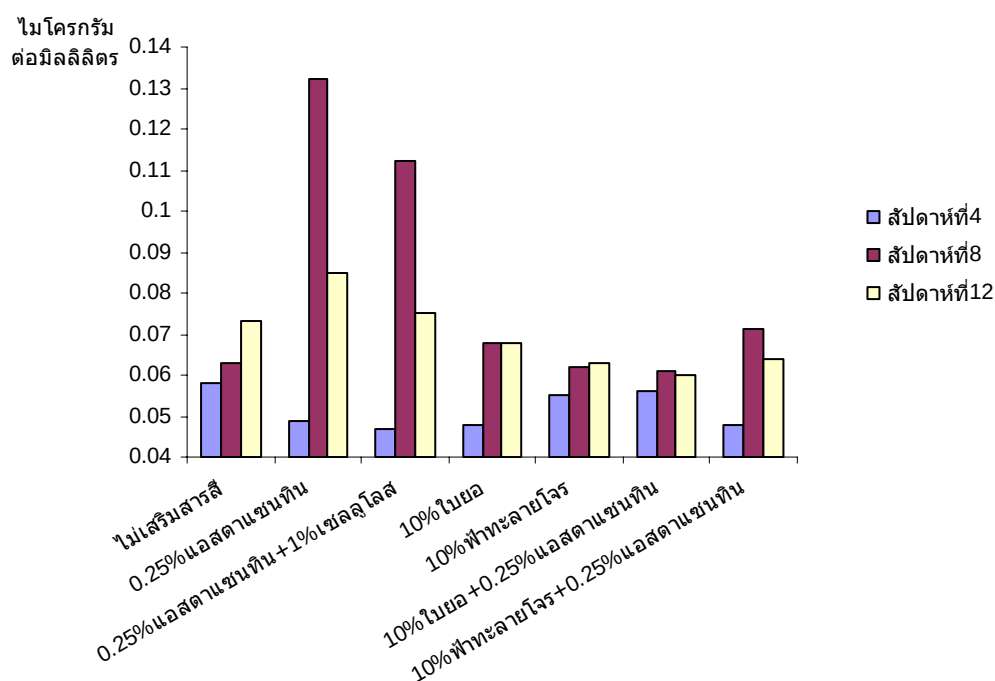
ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ย (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา			
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	47.59±1.12 ^a	44.84±1.82 ^a	44.14±0.75 ^a	43.45±2.04 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน	46.62±3.04 ^a	44.93±1.27 ^a	45.51±0.37 ^a	45.58±0.91 ^a
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	48.40±1.89 ^a	44.26±1.30 ^a	43.04±0.50 ^a	43.62±1.50 ^a
10%ไบโย	48.68±2.73 ^a	44.83±1.63 ^a	44.59±0.71 ^a	42.54±2.51 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร	45.94±2.02 ^a	46.48±2.52 ^a	41.42±3.55 ^a	40.76±0.65 ^a
10%ไบโย+ 0.25%แอสดาแซนทิน	46.20±0.37 ^a	42.48±0.94 ^a	42.24±1.07 ^a	42.90±1.58 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน	46.98±2.26 ^a	42.78±1.49 ^a	43.84±1.47 ^a	44.32±0.86 ^a
p-value	0.397	0.279	0.076	0.084

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

การศึกษาผลของไบยอกับฟ้าทะลายโจรต่อการสะสมปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด

การศึกษาผลของไบยอกับฟ้าทะลายโจรต่อการสะสมปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(สัปดาห์ที่4) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 0.25% แอสตาแซนทิน และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 0.25% แอสตาแซนทิน + 1% เซลลูโลส มีปริมาณปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดมากที่สุด ส่วนในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไบยอ 10% อาหารผสมฟ้าทะลายโจร 10% อาหารผสม 10% ไบยอ + 0.25% แอสตาแซนทิน อาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร + 0.25% แอสตาแซนทิน และกลุ่มควบคุมมีระดับคาร์โรทีนอยด์ในเลือดใกล้เคียงกัน เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(สัปดาห์ที่12) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดมีค่าลดลงทุกกลุ่มและในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เคยได้รับอาหารผสม 0.25% แอสตาแซนทิน ยังมีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือดมากที่สุด เนื่องจากได้รับอาหารเชื้อยต่ำกว่า ทั้งนี้เนื่องจากอาหารที่ผสมไบยอและฟ้าทะลายโจรมีระดับเชื้อย (3-3.7%) สูงกว่าอาหารกลุ่มควบคุม อาหารผสม 0.25%แอสตาแซนทิน และอาหาร 0.25%แอสตาแซนทิน+1%เซลลูโลส ที่มีระดับเชื้อยประมาณ 1 % จึงทำให้การดูดซึมคาร์โรทีนอยด์จากไบยอมีค่าต่ำ นอกจากนี้ชนิดสารสีในอาหารก็ยังมีผลต่อการดูดซึม โดยแอสตาแซนทินมีการดูดซึมที่ดีที่สุด ส่วนสารสีชนิดอื่น มะลิ (2537) ศึกษาในกุ้งกุลาดำโดยการเสริมแอสตาแซนทินเปรียบเทียบกับเบตาแคโรทีนพบว่า การเสริมแอสตาแซนทินจะสามารถเร่งสีได้ดีกว่าเบตาแคโรทีน 2.8 เท่า



ภาพที่ 12 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของปลาที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไขมันและฟัทะลายโจร

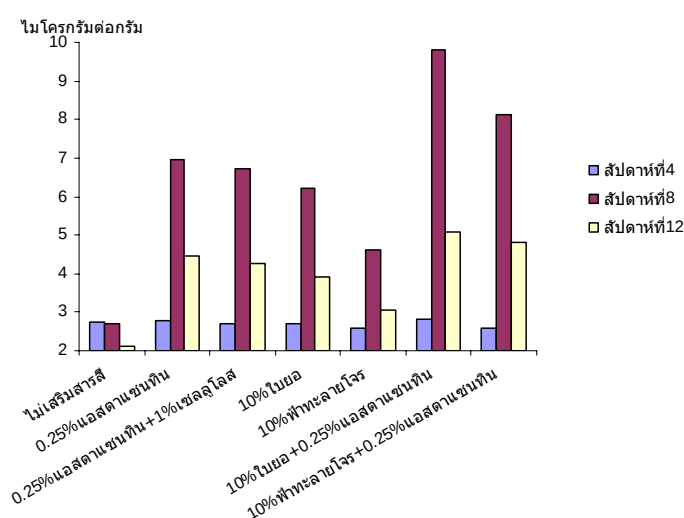
ตารางที่ 19 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเลือด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไขมันและฟัทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	0.058±0.004 ^a	0.063±0.002 ^b	0.063±0.003 ^c
0.25%แอสตาแซนทิน	0.049±0.011 ^a	0.132±0.026 ^a	0.085±0.003 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน + 1%แซลลูโลส	0.047±0.004 ^a	0.112±0.005 ^a	0.075±0.004 ^{ab}
10%ไขมัน	0.048±0.006 ^a	0.068±0.013 ^b	0.068±0.005 ^b
10%ฟัทะลายโจร	0.055±0.006 ^a	0.062±0.003 ^b	0.063±0.004 ^c
10%ไขมัน + 0.25%แอสตาแซนทิน	0.056±0.006 ^a	0.061±0.010 ^b	0.060±0.001 ^c
10%ฟัทะลายโจร + 0.25%แอสตาแซนทิน	0.048±0.007 ^a	0.071±0.003 ^b	0.064±0.003 ^c
p-value	0.146	0.002	0.002

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

การศึกษาผลของไบออกับฟัทะเลายใจต่อการสะสมปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ

การศึกษาผลของไบออกับฟัทะเลายใจต่อการสะสมปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(สัปดาห์ที่4) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่8) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไบออก10%+0.25%แอสดาแซนทิน และอาหารผสม10% ฟัทะเลายใจ+ 0.25%แอสดาแซนทิน มีปริมาณปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อมากที่สุด ($p<0.05$) และในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม10% ไบออก เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 0.25% แอสดาแซนทิน + 1% เซลลูโลส มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อใกล้เคียงกัน จะเห็นว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ไบออก มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ มากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟัทะเลายใจ เนื่องจากในไบออกมีปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมมากกว่าฟัทะเลายใจ เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา4สัปดาห์(สัปดาห์ที่ 12) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อมีค่าลดลงทุกกลุ่มและในกลุ่มที่เคยได้รับอาหารผสม 10% ไบออก + 0.25% แอสดาแซนทิน มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อมากที่สุด ($p<0.05$) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับ 0.25% แอสดาแซนทิน และ 0.25% แอสดาแซนทิน + 1% เซลลูโลส มีปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อรองลงมาตามด้วยกลุ่มที่ได้รับ 10% ไบออก และ 10% ฟัทะเลายใจ แสดงให้เห็นว่า สารสีในไบออกและฟัทะเลายใจแม้ว่าจะมีปริมาณต่างกันแต่มีระดับการสะสมในเนื้อใกล้เคียงกัน โดยสอดคล้องกับ Paripatananont *et al.* (1999) พบว่าการเสริมแอสดาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับ 36 ml/kg feed จะสามารถมีความคงทนของสีได้นาน 1 เดือน



ภาพที่ 14 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบออกและฟัทะเลายใจ

ตารางที่ 20 ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อ (ไมโครกรัมต่อกรัม) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	2.76±0.13 ^a	2.69±0.12 ^d	2.13±0.30 ^c
0.25%แอสดาแซนทิน	2.77±0.47 ^a	6.96±0.07 ^a	4.45±0.40 ^{ab}
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	2.72±0.23 ^a	6.71±0.10 ^b	4.27±0.54 ^{ab}
10%ใบขมิ้น	2.70±0.25 ^a	6.23±0.14 ^b	3.93±0.40 ^b
10%ฟ้าทะลายโจร	2.60±0.66 ^a	4.62±0.17 ^c	3.07±0.16 ^b
10%ใบขมิ้น + 0.25%แอสดาแซนทิน	2.82±0.18 ^a	9.79±0.59 ^a	5.08±0.47 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร + 0.25%แอสดาแซนทิน	2.57±0.52 ^a	8.14±0.17 ^a	4.80±0.49 ^a
p-value	0.105	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

3.3 ใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง

3.3.1 ใบขมิ้นและฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง ระยะเวลา 12 สัปดาห์

3.3.1.1 เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทอง

การศึกษาผลของใบขมิ้นกับฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4) เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร + 0.25%แอสดาแซนทิน มีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด (p<0.05) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำมีค่าเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของ

เม็ดเลือดขาวน้อยที่สุด ส่วนประสิทธิภาพการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบयोและฟ้าทะลายโจรพบว่า กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจรมีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ไบโย

เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(สัปดาห์ที่ 12) เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว มีค่าลดลงทุกกลุ่มและในกลุ่มที่เคยได้รับอาหารผสม ฟ้าทะลายโจร 10% มีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด ($p<0.05$)

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบโยและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา(เปอร์เซ็นต์)		
	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
ไม่เสริมสารสี	57.23±6.30 ^a	60.79±1.86 ^d	54.05±3.56 ^c
0.25%แอสดาแซนทิน	60.69±5.28 ^a	70.55±1.75 ^b	56.99±2.22 ^{bc}
0.25%แอสดาแซนทิน+1%เซลลูโลส	55.19±0.81 ^a	68.53±0.12 ^{bc}	61.09±2.31 ^{ab}
10%ไบโย	57.95±2.56 ^a	67.29±1.63 ^c	58.47±2.14 ^{abc}
10%ฟ้าทะลายโจร	52.27±0.93 ^a	69.38±1.29 ^{bc}	62.52±0.89 ^a
10%ไบโย+0.25%แอสดาแซนทิน	57.43±5.15 ^a	73.51±0.73 ^a	59.15±0.22 ^{ab}
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทิน	58.59±2.43 ^a	74.10±0.88 ^a	59.26±4.19 ^{ab}
p-value	0.285	< 0.001	0.026

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)

3.3.1.2 คณิตการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทอง

การศึกษาผลของไบโยกับฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่4) เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่8) คณิตการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร + 0.25%แอสดาแซนทิน และอาหารผสม 10% ไบโย +

0.25%แอสดาแซนทิน มีค่าดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด ($p<0.05$) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำมีค่าดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวน้อยที่สุด ส่วนประสิทธิภาพการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอและฟ้าทะลายโจรพบว่า กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร มีค่าดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ไบยอ

เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์(สัปดาห์ที่ 12) ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว มีค่าลดลงทุกกลุ่มและในกลุ่มที่เคยได้รับอาหารผสม 0.25%แอสดาแซนทิน +1%เซลลูโลส มีค่าดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด ($p<0.05$) เพราะการเสริมเซลลูโลสในระดับที่เหมาะสมจะทำให้การดูดซึมแอสดาแซนทินช้าลงซึ่งจะต้องใช้เวลาในการดูดซึมนานทำให้แอสดาแซนทินที่มีความสามารถเป็นสาร antioxidant นั้น สามารถรักษาสภาพของผนังเซลล์ของเม็ดเลือดได้นานขึ้น ทำให้เม็ดเลือดมีความแข็งแรงและทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ตารางที่ 22 ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบยอและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	สัปดาห์ที่4	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่12
ไม่เสริมสารสี	43.11±7.00 ^a	40.62±2.40 ^c	45.64±6.83 ^b
0.25%แอสดาแซนทิน	43.47±3.51 ^a	76.96±3.77 ^b	43.17±1.50 ^b
0.25%แอสดาแซนทิน+1%เซลลูโลส	40.20±3.53 ^a	68.02±0.11 ^c	62.63±3.64 ^d
10%ไบยอ	44.49±6.35 ^a	58.69±2.87 ^d	46.44±1.55 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร	44.29±3.07 ^a	64.95±2.35 ^c	59.91±0.42 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทิน	43.72±2.35 ^a	84.19±1.75 ^a	43.87±1.77 ^b
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทิน	44.25±1.73 ^a	87.78±2.08 ^a	47.33±3.41 ^a
p-value	0.900	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)

4. ประสิทธิภาพของไบยอและฟ้าทะลายโจรในการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง

การศึกษาประสิทธิภาพของไบยอและฟ้าทะลายโจรในการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง โดยวัดจากเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวซึ่งจะเป็นค่าบ่งชี้ถึงจำนวนเม็ดเลือดที่มีการทำงานของกระบวนการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวเมื่อเทียบกับเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และวัดจากดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวซึ่งจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการทำงานของเม็ดเลือดขาวกับสัดส่วนของการทำลายเชื้อโรคโดยค่าทั้งสองนี้ยิ่งมีค่ามากแสดงว่าการทำงานของเม็ดเลือดขาวยังมีประสิทธิภาพดี ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่า

4.1 เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทอง

การศึกษาประสิทธิภาพของไบยอกับฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (วันที่ 0 ของการศึกษา) เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 12 วัน เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน มีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน โดยกลุ่มที่ได้รับ 10% ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน กับ 10% ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน จะมีค่ามากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในวันที่ 6 ของการได้รับอาหารทดลอง

ตารางที่ 23 เปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทองตลอด 12 วันที่ได้รับ
อาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบยอและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	วันที่				
	0	3	6	9	12
ไม่เสริมสารสี	57.23±6.30 ^a	56.12±2.64 ^a	58.58±2.82 ^c	57.26±1.10 ^d	57.04±1.40 ^d
0.25%แอสดาแซนทิน	60.69±5.28 ^a	57.02±1.22 ^a	67.47±0.87 ^a	62.83±1.38 ^c	67.40±1.25 ^{bc}
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	55.19±0.81 ^a	58.99±4.83 ^a	62.14±1.83 ^b	61.82±1.26 ^c	66.82±1.39 ^c
10%ไบยอ	57.95±2.56 ^a	59.75±2.77 ^a	62.06±1.50 ^b	61.84±2.00 ^c	64.59±3.18 ^c
10%ฟ้าทะลายโจร	52.27±0.93 ^a	57.30±2.77 ^a	61.49±1.40 ^b	62.06±2.84 ^c	65.09±2.74 ^c
10%ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน	57.43±5.15 ^a	59.87±3.46 ^a	66.51±1.18 ^a	66.71±0.95 ^b	70.74±1.42 ^{ab}
10%ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน	58.59±2.43 ^a	61.98±3.66 ^a	68.10±1.01 ^a	71.10±2.84 ^{ba}	72.95±1.54 ^{ba}
p-value	0.285	0.067	< 0.001	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

4.2 ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทอง

การศึกษาประสิทธิภาพของไบยอกับฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว พบว่าเมื่อเริ่มศึกษาหลังจากปรับสภาพปลาโดยใช้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (วันที่ 0 ของการศึกษา) ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 12 วัน ดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน มีดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม 10% ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน โดยกลุ่มที่ได้รับ 10% ฟ้าทะลายโจร+ 0.25%แอสดาแซนทิน กับ 10% ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน จะมีค่ามากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05) ในวันที่ 6 ของการได้รับอาหารทดลอง

ตารางที่ 24 คำนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวของปลาทดลองตลอด 12 วันที่ได้รับอาหาร
คาร์โรทีนอยด์จากไบยอและฟ้าทะลายโจร

ชุดการทดลอง	วันที่				
	0	3	6	9	12
ไม่เสริมสารสี	43.11±7.00 ^a	46.65±1.49 ^a	41.88±5.51 ^d	43.63±1.21 ^d	44.67±1.40 ^d
0.25%แอสดาแซนทิน	43.47±3.51 ^a	50.37±0.91 ^a	55.06±1.01 ^b	63.79±4.58 ^b	71.52±3.84 ^b
0.25%แอสดาแซนทิน + 1%เซลลูโลส	40.20±3.53 ^a	45.70±8.19 ^a	50.72±1.53 ^{bc}	56.13±3.40 ^c	70.22±3.10 ^b
10%ไบยอ	44.49±6.35 ^a	47.02±9.44 ^a	52.33±1.71 ^{ab}	54.73±2.47 ^b	57.10±5.24 ^c
10%ฟ้าทะลายโจร	44.29±3.07 ^a	42.53±7.17 ^a	47.34±1.63 ^c	57.48±7.14 ^{bc}	61.75±0.98 ^c
10%ไบยอ + 0.25%แอสดาแซนทิน	43.72±2.35 ^a	52.31±9.44 ^a	67.11±2.12 ^a	72.57±1.06 ^a	77.74±3.34 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร + 0.25%แอสดาแซนทิน	44.25±1.73 ^a	53.58±7.62 ^a	64.13±1.49 ^a	71.18±3.79 ^a	78.95±4.15 ^a
p-value	0.900	0.518	< 0.001	< 0.001	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05)

ดังนั้นจากการศึกษาจะพบว่าผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว (Phagocytosis) ในปลาทอง เมื่อปลาได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์แล้วจะมีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นในวันที่ 6 ของการได้รับอาหาร โดยกลุ่มที่ผสมไบยอและฟ้าทะลายโจรจะมีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวและดัชนีการจับกินของเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมแอสดาแซนทิน โดยกลุ่มที่ใช้ไบยอกับฟ้าทะลายโจรร่วมกับแอสดาแซนทินสังเคราะห์จะให้ผลที่ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในไบยอจะมีสาร xeronine ที่จะช่วยเพิ่มจำนวน T-lymphocytes และ macrophages ทำให้ร่างกายมีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น ต่อต้านการเกิดเซลล์มะเร็ง รวมถึงทำให้การทำงานของเซลล์ที่ผิดปกติค่อย ๆ กลับมาทำงานอย่างเป็นปกติได้ และกระตุ้นการสร้างเซลล์ใหม่ ขึ้นเพื่อทดแทนเซลล์เก่าที่สูญเสียไป รวมถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวใหม่ ฟ้าทะลายโจรมี andrographolide, neoandrographolide และ deoxyandrographolide ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อโรค ซึ่งการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวนั้นอาศัยการทำงานของเม็ดเลือดชนิด macrophage ร่วมกับการทำงานของ T-lymphocyte ซึ่งต้องอาศัย

เวลาในการทำงานแต่ andrographolide จะทำให้เชื้อโรคอ่อนแอลงจะทำให้เม็ดเลือดขาวสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้น

ดังนั้นการใช้ใบขมิ้น 10 เปอร์เซ็นต์และฟ้าทะลายโจร 10 เปอร์เซ็นต์ผสมในอาหารจะสามารถกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวได้ในวันที่ 6

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในปลาทอง โดยใช้ปลาทองขนาด 11.45 ± 1.72 กรัมต่อตัว ให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเพื่อปรับสีให้คงที่เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วให้อาหารคาร์โรทีนอยด์จากไบออกและฟ้าทะลายโจรเปรียบเทียบกับสารสีสังเคราะห์แอสตาแซนทินเพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็คเลือดขาวในเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์เพื่อศึกษาการคงตัวของสีในปลาทอง ผลการศึกษาพบว่า

1. ปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมที่อยู่ในไบออกและฟ้าทะลายโจรมีปริมาณ 445.21 ± 9.13 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 316.80 ± 18.52 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ
2. ปริมาณเชื้อไขในอาหารมีผลต่อการดูดซึมสารสีในปลาทอง โดยปริมาณเชื้อไขในอาหารที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความเข้มสีแดง และปริมาณคาร์โรทีนอยด์รวมในเลือดและเนื้อลดลง ($p < 0.05$)
3. ผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเจริญเติบโตของปลาทอง เมื่อให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์แล้วให้อาหารที่มีคาร์โรทีนอยด์สังเคราะห์ อาหารผสมคาร์โรทีนอยด์จากไบออกและฟ้าทะลายโจร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ แล้วมาให้อาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำอีก 4 สัปดาห์ พบว่าคาร์โรทีนอยด์ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ($p > 0.05$)
4. ผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงสีในปลาทอง พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมไบออกและฟ้าทะลายโจรมีค่าสีแดงเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) แต่น้อยกว่าการใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อค่าความสว่างและค่าสีเหลือง ($p > 0.05$) นอกจากนี้การใช้ไบออกและฟ้าทะลายโจรร่วมกับการใช้แอสตาแซนทินสังเคราะห์ยังสามารถช่วยให้สีความเข้มสีแดงสูงขึ้น ($p < 0.05$) และมีค่าความคงตัวของสีนานขึ้น ($p < 0.05$) อีกเช่นกัน
5. ผลของไบออกและฟ้าทะลายโจรต่อการสะสมคาร์โรทีนอยด์ในเลือดของปลาทอง เมื่อเทียบกับแอสตาแซนทินสังเคราะห์ พบว่าแอสตาแซนทินสังเคราะห์สามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่า ($p < 0.05$) อาหารผสมไบออกและฟ้าทะลายโจร

6. ผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อการสะสมคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อของปลาทอง พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีไบยอ 10 เปอร์เซ็นต์ และฟ้าทะลายโจร 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ร่วมกับแอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้การสะสมคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อสูงขึ้น($p<0.05$) มากกว่าการใช้แอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียว และยังสามารถคงสภาพสีได้นานขึ้นอีกด้วย

7. ผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง หลังจากได้รับอาหารผสมไบยอและฟ้าทะลายโจรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับไบยอ 10 เปอร์เซ็นต์ และฟ้าทะลายโจร 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ร่วมกับแอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น($p<0.05$)

8. ผลของไบยอและฟ้าทะลายโจรต่อประสิทธิภาพของการกระตุ้นการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวในปลาทอง พบว่าหลังจากปลาทองได้รับอาหารผสมไบยอ 10 เปอร์เซ็นต์และฟ้าทะลายโจร 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแอสตาแซนทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ ปลาทองมีเปอร์เซ็นต์การจับกินเชื้อโรคและดัชนีการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด($p<0.05$)

9. การใช้ไบยอและฟ้าทะลายโจรในอาหารปลาทองที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลในการเพิ่มความเข้มสีและอัตราการจับกินเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาว

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาวัตถุดิบจากธรรมชาติชนิดอื่น ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์โรทีนอยด์ได้ แล้วใช้เป็นแหล่งคาร์โรทีนอยด์สำหรับเร่งสีสัตว์น้ำต่อไป
2. ศึกษาสัตว์น้ำชนิดอื่นที่เป็นสัตว์กินพืชจะสามารถเพิ่มส่วนที่เป็นวัตถุดิบจากพืชได้มากกว่าที่เป็นสัตว์กินเนื้อ เนื่องจากสัตว์กินพืชจะมีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุดิบจากพืชได้ดีกว่าสัตว์กินเนื้อ
3. ควรนำวัตถุดิบที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์โรทีนอยด์มาสกัดคาร์โรทีนอยด์และใช้ผสมกับอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถควบคุมปริมาณคาร์โรทีนอยด์ในอาหารได้ดีกว่าการใช้วัตถุดิบจากพืชโดยตรง และปริมาณเยื่อใยในอาหารจะลดลงด้วย เนื่องจากเยื่อใยเป็นอุปสรรคต่อการดูดซึมสารสีของสัตว์น้ำ
4. การใช้คาร์โรทีนอยด์ที่สกัดแล้วจะไม่มีสารพิษจากใบพืช จะแสดงผลของสารสีได้ชัดเจนขึ้น
5. การใช้วัตถุดิบจากพืชเพื่อเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันสามารถทำได้กับพืชอีกหลายชนิด จึงควรหาวัตถุดิบที่มีประสิทธิภาพและใช้ได้ง่ายในการผสมกับอาหารใช้ต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมประมง . 2544 . การพัฒนาปลาสวยงาม พรรณไม้น้ำและตลาดส่งออก . สรุปผลงานวิชาการ 75 ปีกรมประมง . กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ , กรุงเทพฯ.
- กาญจนาภรณ์ ลิ้มโนมนต์. 2527. สำหรับ.คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- กัลยา อนุลักขณาปกรณ์ อุไรวรรณ เพิ่มพิพัฒน์ .2540 .ฤทธิ์ของฟ้าทะลายโจรในการลดการบีบตัวของลำไส้เล็กและป้องกันการเกิดอาการท้องเสียในสัตว์ทดลอง . วารสาร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์;39(1):23-33
- งามพ่อง คงคาทิพย์ และ บุญส่ง คงคาทิพย์ . 2541 . สกัดและแยกสารandrographolideจากฟ้า
ทะลายโจร . ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ . ภาควิชาพืชไร่นา . คณะเกษตร.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- จริยา สีนเดิมสุข . 2536 . ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดบริสุทธิ์จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร
(*Andrographis paniculata*) ต่อเชื้อโรคท้องร่วงที่พบบ่อยในเมืองไทย . วารสารกรมการ
แพทย์;18(8);394-9.
- รัชชัย เลิศสุนทรกุล . 2545 . ปลาไทยที่น่ารู้จัก . สัตววิทยา . กรุงเทพฯ
- ทวีผล เดชาดิวงศ์ ณ อยุธยา . 2542 . มาตรฐานสมุนไพร ฟ้าทะลายโจร . สถาบันวิจัยสมุนไพร
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
- พิชญา ชัยนาค , ไวยพจน์ เครือเสนห์ และ ทวี จินดามัยกุล . 2544 . ผลของแอสดาแซนตินต่อปลา
กะพงแดง . เอกสารวิชาการ 19/2544 . กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ราเชนทร์ ถิรพร. 2537 . การเกษตรกรรมและการปรับปรุงพันธุ์ฟ้ายะลวย . รายงานผลการวิจัย

ประจำปี 2537 . สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รัชดาวรรณ พูนพิพัฒน์ . 2543 . ผลของการเสริมสมุนไพรฟ้ายะลวยในอาหารไก่กระตังและไก่

ไข่ . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

วิทย์ เทียงบุญธรรม . 2542 . สมุนไพรยอบ้าน . พจนานุกรมสมุนไพร . พิมพ์ครั้งที่ 5 . กรุงเทพฯ :

อักษรพิทยา .

วิญญู ธรรมลิขิตกุล . 2540 . กระบวนการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ . วิทยาศาสตร์การแพทย์ .

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย . กรุงเทพฯ

มะลิ บุญยรัตผลิน จารุวัฒน์ วรรณโกวัฒน์ ชุศักดิ์ บริสุทธิ์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2537 . ผลของแคน

ดาแซนทิน และแอสดาแซนทิน ที่ระดับต่างๆ ต่อสีของกุ้งกุลาดำ . เอกสารวิชาการ

18/2537. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .

มะลิ บุญยรัตผลิน กิจการ สุขุมาศย์ และ ชุศักดิ์ บริสุทธิ์ . 2543 . ผลของสารสี (Astaxanthin) ต่อ

การเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันโรคและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ

. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วทท.22, 633-639.

สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา . 2544 . วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ . สถาบันวิจัย

สุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา . กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .

อมร ลีลารัศมี สุวรรณา ตระกูลสมบุรณ์ นาถฤดี สิทธิสมวงศ์ . 2538 . สมุนไพรฟ้ายะลวย

สามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย . รายงานการประชุมฟ้ายะลวย

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ .

Alam, A.U., J.R. Couch and C.R. Girger. 1968. The carotenoids of the marigold(*Tagetes erecta*).

Can. J. Bot. 46 : 1539-1541.

Astaxanthin's Mechanism of Action Inc.2006. Retrived October 3, 2006 from <http://dcb-carot.unibe.ch/carotint.htm> and <http://www.carotenoidsociety.org/> วันที่สืบค้น 7 มีนาคม 2549.

Arpin , N.J. Fiasson and J.L. Fiasson. 1966. Recherches chimiotaxinomiques surles champignons. II. Les carotenoids de *Peniophora aurantica* (Bres)(Basidiomycete). **Bull. Soc. Mycol. France.** 82 : 450-459.

AOAC. 1984. **Official Methods of Analysis.** 14th ed., Association of Official Analysis Chemists, Washington, D.C. 1018 p.

Bailey, G.E. 1937. The pigments of salmon. **J. Biol. Board. Can.** 3(5) : 469-472.

Bauernfeind, J.C. 1981. **Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors.** Academic Press, New York. 938 p.

Bellamy, D. 1966. On the lipochromes in the skin of marine teleost fish with special reference to the painted comber(*Serranus scriba* L.). **Comp. Biochem. Physiol.** 77 : 1137-1140.

Boonyaratpalin. M. 1975. **Development of Flaked feeds for aquarium fish.** M.S. thesis, Auburn University, Alabama.

Borowitzka, M.A. 1989. Fats, oils and Hydrocarbons, pp. 27-58. *In* Borowitzka, M.A. and L.J. Borowitzka, eds. **Micro-algal Biotechnology.** Cambridge University Press , Cambridge.

Bramblia, S., J.A. Pino and C. Mendoza. 1963. Studies with a natural source of xanthopyll for the pigmentation of egg yolks and skin of poultry. **Poult Sci.** 42 : 294-300.

- Brown, T.E., F.L. Richard and M.L. Vaughn. 1976. **Development of repigmentation in *Chlorococcum wimmeri* (Chlorophyta : Chlorococcales)**. *Phycologia*. 6:167-184
- Calo , P., T. de Miguel, C. sieiro, J.B. Velazquez and T.G. Villa . 1995 . Ketocarotenoids in halobacteria: 3-hydroxy-echinenone and *trans*-astaxanthin . **J. of app. Bac.** 79:282-285.
- Ceccalde , H.J., D.F. Cheesman and P.E. Zagalsky . 1995 . Properties and characteristics of Ovoverdin . **Soc. Boil.** 160:587.
- Chien, Y.H. and Jeng,S.C.1992.Pigmentation of kuruma prawns,*Penaeus japonicus* Bate,by various pigment sources and levels and feeding regimes . **Aquature** 102,333-346.
- Choubert, G., Jr. 1979. Tentative utilization of spirulin algae as a source of carotenoid pigments for rainbow trout . **Aquaculture** 18 : 135-143.
- Crozier, G.F. and D.W. Wilke . 1966 . Occurrence of a dihydroxy epsilon carotene in a fish. *Comp . Biochem Physiol* . 18 : 801-804.
- Czeezuga, B.1974. Carotenoids in *Euglena rubida* Mainx . *Comp. Biochem. Physiol.* 48B: 349-354.
- Czygan, F.C. 1968 . Sekundor carotenoid in grunalgen. II. Untersuchungen Zur biogenese . *Arch . Microbiol* . 62: 209-236.
- D'Abramo, L.R., N.A. Baum, C.E. Bordner and D.E. Conklin . 1983 . Carotenoids as a source of pigmentation in juvenile lobsters fed a purified diet . **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 40 : 699-704.
- De la Mar, R.R. and F.J. Francis . 1969 . Cartenoid degradation in bleached paprika. **J. Food Sci.** 34(3) : 287-290.

- Droop, M.R. 1955 . Carotenogenesis in *Heamatococcus pluviialis* . **Nature** . 175:42.
- Fox, D.L. 1936 . Further studies of the carotenoids of two Pacific marine fishes, *Fundulus parvipinnis* and *Hypsypops rubicunda* and of a marine annelid, *Thoracophelia* sp. **Nat. Acad. Sci.** 25 : 50.
- Fox, H.M. and G. Vevers. 1957. Studies on the synthesis of a soluble protein antigen of an avirulent strain of *Pasteurella pestis*. **Bacteriol. Proc.** 136 p.
- Fox, H.M. and G. Vevers. 1960. **The Nature of Animal Colours**. Sidgwick and Jackson Limited, London. 270 p.
- Gil-Hwan A., D.B. Schuman and E.A. Johnson. 1989. Isolation of *Phaffia rhodozyma* mutants with increased astaxanthin content. **Applied and Environmental Microbiology**. 55: 116-124.
- Goodwin, T.W. 1951 . **Carotenoids in Fish**. Chem. Publ. CO., Inc., New York. 559 p.
- _____. 1955. **Cartenoids**, pp 272-311. In K. Parch and M.V. Tracey (eds.). *Modem Methods in Plant Analysis III*. Springer Verieag Berlin.
- Goodwin, T.W. 1984 . **The Biochemistry of The Carotenoids**. Chapman and Hall, London.
- Gouveia L.,Choubert G.,Pereira N.,Santinha J., Empis J. and Gomes J. 2002 . Pigmentation of gilthead seabrean,*Sparus aurata* (L.1875),using *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta,Volvocales)Microalga . **Aquaculture Research** 33.987-993.
- Greenberg, D.M. 1968 . **Metabolic Pathways**. Academic Press, New York. 511 p.

- Gupta S, Yadava JNS, Tandon JS. 1993 . Antisecretory (antidiarrhoeal) activity of Indian medicinal plants against *Escherichia coli* enterotoxin-induced secretion in rabbit and guinea pig ileal loop models. **Int J Pharmacog**;31(3):198-204.
- Hass,H.F. and L.D. Bushnell. 1944 . **The production of carotenoid pigments from mineral oil by bacteria.** J. Bacteriol. 48: 219-231.
- Hata, M. and M. Hata. 1975 . **Carotenoid pigments in rainbow trout, *salmo gairdnerii* irideus.** J. Agric Res. 26 : 35-40.
- Iizuka, H. and Y. Nishimura . 1969. **Microbiological studies on petroleum and natural gas X. Carotenoid pigments of hydrocarbon utilizing bacteria.** J. Gen. Microbiol. 15: 127-134.
- Johnson, E and W. A. Schroeder . 1995 . **Microbial Carotenoids**, pp. 119-178. In A. Fiechter, ed. Advance in Biochemical Engineering Biotechnology, Vol. 53.Springer-Verlag, Berom Heidelberg.
- Johnson, E.A. and M.J. Lewis . 1979 . **Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*.** J. Gen. Microbiol. 115:173-183
- Katayama, T., T. Miyahara, M. Shimaya and C.O. Chichester . 1972 . **The Biosynthesis of astaxanthin X. The carotenoids in the red carp *Cyprinus carpio* L, and the interconversion of beta – (15, 15`-3H2) carotene into their body astaxanthin.** Int. J.Biochem. 3 : 569-572.
- Katayama,T., K . Shintani, M. Shimaya, S. Imai and C.O. Chichester. 1972 . The biosynthesis of astaxanthin IX. The Transformation of labeled astaxanthin from the diet of sea bream, *Chrysophrys major* Temminck and Schlegel, to their body astaxanthin. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 38(12) : 1399-1403.

Kenan Koprucu and YaYar Ozdemir . 2004 . Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) . **Aquaculture** .250: 308– 316.

Kobayashi, M.,T. Kakizono and S. Nagai . 1991 . Astaxanthin production by a green algae, *Haematococcus pluvialis*, accompanied with morphological changes in acetate medium. **Journal of Fermentation Bioengineering**. 74: 61-63.

Lambertsen, G. and O.R. Braekkan. 1971 . **Method of analysis of astaxanthin and its occurrence in some marine products**. J. Sci Food Agri. 22:99-101.

Latscha. T. 1990. Carotenoids their Nature and Significance in Animal Feed. F. HoffmannLa Roche Ltd., **Animal Nutrition and Health**. Basel. Switzerland. 110p.

Lastcha, T.1991.**Carotenoids in aquatic animal nutrition.Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop**,Bangkok,Thailand,Sep.19-25.1991.pp.68-78.

Livingston, A.L., R.E. Knowles and G.O. Kohler . 1973. **comparison of two methods for the analysis of pigmentating xanthophylls in dried plant materials**. J. Assoc. Off. Agric. Chem. 56 : 1378-1381.

Macpherson, N.L. 1933 . **Vitamin A concentration of cod liver oil correlated with age of cod**. Nature 132 : 26-27.

Macwalter, R.J. and J.C. Drummond .1993 . The relation between lipochrome pigments red vitamin A in the nutrition of young fish. **Biochem. J.** 27 : 1415.

- Manunta, C. 1937 . **Sulla diffeunte natura dei pigmenti che colorando la pelle a le uova di due varieto di carassius**, I. La razza rossa. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 12 : 628-629.
- Mera Pharmaceuticals,Inc . 2004 . **What is Astaxanthin** . Retrived June 10, 2004 from <http://www.aquasearch.com>.
- Meyers, S.P. and J.E. Rutledge . 1971 . **Economic Utilization of crustacean meat** . Feedstuffs. 43(43) :16.
- Nakayama, T.O.M. 1962 . **Carotenoids**, pp.409-920. In R.A. Lewin(ed.). Physiology and Biochemistry of Alage. Academic Press, New York.
- Peterson, D.H., H.K. Jager and G.M. Savage . 1966 . **Natural coloration of trout using xanthophllis**. Trans. Am. Fish. Soc. 95 : 408-415.
- Philip, J.S. 1970 . **Poultry : Feeds and Nutrition** . The AVI Publishing Company, Inc., Connecticut. 510 p.
- Plander, H. 1992 . **Carotenoids : an overview**, pp. 3-13. *In* L.Packer, ed. Methods in Enzymology. 213. Academic Press, Inc., London.
- Prem, P.B. and G. Tollin . 1964 . Phototaxis. I. Isolation of the eye-spot granules and identification of the eye-spot pigments. **Biochem. Biophys. Acia.** 79(2) : 371-378.
- Quackenbush, F.W. and S.L. Miller . 1972 . **Composition and analysis of the carotenoids in marigold Petals**. J. Assoc. Off. Agric. Chem. 55 : 617-621.
- Renstrøm ,B.,G Borch, O.M. Skulberg and S.Liaaen-Jensen . 1981 . Optical purity of (3S, 3'S)-astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. **Phytochemistry.** 20: 2561-2564.

- Riley, J.P. and D.A. Segar. 1969. **Pigment of some Further Marine phytoplankton species.** J. Mar. Biol. Ass. 49(4) : 1047-1056.
- Saito, A. and L.W. Regier. 1971 . Pigmentation of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by feeding dried crustacean wastes. **J. Fish. Res. Board Can.** 28 : 509-512.
- Schmidt, P.J. and E.G. Baker, 1969. **Indirect pigmentation of salmon and trout.** J. Fish.Res. Board Can. 26 : 357-360.
- Scott ,M.L., I. Ascarelli and G. Olson. 1967. Studies of egg yolk pigmentation. **Poult Sci.** 47 : 863-872
- Spinelli, J., L. Lehman and D.H. Wieg. 1974. **Composition processing and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural ingredient.** J. Fish. Res. Board Can. 31 : 1025-1029
- Steven, D.M. 1947 . Astacene in the brown trout. **Nature** 160 : 507-508.
- _____. 1948 . **Studies on animal carotenoids.** 1 : Carotenoids of the brown trout (*Salmo trutta* L.) J. Exp Biol. 25 : 369-387.
- Storebakken , T., P. Foss, I. Huse, A. Wandsvik and T. Berglea . 1986 . Carotenoids in diets for salmonids. III. Utilization of canthaxanthin from dry and wet diets by Atlantic salmon, rainbow trout and sea trout. **Aquaculture** 44 : 259-269.
- Storebakken , T., P. Foss, Schiedt, E. Austreng, S. Liffen-Jensen and U. Manz. 1987. Carotenoids in diets for salmonids. IV. Pigmentation of Atlantic salmon with astaxanthin, astaxanthin dipalmitate and canthaxanthin. **Aquaculture** 65 : 279-292.

Sumner, F.B. and D.L. Fox. 1933. **A study of variations in the amount of yellow pigment (xanthophyll) in certain fishes and of the possible effects upon this of colored backgrounds.** J. Exp. Zool. 66 : 263-301.

_____ 1935a. Studies of carotenoid pigments in fishes III. The effects of ingested carotenoids upon the xanthophyll content of *Fundulus parvipinnus*. Proc. Nat. Acad. Sci. 21 : 330-340.

Sumner, F.B. and D.L. Fox . 1935a. **Studies of carotenoid pigments in fishes II.** Investigations of the effects of colored back grounds and of ingested carotenoids on the xanthophylls content of *Girella nigricans*. J. Exp. Zool. 64 : 337-403.

Tanaka, T., H. Matsuguch and T. Katayama. 1974. **Comparative biochemistry of carotenoids in algae IV.** Carotenoids in cyanophyta, blue green aglae *Spirulina platensis*. Mem. Ac. Fish. 23 : 111-115.

Tacon, A. G. J. 1981 . **Speculative review of possible carotenoid function in fish.** Prog . Fish-Cult 43 : 205-208.

Torrissen ,O .J. 1986 . Pigmentation of salmonids. Comparison of astaxanthin and canthaxanthin as pigment source for rainbow trout. **Aquaculture** 53 : 271-276.

Torrissen ,O .J. and R. Christiansen . 1994 . **Carotenoids and their functions in fish.** The 1 st Roche Aquaculture Center Conference On Nutritional Prophylaxis, 23 March 1994, Book of Rovithai. 375.

Yamada, S., Y. Tanaka, M. Sameshima and Y. Ito . 1990 . Pigmentation of prawn *Penaeus japonicus* with carotenoids I. Effect of dietary astaxanthin, β - carotene and cantaxanthin on pigmentation. **Aquaculture** 87 : 323-330.

Young, R.T. and D.L. Fox . 1936 . The structure and function of the gut in surf perches (Embiotocidae) with reference to their carotenoid metabolism. **Biol. Bull.** 71 :217-237.

Zagalsky, P. F. 1982 . A study of the yellow astaxanthin-protein of lobster carapace. *Comp. Biochem. Physiol.* 71B: 243.

Zagalsky, P. F. and R. Jones . 1982 . Quaternary structures of the astaxanthin proteins of *Velevella* and of β -crustacyanin of lobster carapace, as revealed in electron microscopy. *Comp. Biochem. Physiol.* 71B: 237.

Zar, J.H. 1984 . **Biostatistical Analysis**. 2nd edition. Prentice-Hall. New York.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ ก1 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์ทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์
(สัปดาห์ที่ 4) (ค่าเฉลี่ย + SD)

	การเจริญเติบโต				ปริมาณ อาหาร ที่กิน (กรัม)	อัตราการ เปลี่ยน อาหารเป็น เนื้อ	อัตรา รอด ตาย
	น้ำหนัก เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนัก สิ้นสุด (กรัม)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้นต่อ วัน(กรัม/ตัว/ วัน)			
ไม่เสริมสารสี	9.49	12.76	3.45±0.94	0.117±1.387	5.71	1.75±0.68	100
0.25%แอสดาแซนทีน	7.91	11.85	4.99±0.12	0.141±0.004	5.27	1.34±0.09	100
0.25%แอสดาแซนทีน +							
1%เซลลูโลส	7.27	11.08	5.23±0.11	0.136±0.003	5.77	1.52±0.04	100
10%ไบยอ	7.82	11.42	4.60±0.11	0.128±0.006	6.06	1.69±0.08	100
10%ฟ้าทะลายโจร	8.22	11.10	3.50±0.12	0.103±0.006	5.74	1.99±0.12	100
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทีน	7.42	10.89	4.68±0.09	0.124±0.004	5.66	1.63±0.11	100
10%ฟ้าทะลายโจร +							
0.25%แอสดาแซนทีน	7.78	11.09	4.25±0.16	0.118±0.006	5.53	1.67±0.76	100
p - value			0.053	0.472		0.44	1

ตารางผนวกที่ ก2 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟัทะลายโจร และแอสดา
 แชนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 8) (ค่าเฉลี่ย
 + SD)

	การเจริญเติบโต				ปริมาณ อาหาร ที่กิน (กรัม)	อัตราการ เปลี่ยน อาหารเป็น เนื้อ	อัตรา รอด ตาย
	น้ำหนัก เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนัก สิ้นสุด (กรัม)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้นต่อ วัน(กรัม/ตัว/ วัน)			
ไม่เสริมสารสี	12.76	16.26	2.74±0.94	0.125±1.387	6.92	1.98±0.68	100
0.25%แอสดาแชนทิน	11.85	15.26	2.87±0.12	0.122±0.004	5.96	1.75±0.09	100
0.25%แอสดาแชนทิน +							
1%เซลลูโลส	11.08	14.17	2.80±0.11	0.110±0.003	5.86	1.90±0.04	100
10%ไบยอ	11.42	14.80	2.96±0.11	0.121±0.006	6.24	1.85±0.08	100
10%ฟัทะลายโจร	11.10	13.16	1.86±0.12	0.074±0.006	6.11	2.96±0.12	100
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแชนทิน	10.89	13.60	2.49±0.09	0.097±0.004	5.88	2.16±0.11	100
10%ฟัทะลายโจร +							
0.25%แอสดาแชนทิน	11.09	13.64	2.31±0.16	0.091±0.006	5.71	2.23±0.76	100
p - value			0.053	0.472		0.44	1

ตารางผนวกที่ ก3 การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์ทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์
(สัปดาห์ที่ 12) (ค่าเฉลี่ย + SD)

	การเจริญเติบโต				ปริมาณ อาหาร ที่กิน (กรัม)	อัตราการ เปลี่ยน อาหารเป็น เนื้อ	อัตรา รอด ตาย
	น้ำหนัก เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนัก สิ้นสุด (กรัม)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนัก เพิ่มขึ้นต่อ วัน(กรัม/ตัว/ วัน)			
ไม่เสริมสารสี	16.26	17.82	0.96±0.94	0.056±1.387	7.31	4.96±0.68	100
0.25%แอสดาแซนทีน	15.26	18.55	2.16±0.12	0.118±0.004	6.27	1.90±0.09	100
0.25%แอสดาแซนทีน +							
1%เซลลูโลส	14.17	17.82	2.58±0.11	0.131±0.003	6.04	1.65±0.04	100
10%ไบยอ	14.80	16.27	1.00±0.11	0.053±0.006	6.36	4.32±0.08	100
10%ฟ้าทะลายโจร	13.16	14.65	1.13±0.12	0.053±0.006	6.30	4.24±0.12	100
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทีน	13.60	14.91	0.96±0.09	0.047±0.004	6.19	4.74±0.11	100
10%ฟ้าทะลายโจร +							
0.25%แอสดาแซนทีน	13.64	14.47	0.61±0.16	0.030±0.006	5.98	7.23±0.76	100
p - value			0.053	0.472		0.44	1

ตารางผนวกที่ ก4 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟัทะลายโจร และ แอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น*	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ไม่เสริมสารสี	55.93±1.06 ^a	54.66±2.40 ^a	53.11±1.20 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน	58.16±1.29 ^a	56.97±4.89 ^a	53.03±1.91 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน+1%เซลลูโลส	59.03±2.60 ^a	53.35±1.82 ^a	52.35±0.46 ^a
10%ไบยอ	58.13±1.41 ^a	55.43±3.84 ^a	52.61±1.18 ^a
10%ฟัทะลายโจร	59.31±3.36 ^a	54.12±1.93 ^a	54.24±0.67 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสตาแซนทิน	57.50±2.06 ^a	55.63±3.90 ^a	55.09±1.11 ^a
10%ฟัทะลายโจร+0.25%แอสตาแซนทิน	56.84±2.57 ^a	53.50±5.97 ^a	53.45±2.97 ^a
p-value	0.197	0.818	0.358

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองที่ 3

ตารางผนวกที่ ก5 ค่าความเป็นสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมใบยอ ฟ้าทะลายโจร และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น*	สัปดาห์ที่2	สัปดาห์ที่4
ไม่เสริมสารสี	14.07±0.20 ^a	15.42±1.20 ^a	15.56±0.68 ^d
0.25%แอสตาแซนทิน	14.02±2.80 ^a	18.10±1.71 ^a	21.41±0.56 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน+1%เซลลูโลส	14.87±2.30 ^a	16.56±2.59 ^a	18.21±1.23 ^b
10%ใบยอ	15.83±1.38 ^a	16.63±0.33 ^a	17.16±1.88 ^{cd}
10%ฟ้าทะลายโจร	13.94±1.71 ^a	15.86±3.99 ^a	18.22±1.21 ^{bc}
10%ใบยอ+0.25%แอสตาแซนทิน	12.99±1.79 ^a	18.75±0.85 ^a	20.37±0.68 ^b
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสตาแซนทิน	14.73±1.33 ^a	17.74±1.70 ^a	18.63±0.36 ^{bc}
p-value	0.195	0.532	< 0.001

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองที่ 3

ตารางผนวกที่ 6 ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมไบยอ ฟัทะลายโจร และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ กันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น*	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ไม่เสริมสารสี	44.84±1.82 ^a	42.05±3.28 ^b	44.14±0.75 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน	44.93±1.27 ^a	48.31±1.62 ^a	45.51±0.37 ^a
0.25%แอสตาแซนทิน+1%เซลลูโลส	44.26±1.30 ^a	42.94±0.86 ^b	43.04±0.50 ^a
10%ไบยอ	44.83±1.63 ^a	43.94±1.51 ^b	44.59±0.71 ^a
10%ฟัทะลายโจร	46.48±2.52 ^a	40.94±3.10 ^b	41.42±3.55 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสตาแซนทิน	42.48±0.94 ^a	42.51±2.02 ^b	42.24±1.07 ^a
10%ฟัทะลายโจร+0.25%แอสตาแซนทิน	42.78±1.49 ^a	42.98±0.57 ^b	43.84±1.47 ^a
p-value	0.279	0.007	0.076

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองที่ 3

ตารางผนวกที่ ก7 ค่าความสว่าง (L*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น*	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ไม่เสริมสารสี	53.11±1.20 ^a	55.84±2.66 ^a	52.73±0.22 ^a
0.25%แอสดาแซนทีน	53.03±1.91 ^a	56.17±1.39 ^a	52.86±3.07 ^a
0.25%แอสดาแซนทีน+1%เซลลูโลส	52.35±0.46 ^a	56.53±0.51 ^a	52.31±52.31 ^a
10%ไบยอ	52.61±1.18 ^a	56.53±3.27 ^a	53.67±0.41 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร	54.24±0.67 ^a	56.48±0.75 ^a	53.72±0.79 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทีน	55.09±1.11 ^a	56.86±1.44 ^a	52.57±0.98 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทีน	53.45±2.97 ^a	56.71±1.12	52.73±1.64
p-value	0.358	0.554	0.717

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองที่ 3

ตารางผนวกที่ 8 ค่าความเป็นสีแดง (a*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น*	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ไม่เสริมสารสี	15.56±0.68 ^d	15.68±0.19 ^a	15.80±0.63 ^{cd}
0.25%แอสดาแซนทีน	21.41±0.56 ^a	20.42±0.33 ^a	18.66±0.60 ^a
0.25%แอสดาแซนทีน+1%เซลลูโลส	18.21±1.23 ^{bc}	18.69±1.43 ^a	16.94±0.80 ^{bc}
10%ไบยอ	17.16±1.88 ^{cd}	16.43±1.13 ^a	15.35±0.81 ^d
10%ฟ้ายะลาโย	18.22±1.21 ^{bc}	16.43±1.36 ^a	14.42±0.74 ^d
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทีน	20.37±0.68 ^b	20.35±0.55 ^a	17.41±0.69 ^{ab}
10%ฟ้ายะลาโย+0.25%แอสดาแซนทีน	18.63±0.36 ^{bc}	19.33±0.66 ^a	17.41±1.20 ^{ab}
p-value	< 0.001	0.21	0.039

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองที่ 3

ตารางผนวกที่ ก9 ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ของปลาทองที่ได้รับอาหารคาร์โรทีนอยด์ต่ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย + SD)

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา		
	เริ่มต้น	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4
ไม่เสริมสารสี	44.14±0.75 ^a	44.43±1.12 ^a	43.45±2.04 ^a
0.25%แอสดาแซนทีน	45.51±0.37 ^a	46.47±0.99 ^a	45.58±0.91 ^a
0.25%แอสดาแซนทีน+1%เซลลูโลส	43.04±0.50 ^a	45.43±0.94 ^a	43.62±1.50 ^a
10%ไบยอ	44.59±0.71 ^a	43.41±1.86 ^a	42.54±2.51 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร	41.42±3.55 ^a	43.61±1.25 ^a	40.76±0.65 ^a
10%ไบยอ+0.25%แอสดาแซนทีน	42.24±1.07 ^a	44.41±0.37 ^a	42.90±1.58 ^a
10%ฟ้าทะลายโจร+0.25%แอสดาแซนทีน	43.84±1.47 ^a	44.40±2.35 ^a	44.32±0.86 ^a
p-value	0.076	0.195	0.084

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

* = สัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองที่ 3

ภาคผนวก ข

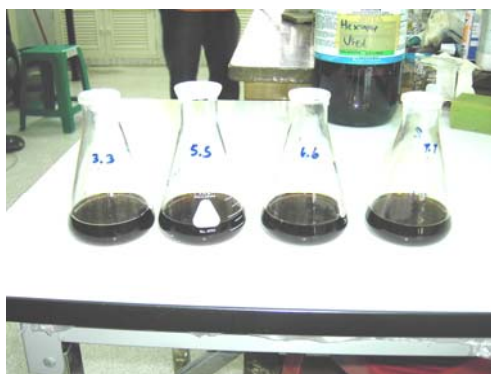
การสกัดคาร์โรทีนอยด์

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

1. hexane
2. ethnal
3. กระดาษกรองเบอร์ 1
4. sodium sulfate anhydrous
5. separating funnel
6. acetone
7. suction pump
8. rotary evaporation

วิธีทำ

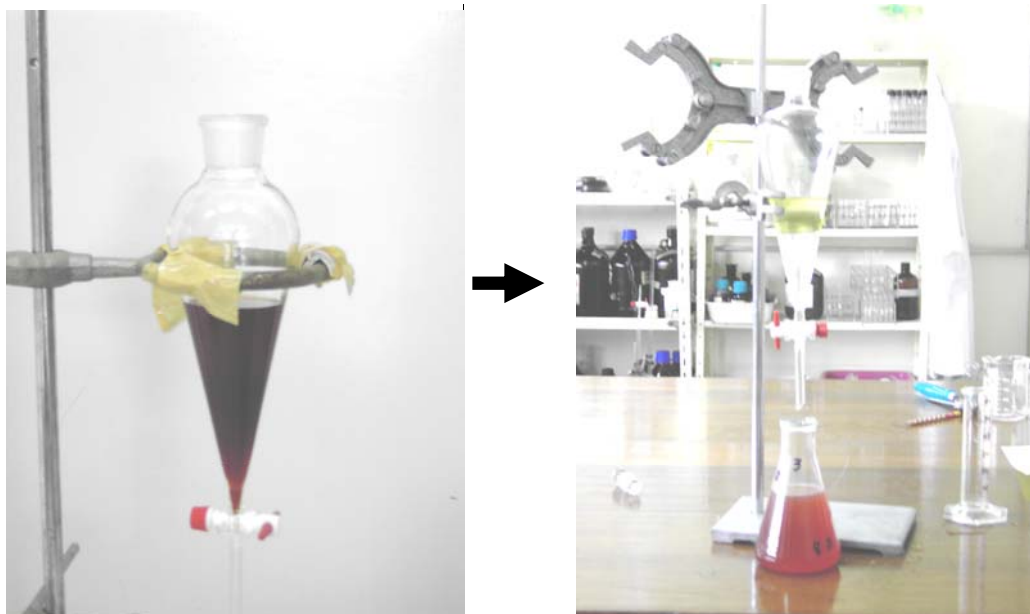
1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5 กรัม ลงโอบคผสมของเหลว
2. เติม acetone 30 มิลลิลิตร เขย่าทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง



3. เทเฉพาะส่วนสารละลายเก็บไว้แล้วล้างด้วย acetone จนสีหมด
4. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จัดล้างส่วนที่ค้างอยู่ในโอบคและบนกระดาษกรองด้วย acetone
5. นำส่วนที่กรองได้เทลงในกรวยแยก (separating funnel)
6. ขูดส่วนบนของกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่มีตัวอย่างอาหารค้างอยู่ใส่ลงไปพร้อมกับตัวอย่างลงในโอบค เติม acetone 10 มิลลิลิตร บดเป็นเวลา 1 นาที

7. กรองแล้วนำส่วนที่กรองได้เทรวมลงในกรวยแยกอันแรก แล้วเติม methannlic potassium hydroxide 20 % ลงไป 10 มิลลิลิตร

8. เติม hexane 30 มิลลิลิตร แล้วเขย่าอย่างแรงทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมน้ำ ครั้งละ 50 มิลลิลิตร แล้วไขส่วนล่างทิ้ง ทำแบบเดียวกัน 3 ครั้ง



9. ไขส่วน hexane ใส่ใน flask แล้วเติม sodium sulfate anhydrous 5 กรัม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 430



10. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคาร์โรทีนอยด์



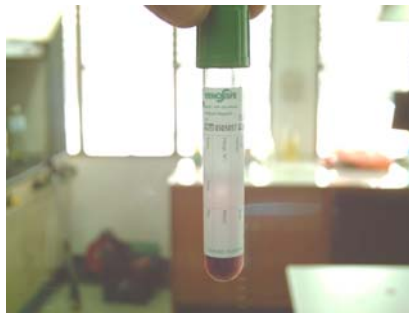
การคำนวณหาค่า

$$\text{Total carotenoid} = \frac{\text{OD}_{480} \times 100(\text{ml ของ hexane}) \times 1000}{2,500 \times 100 \times 10(\text{ml ของตัวอย่าง})} \quad \text{mg/ml}$$

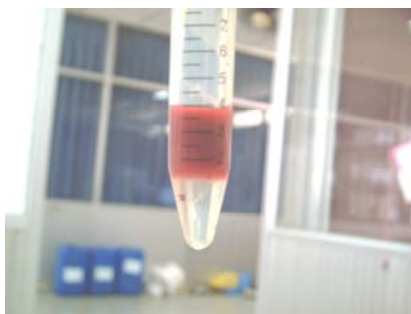
วิธีวิเคราะห์ Phagocytic activity

เทคนิคการวิเคราะห์ให้เซลล์ในถังน้ำแข็งตลอดทุกขั้นตอนการวิเคราะห์

1. เก็บเลือดปลาจาก Dorsal aorta ปริมาณ 2 มล. ในหลอดฉีดยา ที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด



2. เติม RPMI 1640 4 มล. ในหลอดที่มีเลือดปลา
3. นำสารละลายเลือดในข้อ 2 ปริมาณ 2 มล. ใส่ลงในหลอดที่มี Histopaque 2 มล. แล้วไปปั่นที่ความเร็วรอบ 400 g เป็นเวลา 30 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 5°C นำส่วนใสด้านบนทิ้งไปโดยใช้ dropper คูดอกค่อยๆ คูด อย่าให้ตะกอนเม็ดเลือดฟุ้งขึ้นมา



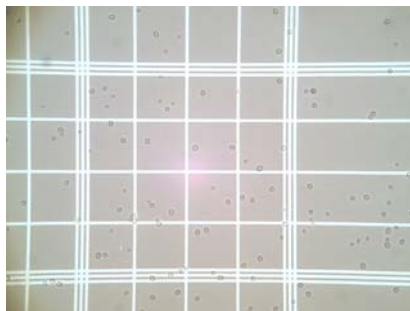
4. เติม PBS 10 มล. โดยใช้ ไมโครปิเปต และค่อยๆ ใช้ไมโครปิเปตดูดขึ้นลงเพื่อให้สารละลายเข้ากัน
5. นำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 400 g เป็นเวลา 10 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 5°C เพื่อล้างตะกอนโดยทำเช่นนี้ 2 ครั้ง
6. ละลายตะกอนใน PBS และค่อยๆ ใช้ไมโครปิเปตดูดขึ้นลง เพื่อให้สารละลายเข้ากัน
7. นำสารละลายเม็ดเลือด 50 μ l ดูดใส่ hemocytometer นับจำนวน แล้วนำมาคำนวณให้ได้เซลล์ประมาณ 2×10^6 cell/ml.
8. นำสารละลายเซลล์จำนวน 200 μ l เลี้ยงบน cover slip โดย spread ให้ทั่ว ทิ้งไว้ 20 นาที ล้างด้วย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
9. หยดสารละลาย heat-killed yeast /2 ml. (2×10^7 cell/ml.) เลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง



10. ล้างด้วย PBS 5 ครั้ง
11. หยดน้ำยา Diff-Quick staining dye



12. นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อบันทึกจำนวนเซลล์เม็ดเลือด นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด โดยสุ่มนับจำนวนในแต่ละตัว 3 cover slip ประมาณ 300 เซลล์ เพื่อหาค่าเฉลี่ย



การคำนวณ Phagocytic ได้จาก

$$1) \% \text{ Phagocytosis} = \frac{\text{เซลล์ทั้งหมดที่กินเซลล์ ยีสต์ (B)}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด (A)}} \times 100$$

$$2) \text{ Phagocytic index} = \frac{B}{A} \times \frac{C}{A} \times 100$$

A A

C = จำนวนเซลล์ที่กินยีสต์เข้าไป

$$3) \text{ จำนวนเซลล์ที่กินยีสต์ 100 เซลล์} = \frac{C}{A} \times 100$$

A

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายชฎาธาร โทนเดี่ยว
วัน เดือน ปี ที่เกิด	06/02/2527
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) มหาวิทยาลัย ทักษิณ จังหวัดสงขลา (พ.ศ. 2544)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-