**สารบาญ**


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| คำนำ | 3 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ | 4 |
| ผลการทดลอง | 7 |
| วิจารณ์ผลการทดลอง | 13 |
| สรุปผลการทดลอง | 17 |
| ข้อเสนอแนะ | 18 |
| คำขอบคุณ | 18 |
| เอกสารอ้างอิง | 18 |
| ภาคผนวก | 21 |

# สารบาญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ส่วนประกอบของอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง 6ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และ ปลาการ์ตูนทอง | 6 |
| 2 | องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง | 7 |
| 3 | ชนิดแคโรทีนอยด์ (% Area) บริเวณผิวหนังกลุ่มปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหาร ซึ่งมีแคโรทีนอยด์ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน | 9 -10 |
| 4 | ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (mg/kg) ในกลุ่มปลาการ์ตูนที่ให้กินอาหาร ซึ่งมีชนิดแคโรทีนอยด์ ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน | 11 |
| 5 | ค่าเฉลี่ยของสีในกลุ่มปลาการ์ตูนที่ให้กินอาหารซึ่งมีชนิดแคโรทีนอยด์ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน | 13 |

# สารบาญภาพ

**ภาพผนวกที่** **หน้า**

1. ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนส้มขาว 21
2. ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนลายปล้อง 22
3. ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ 23
4. ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนแดง 24
5. ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนทอง 25

# เมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris* Cuvie, 1830) ปลาการ์ตูนทอง *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) ปลาการ์ตูนลายปล้อง *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830) ปลาการ์ตูนแดง *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) และปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus* Brevoort, 1856)

**นงลักษณ์ สำราญราษฎร์[๑*] มนทกานติ ท้ามติ้น[๑] และประดิษฐ์ ชนชื่นชอบ [๒]**
สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง[๑] ราชการบริหารส่วนกลาง กรมประมง [๒]

## บทคัดย่อ

ศึกษาเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนทอง ปลาการ์ตูนแดง ปลาการ์ตูนลายปล้อง และปลาการ์ตูนมะเขือเทศ โดยใช้อาหารเม็ดที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ อาหารเม็ดที่เสริมเบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนวัยอ่อนแต่ละชนิด อายุ 1 เดือน ในตู้กระจกขนาด 30x60x30 เซนติเมตร ตู้ละ10 ตัว ด้วยอาหารทดลองแต่ละสูตร สูตรละ 3 ซ้ำ แบบให้กินจนอิ่ม เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลอง พบว่าสีของปลาการ์ตูนส้มขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีนและแคนทาแซนทิน ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ แต่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีนและซีแซนทีน พบว่าบริเวณผิวหนังปลามีสีเข้มขึ้น และพบแคโรทีนอยด์ชนิดซีแซนทีนและลูทีน ส่วนปลาที่เสริมแอสตาแซนทินในอาหาร พบว่าไม่มีการสะสมของแอสตาแซนทิน แต่กลับพบการสะสมของซีแซนทีนและมีค่าใกล้เคียงกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีน ดังนั้นเป็นที่แน่ชัดว่าปลาการ์ตูนส้มขาวสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นซีแซนทีนได้ ส่วนปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าการเสริมแคโรทีนอยด์เหล่านี้ในอาหาร พบการสะสมของลูทีนหรือซีแซนทีน ทำให้เกิดสีส้มเหลืองบริเวณผิวหนังปลา ขณะเดียวกันทดลองกับปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทองได้ผลดี และพบการสะสมของเบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทีน เพิ่มขึ้นบริเวณผิวหนังของปลา แต่ปลาที่เสริมแอสตาแซนทินในอาหาร ทำให้เกิดสีแดงบริเวณผิวหนังปลา ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการเพิ่มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

**คำสำคัญ** : ปลาการ์ตูน แคโรทีนอยด์ เมแทบอลิซึม

* ผู้รับผิดชอบ: ๔๑/๑๔ หมู่ ๙ ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ๒๐๑๑๐ โทร ๐๓๘๓๑๒๕๓๒
E-mail: nsamranrat@yahoo.com

# Metabolism of Carotenoid in Clownfish Species; False Percula Clownfish, (*Amphiprion ocellaris* Cuvie, 1830) Spine-cheek Anemonefish, *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) Clark's Anemonefish, *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830) Spine-cheek Anemonefish, *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) and Tomato Anemonefish, (*Amphiprion frenatus* Brevoort, 1856)

**Nonglak Samranrat[1*] Montakan Tamtin[1] and Pradit Chonchuenchob [2]**

[1]Coastal Aquatic Feed Research Institute [2] Department of Fisheries

## Abstract

Study on metabolism of carotenoid sources in False percula clownfish, Spine-cheek anemonefish: red and golden strains, Clark's anemonefish and Tomato anemonefish was conducted using the pelleted diet containing each of β-carotene, canthaxanthin, astaxanthin, lutein, zeaxanthin and without carotenoid source at dietary level of 100 mg/kg feed. Ten fish of each species was reared in an aquarium size of 30 x 60 x 30 cm and fed each test diet with 3 replications to satiation three times a day for 12 weeks. The results showed that the body color of False percula clownfish fed with diets containing lutein or zeaxanthin was more intensive than those using β-carotene and canthaxanthin. In addition both zeaxanthin and lutein were the main carotenoids found in skin of this species. Meanwhile, the body color of the test fish fed with diet containing β-carotene and canthaxanthin was not different compared with those fed diets without carotenoid. There was no accumulation of astaxanthin in fed astaxanthin, in zeaxanthin was found, which similar to the test fish fed with diet containing zeaxanthin. It appears that False percula clownfish uses reductive metabolism to convert dietary astaxanthin into zeaxanthin. Feeding carotenoids to the Clark's anemonefish, led to the accumulation of lutein or zeaxanthin esters and is orange-yellow hue. Meanwhile the accumulation of β-carotene, canthaxanthin, astaxanthin (esters), lutein and zeaxanthin in skin of the Spine-cheek anemonefish: red and golden strains and Tomato anemonefish was showed positive result. But fish fed with diet containing astaxanthin is red hue in skin. Which alternative suitable for pigmentation in Spine-cheek anemonefish: red and golden strains and Tomato anemonefish.

**Key words:** Clownfish species, Carotenoid, Metabolism

*Corresponding author: 41/14 Moo 9 Bangpra Sub-district, Sriracha District, Chonburi Province 20110. Tel. 0 3831 2532 e-mail: nsamranrat@yahoo.com

## คำนำ

การเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนนับเป็นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม สีสันของตัวปลาถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องมีการควบคุมเพื่อให้ให้ตรงกับความต้องการของตลาด ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูน ได้แก่การขาดแคโรทีนอยด์ในอาหารทำให้ปลาการ์ตูนจากการเพาะเลี้ยงมีสีสันไม่ตรงตามความต้องการ การปรับปรุงสีของปลาการ์ตูนสามารถทำได้โดยการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร (Latscha, 1991) ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าได้มากขึ้น

แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุประกอบ (accessory pigment) มีสีส้ม แดง เหลือง และอื่นๆ อีกจำนวนประมาณ 350 ชนิด (Britton, 1983) จากโครงสร้างทางเคมีสามารถแบ่งแคโรทีนอยด์ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ แคโรทีน (Carotene) และ แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) แคโรทีนที่สำคัญและมีบทบาทมากที่สุดในปลา คือเบต้าแคโรทีน เพราะสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ ส่วนแซนโทฟิลล์ที่พบในปลาส่วนใหญ่ คือทาราแซนทิน (Taraxanthin) ลูทีน (Lutein) ซีแซนทิน (Zeaxanthin) และแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) (Greenberg, 1968) การศึกษาในปลาพบว่ามีการสะสมของแซนโทฟิลล์มากกว่าแคโรทีน (Goodwin, 1984) เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้นมาได้เอง ดังนั้นต้องได้รับโดยตรงจากพืชหรือสัตว์ที่เป็นอาหาร ปลาเก็บเม็ดสีที่ได้รับจากอาหารไว้ภายในตัว หรือ เปลี่ยนเป็นแคโรทีนอยด์ในรูปสีอื่นซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในตัวของปลาชนิดนั้นๆ (Fox, 1957) แคโรทีนอยด์จะถูกสัตว์กินเข้าไปพร้อมกับอาหารและถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก (duodenum) ในชั้น mucosa การดูดซึมแคโรทีนอยด์มีลักษณะเฉพาะเจาะจงมากขึ้นอยู่กับ receptor proteins และแคโรทีนอยด์อาจถูกสลายด้วยเอนไซม์หรือแบคทีเรีย นอกจากนี้อาจถูกเผาผลาญเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอในบริเวณ mucosa แคโรทีนอยด์จะถูกขนส่งไปตามกระแสเลือดในรูปของ lipoprotein complex (Latsha, 1990) อย่างไรก็ตามเม็ดสีจะอยู่ภายในตัวปลาช่วงระยะเวลาหนึ่งและจะหมดไปถ้าปลาไม่ได้รับอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ชนิดนั้นๆ

การศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์เพื่อทำให้เกิดสีที่เหมือนกับสัตว์น้ำในธรรมชาติ ควรทราบชนิดของแคโรทีนอยด์ในสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ ก่อน แล้วเลือกชนิดของแคโรทีนอยด์นั้นๆ หรือชนิดที่น่าจะเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อให้ได้ชนิดแคโรทีนอยด์สุดท้าย (ที่เป็น end product) สะสมในสัตว์น้ำ เพื่อเสริมในอาหารใช้เลี้ยงสัตว์น้ำนั้น อย่างไรก็ตามเนื่องจากสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความสามารถในการสังเคราะห์ และ pathway ในการสังเคราะห์ก็ต่างกัน ดังนั้นอาจมีแคโรทีนอยด์มากกว่า 1 ชนิดในการเพิ่มสีในสัตว์น้ำนั้นๆ (Greenberg, 1968)

อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลรายงานถึงชนิดอาหารที่เหมาะสม รวมทั้งชนิดแคโรทีนอยด์และระดับความเข้มข้นในอาหาร เพื่อเพิ่มสีในปลาการ์ตูนเหล่านั้นและเข้าใจเรื่องกระบวนการเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ในกลุ่มปลาการ์ตูนมากขึ้น และสามารถนำแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมกับปลาการ์ตูนแต่ละชนิดมาเสริมในอาหารเพื่อเพิ่มสีให้ใกล้เคียงกับสีของปลาจากธรรมชาติ และเป็นที่ต้องการของตลาดในปลาการ์ตูนแต่ละชนิดต่อไปในอนาคต

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

2. เพื่อทราบชนิดของแคโรทีนอยด์ในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

## อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

**การวางแผนการทดลอง**

แบ่งการทดลองเป็น 5 การทดลองย่อย ตามชนิดของปลาการ์ตูน ได้แก่

การทดลองย่อยที่ 1 ทดลองในปลาการ์ตูนส้มขาว

การทดลองย่อยที่ 2 ทดลองในปลาการ์ตูนลายปล้อง

การทดลองย่อยที่ 3 ทดลองในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ

การทดลองย่อยที่ 4 ทดลองในปลาการ์ตูนแดง

การทดลองย่อยที่ 5 ทดลองในปลาการ์ตูนทอง

แต่ละการทดลองย่อยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) ในแต่ละการทดลองย่อยแบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง แต่ละชุดมี 3 ซ้ำ โดยให้ปลาการ์ตูนแต่ละชนิดได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบเหมือนกัน ยกเว้นชนิดของแคโรทีนอยด์

ชุดการทดลองที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่มีการเสริมแคโรทีนอยด์)

ชุดการทดลองที่ 2 เสริมเบต้าแคโรทีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 เสริมแคนทาแซนทิน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 เสริมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 เสริมลูทีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 6 เสริมซีแซนทีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

**การเตรียมตู้ทดลอง**

เตรียมตู้กระจกขนาดกว้าง 30 ซม. ยาว 60 ซม. สูง 30 ซม. ความจุน้ำ 50 ลิตร ก่อนการทดลองอุปกรณ์ต่างๆ เช่น สายอากาศ หัวทราย เป็นต้น นำมาวางไว้ในถังเติมน้ำให้เต็มแล้วเติมแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ (calcium hypochlorite) ให้ได้ความเข้มข้นของคลอรีน 200 พีพีเอ็ม แล้วแช่ทิ้งไว้ข้ามคืน หลังจากนั้นจึงปล่อยน้ำยาออกแล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง แล้วตากให้แห้ง สำหรับตู้กระจกล้างทำความสะอาดแล้วฆ่าเชื้อทั้งภายในและภายนอกด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นของคลอรีน 1600 พีพีเอ็ม แล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 3 ชั่วโมงก่อนล้างออกด้วยน้ำสะอาดแล้วตากให้แห้ง หลังฆ่าเชื้อตู้กระจก พักน้ำไว้หนึ่งคืนเพื่อขจัดคลอรีนที่ตกค้างให้หมดก่อนที่จะปล่อยสัตว์น้ำลงไปเลี้ยง ทุกตู้มีระบบน้ำเข้าและน้ำออกเพื่อใช้เป็นระบบน้ำหมุนเวียนแบบกึ่งปิด ประกอบด้วยถังพักน้ำ 1 ถัง และต่อกับถังน้ำสำหรับใส่สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) และสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) ใช้ในการบำบัดน้ำและต่อท่อเชื่อมไปยังถังพักน้ำอีก 1 ถัง โดยใช้เครื่องสูบน้ำขนาดเล็ก 1 เครื่อง สำหรับสูบน้ำเข้าตู้ปลาทดลองและปิดด้านข้างทั้ง 4 ด้านด้วยพลาสติกสีดำเพื่อป้องกันแสง

**การเตรียมน้ำในการทดลอง**

นำน้ำทะเลที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน มาพักให้ตกตะกอนแล้วนำน้ำมาฆ่าเชื้อโดยใส่คลอรีน 20-30 กรัม/น้ำทะเล 1 ตัน ให้อากาศอย่างน้อย 1 วัน หลังจากการตกตะกอนและฆ่าเชื้อน้ำทะเลแล้ว ก่อนนำมาใช้เลี้ยงปลากรองด้วยถุงกรองน้ำขนาดตา 5 ไมครอน เติมน้ำลงในตู้ทดลอง 50 ลิตรต่อตู้ แต่ละตู้มีหัวทราย 2 จุดเพื่อให้อากาศ

**การเตรียมอาหารทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง**

เตรียมอาหารสำเร็จรูปที่มีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ต่างกัน (ตารางที่ 1) จากนั้นผสมวัสดุอาหารให้เข้ากันใน Hobart mixer ประมาณ 5 นาที ตามด้วยวัสดุอาหารจำพวกน้ำมันประมาณ 5-10 นาที นำแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ละลายในน้ำอุ่นอย่างรวดเร็วก่อนนำมาผสมกับวัตถุดิบอาหารในขั้นตอนสุดท้าย หลังจากนั้นนำอาหารไปอัดเม็ดด้วยเครื่องบดอาหารความเร็วรอบ 146 รอบต่อนาที เส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเม็ดอาหารประมาณ 2 มิลลิเมตรและทำให้มีขนาดเล็ก หลังจากนั้นนำเข้าเครื่อง Freeze dry เสร็จแล้วนำมาคัดแยกขนาดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1000, 850 และ500 ไมครอน เสร็จแล้วนำอาหารเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

อาหารส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง TruSpec Carbon/Nitrogen Determination ยี่ห้อ LECO วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้เทคนิค Supercritical Fluid Extraction (SFE) ด้วยเครื่อง Fat Extractor TFE2000 ยี่ห้อ LECO วิเคราะห์หาความชื้น และเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2005) และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Alliance รุ่น Waters 2695 (ตารางที่ 2)

**การดำเนินการทดลอง**

นำลูกปลาการ์ตูนที่ใช้ในการทดลองอายุประมาณ 1 เดือน ชนิดละ 200 ตัว มาอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรควบคุม ระยะเวลา 15 วัน เพื่อให้ปลาเคยชินกับอาหารทดลองและมีการปรับสภาพให้เคยชินกับสิ่งแวดล้อม ก่อนลงตู้ทดลองทำการคัดขนาดปลาให้มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ใส่ในตู้ทดลอง ตู้ละ 10 ตัว โดยมีความหนาแน่น 1 ตัว ต่อน้ำ 5 ลิตร จำนวน 18 ตู้ (มี 6 ชุดการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ) ระหว่างทดลองให้อาหารจนอิ่ม วันละ 3 มื้อ ในเวลาประมาณ 09.00, 11.00 และ 15.00 น.

**การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์**

เก็บตัวอย่างปลาก่อนเริ่มทำการทดลองและสิ้นสุดการทดลอง โดยนำปลามาแยกผิวหนังเพื่อวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์บริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนแต่ละชนิด ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Alliance รุ่น Waters 2695 และหาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนัง ด้วยเครื่อง Spectophotometer

ระหว่างการทดลองเก็บตัวอย่างปลาจากทุกชุดการทดลองจำนวน 30 ตัวต่อชุดการทดลองมาวัดสีด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) ยี่ห้อ Minolta color reader รุ่น CR-10 โดยวัดสีของสีส้มบริเวณกลางลำตัวอ่านค่าในระบบ CIE (L*a*b*) ค่า L* คือความสว่างของสี ค่า a* คือความเข้มเฉดสีแดง และค่า b* คือความเข้มเฉดสีเหลือง ตามวิธีการของ (Choubert and Luquet, 1983)

การสกัดแคโรทีนอยด์ ใช้วิธีดัดแปลงของ Britton *et al.* (1995a) สกัดตัวอย่างด้วย acetone แยกแคโรทีนอยด์ที่ละลายอยู่ใน acetone ทั้งหมดออกด้วย diethyl ether ก่อนนำแคโรทีนอยด์ที่ละลายใน diethyl ether มาระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม นำตัวอย่างที่สกัดได้มาวัดปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีการดัดแปลงของ Britton *et al.* (1995b) โดยนำตัวอย่างมาละลายด้วย ethyl acetate วัดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์รวม โดยวัดค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงเท่ากับ 2500 ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo รุ่น Helios Alpha

การวิเคราะห์ชนิดแคโรทีนอยด์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Water Alliance 2995 และPhoto Diode Array detector ใช้ Column ยี่ห้อ Inerstsil® ODS-3 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มก./กก.วัดค่าการดูดกลืนแสงของแคโรทีนอยด์ชนิดนั้นๆ คำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงนำสารละลายมาตรฐานแต่ละ

ความเข้มข้นมาวัดพื้นที่ของพีคด้วยเครื่อง HPLC ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ของพีค วิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในรูปอิสระโดยเทียบขนาด (พื้นที่) ของพีคจากกราฟมาตรฐาน

**ตารางที่ 1** ส่วนประกอบของอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และ ปลาการ์ตูนทอง

| วัตถุดิบ | ชุดการทดลอง | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** |
| ปลาป่น | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| กากถั่วเหลือง | 11.5 | 11.4 | 11.4 | 11.4 | 11.3 | 11.3 |
| หวีดกลูเท่น | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| แป้งสาลี | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| น้ำมันปลาทูน่า | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| วิตามินผสม*[1] | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| วิตามินซี 80 % | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| แร่ธาตุผสม*[2] | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| เบต้าแคโรทีน 10 % (BASF) *[3] | | 0.1 | | | | |
| แคนทาแซนทิน 10 % (BASF) *[4] | | | 0.1 | | | |
| แอสตาแซนทิน 10 % (BASF) *[5] | | | | 0.1 | | |
| ลูทีน 5 % (BASF) *[6] | | | | | 0.2 | |
| ซีแซนทีน 5 % (BASF) *[7] | | | | | | 0.2 |
| **รวม** | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

**หมายเหตุ:** *[1] วิตามินผสมประกอบด้วยวิตามิน (ปริมาณกรัมต่อกิโลกรัมวิตามินผสม) ดังต่อไปนี้ thiamine (B1) 23.47; riboflavin (B2) 25; niacin 37.07; vitamin E 50% 80; pyridoxine HCl 54.55; Ca-D-pantothenate (B5) 25; inositol 98; biotin 25; folic acid 2.1; cyanocobalamin (B12) 0.6; menadione (K 50 %) 26; vitamin C 80 % 85.71; choline chloride 50 % 300; vitamin A/D3 2.3 และ cellulose 215.20

*[2] แร่ธาตุผสม ประกอบด้วยเกลือแร่ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ $KH_2PO_4$: $CaHPO_4.2H_2O$: $NaH_2PO_4.2H_2O$ : KCl : $FeSO_4$ : $ZnSO_4$ : $CuSO_4$ : $MnSO_4$ = 1.0: 1.0: 1.5: 0.5: 0.0063: 0.0074: 0.0013: 0.0055

*[3] เบต้าแคโรทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยเบต้าแคโรทีน 10 เปอร์เซ็นต์ ชื่อทางการค้า Lucarotin® 10 % feed จากบริษัท BASF

*[4] แคนทาแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยแคนทาแซนทิน 10 เปอร์เซ็นต์ ชื่อทางการค้า Lucantin® Red จากบริษัท BASF

*[5] แอสตาแซนทินสังเคราะห์ ประกอบด้วยแอสตาแซนทิน 10 เปอร์เซ็นต์ ชื่อทางการค้า Lucantin@ Pink จากบริษัท BASF

*[6] ลูทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยลูทีน 5 เปอร์เซ็นต์ ชื่อทางการค้า Lutein 5 % DC จากบริษัท BASF

*[7] ซีแซนทีนสังเคราะห์ ประกอบด้วยซีแซนทีน 5 เปอร์เซ็นต์ ชื่อทางการค้า Zeaxanthin 5 % DC จากบริษัท BASF

**ตารางที่ 2** องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

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

**การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำสัปดาห์ละครั้งโดยวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ HACH วิเคราะห์ความเป็นด่างตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1985) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำโดยใช้เครื่อง DO meter ยี่ห้อ YSI 58 วัดปริมาณไนไตรท์และแอมโมเนียรวมตามวิธีของ Strickland and Parsons (1972) สำหรับอุณหภูมิวัดโดยใช้ thermometer และวัดความเค็มด้วยเครื่อง reflecto-salinometer

**การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

วิเคราะห์หาความแปรปรวนแบบทางเดียว (One – way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ตามวิธี Tukey's HSD test ด้วยโปรแกรม SPSS (ศิริชัย, 2551) ของข้อมูลที่ตรวจวัด ได้แก่ ค่าเฉลี่ยของสี ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนัง ปริมาณแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดที่สะสมบริเวณผิวหนังของปลา

## ผลการทดลอง

**1. ผลเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ ในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง**

การทดลองเสริมแหล่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ในปลาการ์ตูนส้มขาว พบว่ากลุ่มควบคุมมีเบต้าแคโรทีนเป็นองค์ประกอบหลักและซีแซนทีนปริมาณเล็กน้อยสะสมบริเวณผิวหนังปลา และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีนไม่พบการเปลี่ยนแปลง ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทินไม่พบการสะสมแคน

ทาแซนทิน และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินพบซีแซนทีนเพิ่มขึ้นสะสมในรูปเอสเทอร์ นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีนพบลูทีนสะสมในรูปเอสเทอร์เพิ่มขึ้นและปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีนพบซีแซนทีนสะสมในรูปเอสเทอร์เพิ่มขึ้นบริเวณผิวหนังปลา

ส่วนปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่ากลุ่มควบคุมมีเบต้าแคโรทีนและซีแซนทีนเป็นองค์ประกอบหลัก พบเบต้าคริบโตแซนทินปริมาณเล็กน้อยและปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีนพบการสะสมซีแซนทีน เอ็คไคนีโนน และเบต้าคริบโตแซนทินเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทิน พบการสะสมซีแซนทีน เบต้าแคโรทีน เบต้าคริบโตแซนทิน และเอ็คไคนีโนนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์ แต่ไม่พบแคนทาแซนทิน และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินพบซีแซนทีนสะสมในรูปเอสเทอร์เพิ่มขึ้น และพบUnknown carotenoid นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีนพบลูทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีนพบการสะสมซีแซนทีน และUnknown carotenoid เพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์บริเวณผิวหนังปลา

ในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ พบว่ากลุ่มควบคุม พบแอสตาแซนทิน ซีแซนทีน ลูทีนในรูปของเอสเทอร์ และแคนทาแซนทินในรูปอิสระเป็นส่วนมาก ส่วนเบต้าคริบโตแซนทิน เอ็คไคนิโนน และเบต้าแคโรทีนมีปริมาณเล็กน้อย และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีน พบการสะสมเบต้าแคโรทีน เอ็คไคนีโนน และแคนทาแซนทินเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทิน พบการสะสมแคนทาแซนทิน เบต้าแคโรทีน และเอ็คไคนีโนนเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทิน พบการสะสมแอสตาแซนทิน เอ็คไคนีโนน และแคนทาแซนทินเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีน พบลูทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีน พบการสะสมซีแซนทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์บริเวณผิวหนังปลา

ส่วนปลาการ์ตูนแดง พบว่ากลุ่มควบคุม พบแอสตาแซนทิน ซีแซนทีน และลูทีนในรูปของเอสเทอร์เป็นส่วนมาก และพบเอ็คไคนิโนน เบต้าคริบโตแซนทิน เบต้าแคโรทีน และแคนทาแซนทินปริมาณเล็กน้อย และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีน พบการสะสมเบต้าแคโรทีน และเอ็คไคนีโนนเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทิน พบการสะสมแคนทาแซนทิน และเอ็คไคนีโนนเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทิน พบการสะสมแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีนพบลูทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีน พบการสะสมซีแซนทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์บริเวณผิวหนังปลา

นอกจากนี้ในปลาการ์ตูนทอง พบว่ากลุ่มควบคุม พบแอสตาแซนทิน และซีแซนทีนในรูปของเอสเทอร์เป็นส่วนมาก และพบเบต้าคริบโตแซนทิน เบต้าแคโรทีน เอ็คไคนิโนน และแคนทาแซนทินปริมาณเล็กน้อย ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเบต้าแคโรทีน พบการสะสมเบต้าแคโรทีน เอ็คไคนีโนน และแคนทาแซนทินเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแคนทาแซนทิน พบการสะสมแคนทาแซนทิน เอ็คไคนีโนน และเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ ในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทิน พบการสะสมแอสตาแซนทิน และลูทีนเพิ่มขึ้นในรูปเอสเทอร์ นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมลูทีน พบลูทีนเพิ่มขึ้นในรูปของเอสเทอร์ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมซีแซนทีน พบซีแซนทีนเพิ่มขึ้นและยังพบแคโรทีนอยด์ที่ไม่ทราบแน่ชัด (Unidentified carotenoids) บริเวณผิวหนังปลา (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3** ชนิดแคโรทีนอยด์ (% Area) บริเวณผิวหนังกลุ่มปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหารซึ่งมีแคโรทีนอยด์ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน

| ชนิดปลาการ์ตูน | ชนิดแคโรทีนอยด์ | ชุดการทดลองที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ปลาการ์ตูนส้มขาว** | **Saponified** | | | | | | |
| | Zeaxanthin | 13.09±0.15$^{c}$ | 13.74±0.27$^{c}$ | 9.59±0.05$^{b}$ | 54.44±0.59$^{d}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 68.57±0.08$^{e}$ |
| | Lutein | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 59.72±0.24$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | β-carotene | 86.91±0.51$^{d}$ | 86.26±1.67$^{d}$ | 90.41±0.58$^{d}$ | 45.56±0.52$^{c}$ | 40.28±1.05$^{b}$ | 31.43±1.72$^{a}$ |
| | **Nonsaponified** | | | | | | |
| | β-carotene | 75.46±0.18$^{d}$ | 82.60±0.22$^{e}$ | 75.37±0.56$^{d}$ | 31.15±1.38$^{b}$ | 38.35±0.41$^{c}$ | 22.77±1.12$^{a}$ |
| | Ester | 24.54±0.56$^{b}$ | 17.40±0.57$^{a}$ | 24.63±0.56$^{b}$ | 68.85±0.74$^{d}$ | 61.65±0.85$^{c}$ | 77.23±0.49$^{e}$ |
| **ปลาการ์ตูนลายปล้อง** | **Saponified** | | | | | | |
| | Unknown | 0.00±0.00$^{a}$ | 1.71±0.08$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 1.93±0.07$^{c}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | Zeaxanthin | 35.96±0.13$^{b}$ | 59.98±0.0.13$^{d}$ | 39.67±0.18$^{c}$ | 64.65±0.15$^{e}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 73.23±0.35$^{f}$ |
| | Lutein | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 82.42±0.44$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | Unknown | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 4.91±0.21$^{b}$ |
| | Cryptoxanthin | 2.46±0.13$^{b}$ | 4.45±0.08$^{c}$ | 4.41±0.14$^{c}$ | 2.17±0.21$^{b}$ | 1.31±0.13$^{a}$ | 2.52±0.13$^{b}$ |
| | Echinenone | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.62±0.33$^{b}$ | 0.80±0.26$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | β-carotene | 51.67±0.34$^{d}$ | 28.53±0.65$^{c}$ | 54.70±0.35$^{e}$ | 22.84±0.25$^{b}$ | 11.03±0.66$^{a}$ | 12.85±0.56$^{a}$ |
| | **Nonsaponified** | | | | | | |
| | β-carotene | 39.82±0.35$^{d}$ | 28.50±0.07$^{c}$ | 55.26±0.37$^{e}$ | 11.54±0.46$^{a}$ | 23.16±0.41$^{b}$ | 11.96±0.44$^{a}$ |
| | Ester | 60.18±0.70$^{b}$ | 71.50±0.41$^{c}$ | 44.74±0.72$^{a}$ | 88.46±0.49$^{e}$ | 76.84±0.71$^{d}$ | 88.04±0.21$^{e}$ |
| **ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ** | **Saponified** | | | | | | |
| | Unknown | 6.79±0.12$^{d}$ | 5.22±0.21$^{c}$ | 3.24±0.24$^{b}$ | 6.53±0.25$^{d}$ | 3.68±00.17$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | Zeaxanthin | 24.61±0.35$^{c}$ | 19.67±0.35$^{b}$ | 16.59±0.52$^{a}$ | 25.18±0.56$^{c}$ | 25.72±0.41$^{c}$ | 71.15±0.55$^{d}$ |
| | Lutein | 37.34±0.47$^{e}$ | 35.26±0.52$^{d}$ | 29.70±0.35$^{b}$ | 33.29±0.44$^{c}$ | 51.54±0.28$^{f}$ | 12.43±0.45$^{a}$ |
| | Canthaxanthin | 4.03±0.20$^{b}$ | 11.23±0.32$^{d}$ | 22.98±0.28$^{e}$ | 8.85±0.28$^{c}$ | 3.83±0.29$^{b}$ | 1.23±0.15$^{a}$ |
| | Cryptoxanthin | 5.98±0.14$^{b}$ | 1.10±0.11$^{a}$ | 0.69±0.14$^{a}$ | 1.02±0.02$^{a}$ | 0.73±0.14$^{a}$ | 0.88±0.14$^{a}$ |
| | Echinenone | 2.35±0.14$^{b}$ | 4.40±0.11$^{d}$ | 5.55±0.18$^{e}$ | 3.01±0.05$^{c}$ | 2.39±0.14$^{b}$ | 1.12±0.13$^{a}$ |
| | β-carotene | 0.45±0.06$^{a}$ | 1.30±0.25$^{b}$ | 2.18±0.10$^{c}$ | 0.92±0.18$^{ab}$ | 0.54±0.10$^{a}$ | 0.59±0.10$^{a}$ |
| | **Nonsaponified** | | | | | | |
| | Canthaxanthin | 2.38±0.10$^{c}$ | 1.84±0.07$^{b}$ | 21.73±0.14$^{d}$ | 0.95±0.08$^{a}$ | 1.64±0.08$^{b}$ | 0.62±0.06$^{a}$ |
| | Echinenone | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 7.06±0.15$^{c}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.76±0.08$^{b}$ |
| | Ester | 97.62±0.11$^{b}$ | 98.16±0.21$^{bc}$ | 71.21±0.16$^{a}$ | 99.05±0.25$^{d}$ | 98.36±0.30$^{bcd}$ | 98.62±0.19$^{cd}$ |

**(ต่อ) ตารางที่ 3** ชนิดแคโรทีนอยด์ (% Area) บริเวณผิวหนังกลุ่มปลาการ์ตูนที่ได้รับอาหารซึ่งมีแคโรทีนอยด์ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน

| ชนิดปลาการ์ตูน | ชนิดแคโรทีนอยด์ | ชุดการทดลองที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ปลาการ์ตูนแดง** | **Saponified** | | | | | | |
| | Unknown | 6.49±0.12$^{e}$ | 5.12±0.03$^{d}$ | 4.02±0.05$^{c}$ | 5.31±0.07$^{d}$ | 1.39±0.09$^{a}$ | 2.85±0.06$^{b}$ |
| | Zeaxanthin | 39.90±0.0.03$^{e}$ | 35.00±0.04$^{c}$ | 21.23±0.17$^{b}$ | 36.33±0.05$^{d}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 64.24±0.17$^{f}$ |
| | Lutein | 17.98±0.0.05$^{e}$ | 13.73±0.08$^{c}$ | 11.08±0.10$^{a}$ | 11.88±0.42$^{b}$ | 59.61±0.56$^{f}$ | 14.02±0.07$^{d}$ |
| | Canthaxanthin | 5.33±0.03$^{d}$ | 4.37±0.06$^{c}$ | 37.65±0.42$^{e}$ | 5.43±0.03$^{d}$ | 1.32±0.03$^{b}$ | 1.05±0.06$^{a}$ |
| | β-cryptoxanthin | 1.47±0.03$^{d}$ | 1.38±0.08$^{d}$ | 0.58±0.04$^{b}$ | 1.01±0.04$^{c}$ | 0.23±0.04$^{a}$ | 0.45±0.04$^{b}$ |
| | Echinenone | 4.61±0.03$^{c}$ | 7.72±0.06$^{e}$ | 5.48±0.16$^{d}$ | 4.35±0.06$^{c}$ | 2.18±0.08$^{b}$ | 0.67±0.03$^{a}$ |
| | β-carotene | 3.21±0.04$^{c}$ | 15.21±0.06$^{d}$ | 1.27±0.03$^{b}$ | 3.306±0.07$^{c}$ | 1.12±0.06$^{b}$ | 0.43±0.07$^{a}$ |
| | **Nonsaponified** | | | | | | |
| | Astaxanthin | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.98±0.08$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | Canthaxanthin | 1.73±0.06$^{c}$ | 0.98±0.05$^{b}$ | 20.63±0.11$^{d}$ | 0.25±0.05$^{a}$ | 0.46±0.05$^{a}$ | 0.34±0.04$^{a}$ |
| | Ester | 94.15±0.07$^{b}$ | 96.28±0.09$^{c}$ | 70.93±0.06$^{a}$ | 98.77±0.03$^{d}$ | 99.54±0.05$^{e}$ | 99.66±0.06$^{e}$ |
| **ปลาการ์ตูนทอง** | **Saponified** | | | | | | |
| | Unknown | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 16.14±0.24$^{b}$ |
| | Zeaxanthin | 65.73±0.14$^{e}$ | 44.58±0.14$^{c}$ | 55.37±0.28$^{d}$ | 41.55±0.14$^{b}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 76.67±0.14$^{f}$ |
| | Lutein | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 0.00±0.00$^{a}$ | 16.80±0.04$^{b}$ | 57.30±0.07$^{c}$ | 0.00±0.00$^{a}$ |
| | Canthaxanthin | 5.95±0.14$^{d}$ | 7.04±0.08$^{e}$ | 10.75±0.14$^{f}$ | 5.09±0.13$^{c}$ | 3.22±0.14$^{b}$ | 1.86±0.21$^{a}$ |
| | β-cryptoxanthin | 1.43±0.14$^{b}$ | 1.57±0.14$^{b}$ | 2.42±0.14$^{c}$ | 1.30±0.07$^{b}$ | 0.58±0.14$^{a}$ | 0.50±0.04$^{a}$ |
| | Echinenone | 1.80±0.11$^{c}$ | 2.72±0.10$^{d}$ | 7.43±0.07$^{e}$ | 1.31±0.05$^{b}$ | 1.15±0.07$^{ab}$ | 0.90±0.03$^{a}$ |
| | β-carotene | 1.18±0.08$^{bc}$ | 7.11±0.31$^{e}$ | 5.69±0.07$^{d}$ | 2.18±0.11$^{c}$ | 1.38±0.08$^{ab}$ | 1.20±00.04$^{a}$ |
| | **Nonsaponified** | | | | | | |
| | Canthaxanthin | 1.45±0.14$^{b}$ | 0.74±0.10$^{a}$ | 4.29±0.14$^{c}$ | 0.67±0.14$^{a}$ | 0.84±0.14$^{a}$ | 0.77±0.07$^{a}$ |
| | Echinenone | 1.06±0.06$^{b}$ | 1.30±0.07$^{b}$ | 3.18±0.10$^{c}$ | 0.36±0.06$^{a}$ | 1.21±0.06$^{b}$ | 0.44±0.01$^{a}$ |
| | Astaxanthin ester | 2.84±0.13$^{b}$ | 4.35±0.11$^{c}$ | 1.37±0.08$^{a}$ | 7.50±0.06$^{d}$ | 7.65±0.06$^{d}$ | 1.44±0.07$^{a}$ |
| | Ester | 94.65±0.14$^{d}$ | 93.61±0.04$^{c}$ | 91.16±0.11$^{b}$ | 91.47±0.05$^{b}$ | 87.30±0.04$^{a}$ | 97.35±0.07$^{e}$ |

**หมายเหตุ** : ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันหากกำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

## 2. ผลของชนิดแคโรทีนอยด์ในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

### ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนังปลา

ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมบริเวณผิวหนังของปลาการ์ตูนส้มขาว หลังจากให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ พบว่าชุดการทดลองที่ 6 มีค่าแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4 และ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3

ส่วนชุดการทดลองที่ 3 มีค่าแคโรทีนอยด์รวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4 และ 6

ในปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 5 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง

ส่วนในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ พบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีค่าแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 5 ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1 และ 3 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง

ในปลาการ์ตูนแดง พบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีค่าแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 6 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ส่วนชุดการทดลองที่ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2, 4 และ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1

และในปลาการ์ตูนทอง พบว่าชุดการทดลองที่ 3 มีแคโรทีนอยด์รวมมากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (mg/kg) ในกลุ่มปลาการ์ตูนที่ให้กินอาหารซึ่งมีชนิดแคโรทีนอยด์ ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน

| ชนิดปลาการ์ตูน | ชุดการทดลองที่ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| ปลาการ์ตูนส้มขาว | 40.78±4.24$^{a}$ | 42.05 ± 7.05$^{a}$ | 74.58 ±1.79$^{ab}$ | 139.98 ± 3.57$^{c}$ | 111.41 ±4.70$^{bc}$ | 144.21±3.57$^{c}$ |
| ปลาการ์ตูนลายปล้อง | 18.83± 1.00$^{a}$ | 41.54 ± 0.56$^{c}$ | 33.90 ± 1.24$^{b}$ | 64.64 ± 0.63$^{e}$ | 48.44 ± 0.63$^{d}$ | 62.45 ± 0.99$^{e}$ |
| ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ | 17.93 ± 1.25$^{a}$ | 45.66 ±0.94$^{b}$ | 56.63 ± 1.85$^{c}$ | 69.86 ± 0.61$^{d}$ | 41.47 ± 1.56$^{b}$ | 66.52 ± 1.57$^{d}$ |
| ปลาการ์ตูนแดง | 46.84 ± 3.75$^{a}$ | 68.70 ±5.55$^{b}$ | 78.44 ± 3.30$^{bc}$ | 206.96 ± 5.04$^{e}$ | 93.42 ± 1.70$^{cd}$ | 97.10 ± 4.56$^{d}$ |
| ปลาการ์ตูนทอง | 37.67 ± 0.49$^{a}$ | 48.48 ±0.03$^{b}$ | 111.34 ± 0.01$^{e}$ | 49.85 ± 0.16$^{c}$ | 51.06 ± 0.66$^{c}$ | 97.95 ± 0.10$^{d}$ |

**หมายเหตุ** : ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันหากกำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

**ความเข้มของสี**

หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนส้มขาว พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ความเข้มของสีแดง ($a^*$) แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างอย่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 และ 5 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1 และ 6 ส่วนค่าความเข้มของสีเหลือง ($b^*$) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 แตกต่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างอย่างกันทางสถิติ ($p> 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 และ 4 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลอง

ที่ 1 และ 6 ส่วนค่าความสว่างของสี (L*) พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่ามากที่สุดและไม่แตกต่างอย่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2 และ 3 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4, 5 และ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 4 มีค่าน้อยที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลอง 6 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5

ส่วนปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ความเข้มของสีแดง (a*) แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 1 ไม่แตกต่างอย่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2, 5 และ 6 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 ส่วนค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 มีค่ามากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 และ 2 และชุดการทดลองที่ 3 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4 และ 2 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง ส่วนค่าความสว่างของสี (L*) พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่ามากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 4 มีค่าน้อยที่สุดและไม่แตกต่างกัน ($p<0.05$) กับชุดการทดลอง 3 และ 6 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)กับชุดการทดลองที่ 2 และ 5

ในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ความเข้มของสีแดง (a*) มีค่ามากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 05.0$) กับชุดการทดลองที่ 5 และ 6 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 1 และ 3 ส่วนค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) พบว่าชุดการทดลองที่ 6 มีค่ามากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง แต่ชุดการทดลองที่ 3 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 ส่วนค่าความสว่างของสี (L*) พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่ามากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 4 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง

ส่วนปลาการ์ตูนแดง พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ความเข้มของสีแดง (a*) มีค่ามากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 5 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 แต่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และมีค่าน้อยกว่าทุกชุดการทดลอง ส่วนค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 มีค่ามากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2 และ3 ส่วนค่าความสว่างของสี (L*) พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่ามากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 และชุดการทดลองที่ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2 และ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 4 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง

และในปลาการ์ตูนทอง พบว่าชุดการทดลองที่ 3 ความเข้มของสีแดง (a*) มากที่สุดและแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5, 6, 1 และ 2 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดทดลองที่ 2 และมีค่าน้อยกว่าทุกชุดการทดลอง ส่วนค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) พบว่าชุดการทดลองที่ 5 มีค่ามากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 6 ส่วนชุดการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง แต่ชุดการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ส่วนค่าความสว่างของสี (L*) พบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีค่ามากที่สุดและแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดการทดลองที่ 3 มีค่าน้อยที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 4 และ 6 และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 5 ส่วนชุดการทดลองที่ 2 แตกต่างอย่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** ค่าเฉลี่ยของสีในกลุ่มปลาการ์ตูนที่ให้กินอาหารซึ่งมีชนิดแคโรทีนอยด์ต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน

| ชนิดปลาการ์ตูน | ความเข้มของสี | ชุดการทดลองที่ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| ปลาการ์ตูนส้มขาว | (1)Lightness (L*) | 33.90±1.41$^{c}$ | 32.85±0.21$^{bc}$ | 32.90±0.28$^{bc}$ | 30.40±0.14$^{a}$ | 32.55±2.19$^{b}$ | 30.45±0.21$^{a}$ |
| | (2)Redness (a*) | 1.55±0.07$^{a}$ | 1.60±0.14$^{ab}$ | 1.95 ±0.07$^{ab}$ | 4.00±0.14$^{c}$ | 1.90±0.14$^{ab}$ | 2.20±0.28$^{b}$ |
| | (3)Yellowness(b) | 0.35±0.07$^{a}$ | 2.40±0.28$^{b}$ | 2.45±0.21$^{b}$ | 2.43±0.21$^{b}$ | 6.10±0.14$^{d}$ | 4.42±0.03$^{c}$ |
| ปลาการ์ตูนลายปล้อง | (1)Lightness (L*) | 48.25±0.35$^{c}$ | 41.60±1.41$^{ab}$ | 43.60±.23$^{b}$ | 38.45±0.63$^{a}$ | 40.02±0.31$^{ab}$ | 43.07±1.23$^{b}$ |
| | (2)Redness (a*) | 0.40±0.14$^{a}$ | 0.98±0.03$^{a}$ | 3.25±0.21$^{b}$ | 8.52±0.18$^{c}$ | 0.28±0.73$^{a}$ | 0.25±0.64$^{a}$ |
| | (3)Yellowness(b*) | 8.00±0.70$^{a}$ | 14.55±0.92$^{bc}$ | 13.85±0.64$^{b}$ | 13.37±0.53$^{b}$ | 16.69±0.50$^{c}$ | 15.80±0.56$^{bc}$ |
| ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ | (1) Lightness (L*) | 42.04±0.55$^{c}$ | 41.21±0.33$^{bc}$ | 40.61±0.15$^{bc}$ | 35.79±0.92$^{a}$ | 39.43±0.04$^{b}$ | 39.22±0.24$^{b}$ |
| | (2) Redness (a*) | 11.74±0.01$^{a}$ | 14.96±0.01$^{b}$ | 17.45±0.28$^{c}$ | 19.09±0.22$^{d}$ | 14.23±0.28$^{b}$ | 14.05±0.64$^{b}$ |
| | (3)Yellowness(b*) | 11.09±0.15$^{a}$ | 14.32±0.10$^{c}$ | 12.10±0.36$^{b}$ | 16.19±0.29$^{d}$ | 16.32±0.07$^{d}$ | 16.94±0.08$^{d}$ |
| ปลาการ์ตูนแดง | (1) Lightness (L*) | 37.31±0.29$^{d}$ | 36.27±0.40$^{cd}$ | 35.82±0.35$^{bc}$ | 32.85±0.34$^{a}$ | 35.57±0.14$^{bc}$ | 34.71±0.54$^{b}$ |
| | (2) Redness (a*) | 7.07±0.42$^{a}$ | 7.53±0.18$^{a}$ | 10.09±0.15$^{b}$ | 19.67±0.45$^{d}$ | 9.37±0.41$^{b}$ | 11.77±0.60$^{c}$ |
| | (3)Yellowness(b*) | 12.00±0.32$^{a}$ | 13.35±0.43$^{a}$ | 12.75±0.35$^{a}$ | 16.59±0.33$^{b}$ | 21.49±0.43$^{c}$ | 21.35±0.35$^{c}$ |
| ปลาการ์ตูนทอง | (1) Lightness (L*) | 41.15±0.77$^{d}$ | 37.70±0.70$^{c}$ | 30.05±0.21$^{a}$ | 30.95±0.21$^{ab}$ | 32.50±0.70$^{b}$ | 30.20±0.28$^{a}$ |
| | (2) Redness (a*) | 7.35±0.35$^{a}$ | 8.90±0.42$^{b}$ | 11.25±0.49$^{c}$ | 8.47±0.03$^{ab}$ | 7.85±0.07$^{ab}$ | 7.95±0.49$^{ab}$ |
| | (3)Yellowness(b*) | 8.55±0.35$^{a}$ | 9.95±0.21$^{b}$ | 10.75±0.07$^{b}$ | 9.95±0.07$^{b}$ | 13.22±0.38$^{c}$ | 12.57±0.46$^{c}$ |

**หมายเหตุ** : ค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกันหากกำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

**คุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง**

คุณภาพน้ำตลอดการทดลองมีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25–30 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำอยู่ในช่วง 5.0-6.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็มอยู่ในช่วง 26-30 พีพีที ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 7.8-8.0 ความเป็นด่างอยู่ในช่วง 85-120 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.0011 – 0.1658 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนไตรท์-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.0202 – 0.0425 มิลลิกรัมต่อลิตร

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มปลาการ์ตูนในครั้งนี้ พบว่าปลามีการสะสมสีบริเวณผิวหนังเป็นส่วนมาก และแยกตามลักษณะของสีที่ปรากฏบริเวณผิวหนังปลาในกลุ่มสีเหลือง ได้แก่ปลาการ์ตูนส้มขาว และปลาการ์ตูนลายปล้อง ส่วนสีที่ปรากฏบริเวณผิวหนังปลาในกลุ่มสีแดงได้แก่ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

จากผลการทดลองครั้งนี้ สรุปได้ว่าปลาการ์ตูนส้มขาว และปลาการ์ตูนลายปล้อง มีการเปลี่ยนและสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดที่เหมือนกันได้แก่ ความสามารถในการเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นซีแซนทินได้สอดคล้องกับการทดลองของ สุกิจ และพูนสิน (2538) พบว่าดอกดาวเรืองไทยสามารถช่วยเพิ่มสีในกุ้งกุลาดำได้ดีกว่าสไปรูไลนา เนื่องจากดอกดาวเรืองไทยมีแคโรทีนอยด์ชนิดซีแซนทินมากกว่าสไปรูไลนาประมาณ 3 เท่า ซึ่งซีแซนทินจะถูกเมทาโบไลท์ไปเป็นแอสตาแซนทินได้ และในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นซีแซนทินได้ (Katsuyama *et al*, 1987) นอกจากนี้การทดลองเสริมแอสตาแซนทินในรูปเอสเทอร์จาก krill oil ในปลา red sea bream พบแคโรทีนอยด์ชนิดทูน่าแซนทิน ลูทีน และซีแซน

ทินเพิ่มขึ้นบริเวณผิวหนังปลา แต่ไม่พบแอสตาแซนทิน แสดงว่าastaxanthin ⟶epilutein ⟶tunaxanthin และ astaxanthin ⟶zeaxanthin (Fujita *et al*., 1983) เช่นเดียวกับการทดลองของ Schiedt *et al.* (1985) ทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารเลี้ยงปลา rainbow trout ระยะเวลา 7 สัปดาห์ และศึกษาเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ พบว่าผิวหนังปลา rainbow trout มีลักษณะสีเหลืองเมื่อนำผิวหนังมาวิเคราะห์พบการสะสมของลูทีนและซีแซนทินเพิ่มขึ้น สรุปได้ว่าลูทีนและซีแซนทินที่เจอบริเวณผิวหนังปลาเกิดจากแอสตาแซนทินที่เสริมในอาหาร พบว่าastaxanthin ⟶luteinและ astaxanthin ⟶zeaxanthin ได้

ความแตกต่างระหว่างปลาสองชนิดนี้ คือเมื่อเสริมเบต้าแคโรทีนและแคนทาแซนทินในอาหาร พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว สอดคล้องกับการศึกษาของ Nakazoe *et al.* (1984) ในปลา red sea bream ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมβ-carotene หรือ canthaxanthin พบว่า canthaxanthin⟶ β-carotene ทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาลดลง เนื่องจากเบต้าแคโรทีนเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอได้มากกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ (Olson, 1989)

แต่ในปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าปลาสามารถเปลี่ยนและสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดเบต้าแคโรทีน และแคนทาแซนทินได้ จาก pathway ของβ-carotene⟶β-cryptoxanthin⟶zeaxanthin และpathway canthaxanthin⟶ echninenone⟶ β-carotene⟶ β-cryptoxanthin⟶ zeaxanthin และ astaxanthin ⟶ zeaxanthin สรุปได้ว่าปลาการ์ตูนลายปล้องสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทิน เบต้าแคโรทีน และแคนทาแซนทินเป็นซีแซนทินได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Maoka *et al*. (1986) ศึกษาในปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารและนำผิวหนังมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์พบการสะสมของซีแซนทิน 3 ไอโซเมอร์ได้แก่ (3R,3′R)-zeaxanthin (เป็นส่วนมาก) (3R,3′S)-zeaxanthin (ปานกลาง) และ (3S,3′S)-zeaxanthin (ปริมาณเล็กน้อย) สรุปได้ว่าปลา rainbow trout สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นซีแซนทินได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kitahara (1983) ศึกษาการสะสมแคโรทีนอยด์ในปลา chum salmon (*Oncorhynchus keta*) พบว่าเมื่อปลาโตเต็มวัยพบการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดแอสตาแซนทินในเนื้อลดลงแต่พบการสะสมบริเวณผิวหนังและรังไข่ในปลาเพศเมียเพิ่มขึ้น เมื่อถึงฤดูกาลวางไข่ปลาจะอพยพจากทะเลไปยังปากแม่น้ำและปลาจะเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นซีแซนทินแทน

ส่วนสีที่ปรากฏบริเวณผิวหนังปลาในกลุ่มสีแดงได้แก่ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง

จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าปลาการ์ตูนมะเขือเทศ และปลาการ์ตูนทองมีการเปลี่ยนและสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดที่เหมือนกันได้แก่ pathway ของ β-carotene⟶ echninenone ⟶ canthaxanthin และ pathway ของ canthaxanthin ⟶echninenone ⟶ β-carotene สรุปว่าปลาการ์ตูนทั้งสองชนิดนี้สามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนเป็นแคนทาแซนทิน และเปลี่ยนแคนทาแซนทินเป็นเบต้าแคโรทีนได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Schiedt *et al*. (1985) ทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารเลี้ยงปลา rainbow trout ระยะเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าปลา rainbow trout สามารถเปลี่ยนและสะสมแคโรทีนอยด์ได้ 3 pathway ได้แก่ pathway 1 canthaxanthin⟶echinenone⟶β-carotenepathway 2adonirubin⟶asteroidenone (3’hydroxyechinenone) ⟶ β-cryptoxanthin และ pathway 3 astaxanthin⟶ adonixanthin ⟶zeaxanthin ⟶ antheraxanthin⟶ deepoxineoxanthin และจากการศึกษาของ Hsu Wan-Jean *et al*. (1970) ศึกษาเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ในอาร์ทีเมีย พบว่าเมื่อเสริม β-carotene ในอาหารพบการสะสมของ echinenone และ canthaxanthin และเมื่อนำ echinenone มาเสริมในอาหารก็พบการสะสมcanthaxanthin เช่นกัน แต่เมื่อนำzeaxanthinมาเสริมในอาหารกลับไม่พบการสะสมของ

canthaxanthin แสดงว่า zeaxanthin ไม่สามารถเปลี่ยนและสะสมกลุ่ม ketocarotenoidได้ สรุปได้ว่าอาร์ทีเมียสามารถเปลี่ยนจาก β-carotene ไปเป็น canthaxanthin โดยผ่าน echinenone

แต่มีความแตกต่างระหว่างปลาสองชนิดนี้ คือเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ พบ pathway ของastaxanthin⟶echninenone ⟶canthaxanthin แต่ในปลาการ์ตูนทอง pathway ของastaxanthin⟶lutein สรุปว่าปลาการ์ตูนมะเขือเทศสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นแคนทาแซนทิน แต่ในปลาการ์ตูนทองสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นลูทีน และเปลี่ยนลูทีนเป็นแอสตาแซนทินได้ เช่นเดียวกับการศึกษาในปลา gilthead seabeam (*Sparus aurata*) พบว่าหลังจากให้อาหารเสริมแอสตาแซนทินพบลูทีนสะสมบริเวณผิวหนังปลา แสดงว่าปลาชนิดนี้สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นลูทีนได้ (Gomes *et al*., 2002) และ Latscha (1990) รายงานว่าในกลุ่มปลาแซลมอนพบการสะสมลูทีนโดยไม่เปลี่ยนรูปสำหรับแอสตาแซนทินเมื่อได้รับจากอาหารจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของซีแซนทินและลูทีน และTanaka *et al*. (1976) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงและการสะสมแอสตาแซนทินในปลา goldfish หลังจากเสริมแอสตาแซนทินในอาหารพบว่า lutein สามารถเปลี่ยนเป็น β-doradexanthin โดย lutein สังเคราะห์มาจาก astaxanthinโดยขบวนการ oxidative pathway และ Katayama *et al.* (1973) พบว่าการแสดงออกของสีแดงในปลาคาร์ฟเป็นแคโรทีนอยด์ชนิด astaxanthin ปลาคาร์ฟสามารถเปลี่ยน lutein และ zeaxanthin เป็น astaxanthinได้ และมีรายงานว่าการเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารเสริมลูทีนมีผลทำให้บริเวณผิวหนังปลามีสีแดงเพิ่มขึ้น (Hirao *et al*., 1963) นอกจากนี้ Hata and Hata (1972b) รายงานว่าปลาทองมีความสามารถในการเปลี่ยนลูทีนเป็นแอสตาแซนทินได้ แต่พบว่าผิวหนังของปลาทองจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้มภายในเวลา 7 วัน และถ้าได้รับอาหารนานเป็นเวลา 30 วัน ผิวหนังจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอมส้ม และ katayama *et al*. (1973) ยังรายงานว่าปลาทองและปลาคาร์พมีความสามารถในการเปลี่ยนลูทีนเป็นแอสตาแซนทินได้เช่นเดียวกัน แต่จากรายงานของ Olsen and Baker (2006) พบว่าปลา atlantic salmon ที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินจะมีการสะสมปริมาณของแอสตาแซนทินเพิ่มมากขึ้นที่บริเวณกล้ามเนื้อสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีนแต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแอสตาแซนทินที่บริเวณกล้ามเนื้อ

และจากการทดลองในปลาการ์ตูนแดง พบว่าเมื่อเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดใดในอาหารปลาจะมีการสะสมแคโรทีนอยด์ชนิดนั้นเพิ่มขึ้นบริเวณผิวหนังปลา สอดคล้องกับการศึกษาของTanaka (1978) ในปลาเรดซีบรีม พบแคโรทีนอยด์ทุกชนิดที่ใช้เสริมในอาหารสะสมในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นด้วย และTorrissen *et al*. (1989) ศึกษาเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ในปลาเซลมอน พบว่ามีแอสตาแซนทินและแคนตาแซนทินเป็นองค์ประกอบพบสีแดงส้มบริเวณผิวหนัง เนื้อและครีบเป็นผลมาจากแอสตาแซนทิน

การเสริมแหล่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ในปลาการ์ตูนส้มขาว หลังสิ้นสุดการทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว คือ แอสตาแซนทินเพราะเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง (a*) บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีแซนทินและสีที่ปรากฏมีสีส้มแดงสดและเป็นที่ต้องการของตลาดมากกว่า ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีแซนทินสีที่ปรากฏเป็นสีส้มเหลือง และปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีน พบว่าค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ซึ่งสีเหลืองเป็นสีที่แตกต่างจากปลาธรรมชาติ

จากผลการทดลองในครั้งนี้ของปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าแคโรทีนอยด์ที่ใช้เสริมในอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มสีในระยะเวลา 3 เดือนให้ผลไม่ชัดเจน เนื่องจากสีที่ปรากฏบริเวณผิวหนังปลามีลักษณะสีส้มส่วนครีบมีสีส้มเหลือง ซึ่งแตกต่างจากปลาธรรมชาติเพราะบริเวณลำตัวต้องมีสีดำและครีบมีสีเหลืองสดตามที่ตลาดต้องการ และจากการทดลองนำปลาการ์ตูนลายปล้องจากธรรมชาติที่รวบรวมได้บริเวณจังหวัดกระบี่แถบทะเลอันดามัน พบว่าผิวหนังปลาพบแคโรทีนอยด์ชนิดทูน่าแซนทินทำให้บริเวณครีบปลามีสีเหลือง และลำตัวมีสีดำสอดคล้องกับการศึกษาของ Hirao *et al*. (1957) ศึกษาชนิดของแคโรทีนอยด์ในปลา yellowtail (*Seriola*

*quinqueradiata*) โดยนำผิวหนังที่มีแถบสีเหลืองบริเวณเส้นข้างลำตัว และส่วนของครีบปลา blue-fin tuna (*Thunnus orientalis*) พบแคโรทีนอยด์ชนิดทูน่าแซนทินเป็นองค์ประกอบเหมือนกัน และผลศึกษาของ Matsuno *et al*. (1985) พบทูน่าแซนทินในปลากลุ่ม Perciformes ปลาจะมีลักษณะสีเหลืองบริเวณครีบและผิวหนัง จากนั้นทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารเลี้ยงปลา red sea bream และปลา yellow tail พบว่าปลาสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินไปเป็นทูน่าแซนทินโดยผ่านซีแซนทิน นอกจากนี้มีการทดลองเสริมแอสตาแซนทินเลี้ยงปลา Black bass (*Micropterus salmoides*) น้ำหนักเริ่มต้น 30 กรัมระยะเวลา 30 วัน นำผิวหนังปลามาวิเคราะห์ พบว่าปลาชนิดนี้ก็สามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นทูน่าแซนทินได้เช่นเดียวกัน จาก pathway ของ astaxanthin⟶zeaxanthin⟶lutein⟶tunaxanthin (Yamashita *et al*, 1996) แต่การทดลองของ Miki *et al*. (1985) ทดลองเสริมแอสตาแซนทินในรูปเอสเทอร์จาก Antarctic krill และเสริมลูทีนในปลา yellowtail ระยะเวลา 70 วัน พบว่าบริเวณผิวหนังปลาพบทูน่าแซนทิน และ 3'-epilutein เพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินจาก Antarctic krill และพบลูทีนในปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีน แสดงว่า astaxanthin ⟶ 3'-epilutein ⟶tunaxanthin ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าปลาการ์ตูนลายปล้องที่ได้รับอาหารเสริมลูทีนหรืออาจจะเป็นแอสตาแซนทิน เพราะมีความเป็นไปได้ที่สามารถจะเปลี่ยนลูทีนหรือแอสตาแซนทินเป็นทูน่าแซนทินได้ แต่ต้องใช้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นในการสะสมปริมาณลูทีนหรือแอสตาแซนทินในกระแสเลือด บริเวณผิวหนัง และที่อวัยวะอื่น ๆ จึงเลือกชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนลายปล้องที่คิดว่าพอจะมีแนวทางในการเพิ่มสีที่เราต้องการ คือ ลูทีน เพราะเมื่อเสริมลูทีนในอาหาร พบว่าค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) มีค่ามากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ ทำให้สีที่ปรากฏบริเวณครีบของปลามีสีเหลืองเพิ่มขึ้นมากกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นสีที่ใกล้เคียงกับปลาธรรมชาติมากที่สุด หรือแอสตาแซนทิน แต่ต้องเพิ่มระยะเวลาทดลองนานขึ้น

ส่วนในปลาการ์ตูนมะเขือเทศหลังสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 3 เดือน พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ คือ แอสตาแซนทินเพราะเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง (a*) บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลองทำให้สีที่ปรากฏมีสีแดงสดและเป็นที่ต้องการของตลาดมากกว่า ส่วนปลาที่ได้รับ อาหารเสริมแอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทิน พบว่าค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) บริเวณผิวหนังปลามีค่าไม่แตกต่างกัน

ในปลาการ์ตูนแดง พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง คือ แอสตาแซนทิน เพราะเมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง (a*) บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลอง ทำให้สีที่ปรากฏมีสีแดงสดกว่าและเป็นที่ต้องการของตลาดมากกว่า ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีนและซีแซนทิน พบว่าค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) มากกว่าชุดการทดลองอื่น ทำให้ผิวหนังปลามีลักษณะสีเหลืองและสีส้มซึ่งแตกต่างจากปลาธรรมชาติ

และในปลาการ์ตูนทอง พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนทอง คือ แอสตาแซนทินหรือแคนทาแซนทิน เพราะเมื่อเสริมแคนทาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง (a*) บริเวณผิวหนังปลามีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลอง ทำให้สีที่ปรากฏมีสีแดงสด และมีลักษณะเหมือนปลาการ์ตูนแดง แต่เมื่อเสริมแอสตาแซนทินในอาหารทำให้ความเข้มของสีแดง (a*) บริเวณผิวหนังปลามีค่าน้อยกว่าการเสริมแคนทาแซนทิน เพราะแอสตาแซนทินเปลี่ยนเป็นลูทีน ทำให้สีที่ปรากฏมีลักษณะเป็นสีทอง และเป็นที่ต้องการของตลาดมากกว่า ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมลูทีน และซีแซนทิน พบว่าค่าความเข้มของสีเหลือง (b*) มากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ทำให้ผิวหนังปลามีลักษณะสีเหลืองและสีส้ม ซึ่งแตกต่างจากปลาธรรมชาติ

จากการทดลองในครั้งนี้พบข้อแตกต่างระหว่างปลาการ์ตูนแดงและการ์ตูนทองถึงแม้จะอยู่ในสปีชีส์เดียวกันแต่การแสดงออกของสีบริเวณผิวหนังปลาแตกต่างกัน ในปลาการ์ตูนแดงที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินทำให้ปริมาณแอสตาแซนทินสะสมบริเวณผิวหนังในตัวปลาสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการ

แสดงออกของสีแดง แต่ในปลาการ์ตูนทองที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทินจะเปลี่ยนแอสตาแซนทิน เป็นลูทีนได้ ดังนั้นทำให้ปริมาณลูทีนสะสมบริเวณผิวหนังในตัวปลาสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการแสดงออกของสีทองที่ผิวหนังได้ แสดงให้เห็นว่าปลาการ์ตูนแดงและการ์ตูนทองที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทินมีความสามารถในดูดซึมและมีการกระจายในกระแสเลือดและสะสมบริเวณผิวหนังปลาได้แตกต่างกัน

## สรุปผลการทดลอง

**1. ขบวนการเมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และ ปลาการ์ตูนทอง**

การเสริมแหล่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ หลังสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 3 เดือน พบว่าปลาการ์ตูนส้มขาวที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทินสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นซีแซนทีนได้ ส่วนในปลาการ์ตูนลายปล้อง พบว่าสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนผ่านเบต้าคริบโตแซนทินเป็นซีแซนทีน และแอสตาแซนทินเป็นซีแซนทีน นอกจากนี้ยังสามารถเปลี่ยนแคนทาแซนทินผ่านเอ็คไคนีโนนผ่านเบต้าแคโรทีนผ่านเบต้าคริบโตแซนทินเป็นซีแซนทีน นอกจากนี้ พบว่าปลาการ์ตูนมะเขือเทศสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนผ่านเอ็คไคนีโนนเป็นแคนทาแซนทินและจากแคนทาแซนทินผ่านเอ็คไคนีโนนเป็นเบต้าแคโรทีน และยังสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินผ่านเอ็คไคนีโนนเป็นแคนทาแซนทิน และพบว่าปลาชนิดนี้เสริมแหล่งแคโรทีนอยด์ชนิดไหนก็จะได้แคโรทีนอยด์ชนิดนั้นสะสมบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้น ส่วนในปลาการ์ตูนแดง หลังสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 3 เดือน พบว่าปลาชนิดนี้เสริมแหล่งแคโรทีนอยด์ชนิดไหนก็จะได้แคโรทีนอยด์ชนิดนั้นสะสมบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้น และในปลาการ์ตูนทองพบว่าปลาสามารถเปลี่ยนเบต้าแคโรทีนผ่านเอ็คไคนีโนนเป็นแคนทาแซนทินและเปลี่ยนแคนทาแซนทินผ่านเอ็คไคนีโนนเป็นเบต้าแคโรทีน นอกจากนี้ยังสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินเป็นลูทีนและพบว่าปลาชนิดนี้เสริมแหล่งแคโรทีนอยด์ชนิดไหนก็จะได้แคโรทีนอยด์ชนิดนั้นสะสมบริเวณผิวหนังปลาเพิ่มขึ้นเช่นกัน

**2. ชนิดของแคโรทีนอยด์ ในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว ปลาการ์ตูนลายปล้อง ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และ ปลาการ์ตูนทอง**

การเสริมแหล่งแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ในปลาการ์ตูนส้มขาว หลังสิ้นสุดการทดลองระยะเวลา 3 เดือน พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว คือ แอสตาแซนทิน ส่วนปลาการ์ตูนลายปล้องจากการทดลองครั้งนี้ไม่พบการสะสมทูน่าแซนทิน จึงเลือกชนิดของแคโรทีนอยด์ที่คิดว่าพอจะมีแนวทางในการเพิ่มสี คือ ลูทีน หรือ แอสตาแซนทิน นอกจากนี้พบว่าชนิดของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมใช้เสริมในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ปลาการ์ตูนแดง และปลาการ์ตูนทอง คือ แอสตาแซนทิน

## ข้อเสนอแนะ

1.ลูกปลาที่นำมาทดลองควรนำลูกปลาที่ได้จากการอนุบาลชุดเดียวกันและให้อาหารตั้งแต่เริ่มแรกเพื่อได้ทราบประวัติการให้อาหารและการสะสมแคโรทีนอยด์ตั้งแต่เริ่มต้น ที่มีผลต่อการแสดงออกของสีก่อนนำมาทดลอง

2.จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าจากการทดลองเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์แต่ละชนิดในปลาการ์ตูนลายปล้องยังมีปัญหาเพราะสีที่ได้ไม่ตรงกับความต้องการ ควรศึกษาเพิ่มเติมโดยขยายเวลาเลี้ยงให้นานขึ้นและหาระดับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมตลอดจนศึกษา pathway ของแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นที่

มีความเป็นไปได้ในการเปลี่ยนและสะสมแคโรทีนอยด์สุดท้ายได้แคโรทีนอยด์ชนิดทูน่าแซนทินทำให้ปลาชนิดนี้มีครีบสีเหลืองเพิ่มขึ้นและได้สีใกล้เคียงเทียบกับปลาจากธรรมชาติ

3.ทดลองและดัดแปลงวิธีสกัดตัวอย่างเพื่อทราบชนิดและปริมาณที่ถูกต้องของแคโรทีนอยด์และเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่ทันสมัย เช่นด้วยเครื่อง LC/MS/MS เพื่อสามารถศึกษาโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ที่ไม่ทราบแน่ชัดเป็นการยืนยันผลได้ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น

4.ปัญหาพบว่าการนำปลาจากแหล่งธรรมชาติมาเป็นตัวเปรียบเทียบอาจเป็นดัชนีที่ไม่แน่นอนในเรื่องของสีเพราะปลาการ์ตูนที่จับได้จากธรรมชาติในแต่ละแหล่งมีการแสดงออกของสีภายนอกที่ไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับอาหารที่ได้รับจากธรรมชาติที่ปลาอาศัยอยู่

5.เมื่อทราบว่าปลาการ์ตูนแต่ละชนิดสามารถใช้แคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมในการเพิ่มสีแล้ว ควรศึกษาหาแหล่งแคโรทีนอยด์จากธรรมชาติมาทดแทนสารสีสังเคราะห์ เพื่อลดต้นทุนการผลิตปลาได้

## คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ดร. สุพิศ ทองรอด บริษัทไทยยูเนี่ยนฟีดมิลล์ จำกัด ผู้ริเริ่มและให้แนวคิดตลอดจนเป็นที่ปรึกษาตลอดโครงการวิจัยชุดนี้ และศาสตราจารย์ George Britton อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่งทุกท่านที่ช่วยเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

ศิริชัย พงษ์วิชัย. 2551.การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 479 หน้า.

สุกิจ รัตนวินิจกุล และพูนสิน พานิชสุข. 2538. ผลของการเสริมสไปรูไลนา และดอกดาวเรืองในอาหารต่อสีของกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2538. สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดนครศรีธรรมราช กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 9 หน้า.

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1,268 pp.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Animal feed. **In:** Horwitz, W. (Ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. AOAC International, Maryland. 1-48.

Britton, G. 1983. The Biochemistry of Natural Pigments. Cambridge University Press, Cambridge. 366pp.

Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander. 1995a. Carotenoids Vol. 1A. Isolation and analysis. Birkhauser Verlag. 261 pp.

Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander. 1995b. Carotenoids Vol. 1B. Spectroscopy. Birkhauser Verlag. 360 pp.

Choubert, G. and P. Luquet. 1983. Utilization of shrimp shell meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri Rich.*) pigmentation. Influence of fat content of the diet. *Aquaculture* 32: 19–26.

Fox, D. L. 1957. The pigment of fishes. In :brawn, M. E. (eds.). Physiology of Fishes.Vol. II . Behavior. Acadimic Press Inc., New York. 367-400.

Fujita, T., M. Satake, T.Watanabe, C. Kitajima, W. Miki, K. Yamaguchi and S. Konosu. 1983. Pigmentation of cultured red sea bream with astaxanthin diester purified from krill oil. *Bull Jap Soc Sci Fish* 49: 1855–1860.

Goodwin T.W. 1984. In: The Biochemistry of the Carotenoids. Volume II. Tunicates and Fish. Chapter 8. Chapman and Hall, London. 122-153.

Gomes, E., J. Dias, P. Silva, L. Valente, J. Empis, L. Gouveia, J. Bowen and A. Young. 2002. Utilization of natural and synthetic source of carotenoids in the skin pigmentation of gilthead seabeam (*Sparus aurata*). *Eur. Food Res. Technol*. 214: 287-293.

Greenberg, D. M. 1968. Metabolic Pathways. Academic Press, New York. 511 pp.

Hata M. and M. Hata. 1972b. Carotenoid pigments in goldfish, V. Conversion of zeaxanthin to astaxanthin. *Bulletin of the Japanese society of sciencific fisheries*. 38 : 339 – 343.

Hirao S., J. Yamada and R. Kikuchi.1957. Carotenoids in fish.: The distribution of xanthophylls in various fish. *Bull. Tokai. Reg. Fish. Res. Lab*. 16: 53-58.

Hirao S, R. Kikuchi and H. Taguchi. 1963. Carotenoid pigments in fish, II Effect of dietary carotenoid on body color of goldfish. *Bulletin of the Japanese society of sciencific fisheries*. 29 : 382 – 386.

Hsu Wan-Jean, C.O. Chichester and B.H. Davies.1970. The metabolism of $\beta$-carotene and other carotenoids in the brine shrimp, *Artemia Salina* L. (Crustacea: Branchiopoda).*Comparative Biochemistry and Physiology*. 32: 69-79.

Katayama T., K .Shintani and C.O. Chichester.1973. The biosynthesis of astaxanthin. *Comp. Biochem. Physiol*. 448 : 253 – 257.

Katsuyama M., T. Komori. and T. Matsumo. 1987. Metabolism of three stereoisomers of astaxanthin in the rainbow trout and tilapia. *Comparative Biochemistry and Physiology*.86B: 1-5.

Kitahara T. 1983. Behavior of carotenoids in the chum salmon (*Oncorhynchus keta)* during anadromous migration. *Comp. Biochem. Physiol*. 76B: 97-101.

Latscha, T. 1990. Carotenoid their Nature and Significance in Animal Feed. F. Hoffmann-La Roche Ltd., Animal Nutrition and Health Basel. Switzerland. 110 pp.

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

Maoka, T., A. Arai, M. Shimizu, T. Matsuno. 1986. The first isolation of enantiomeric and *meso*-zeaxanthin in nature. *Comp. Biochem. Physiol.* 83B: 121–124.

Matsuno, T., M. Katsuyama, T. Maoka, T. Hirono and T. Komori. 1985. Reductive metabolic pathways of carotenoids in fish (3S,3′S)-astaxanthin to tunaxanthin A, B and C. *Comp. Biochem. Physiol*. 80B: 779–789.

Miki, W., K. Yamaguchi, S. Konosu, T. Takane, M. Satake, T. Fujita, H. Kuwabara, S. Shimeno and M. Takeda. 1985. Origin of tunaxanthin in the integument of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Comp. Biochem. Physiol*. 80: 195-201.

Nakazoe J., Ishii S., Kamimoto M. and Takeuchi M. 1984. Effects of supplemental carotenoid pigments on the carotenoid accumulation in young sea bream (*Chrysophrys major*). Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 113:29-41.

Olson, J. A. 1989. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of β-carotene into vitamin A. *Journal* of *Nutrition*.119: 105-108.

Olsen R.E. and R.T.M Baker. 2006. Lutrin does not influence flesh astaxanthin pigmentation in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*. 258 : 558 – 564.

Schiedt, K., F.J. Leuenberger, M. Vecchi, and E. Glinz. 1985. Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken. *Pure Appl. Chem*. 57: 685-692.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis, 2nd ed. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa. 311 pp.

Tanaka, Y., T. Katayama and K. C. Simpson.1976. The biosynthesis of Astaxanthin XIX: The distribution of Doradexanthin and the metabolism of carotenoids in goldfish. *Bull.Jap. Soc. Sci. Fish.,* 42: 885-891.

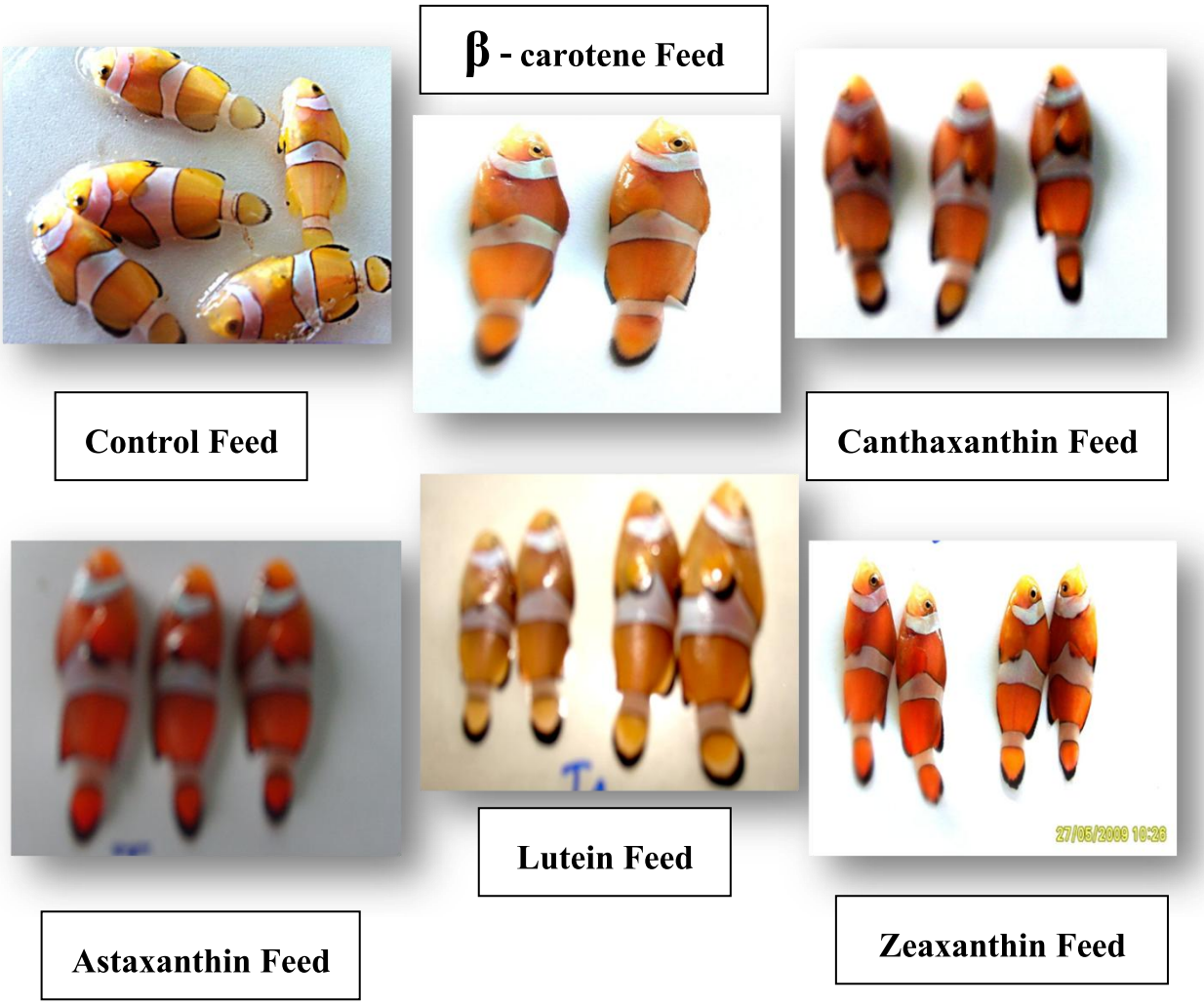
Tanaka, Y. 1978. Comparative biochemical studies on carotenoids in aquatic animals Memorandum of Fac. Fish. Kagoshima University. 27**:** 355–422.

Torrisen, O. J., , R. W. Hardy and K. D Shearer. 1989. Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism. *Rev.Aquat.Sci*.1: 209-225.

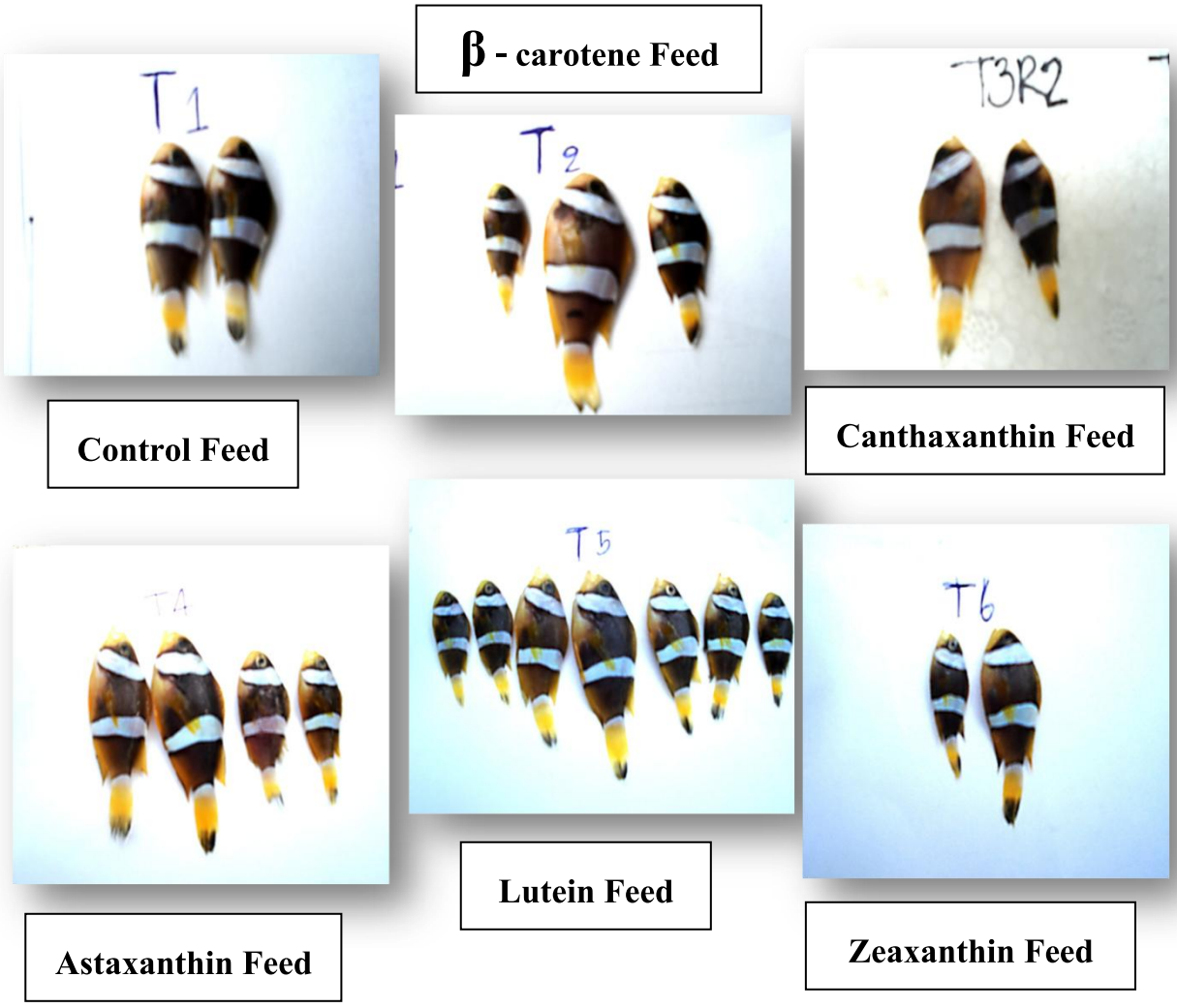
Yamashita, E., S. Arai and T. Matsuno. 1996. Metabolism of xanthophylls to vitamin A and new apocarotenoids in liver and skin of black bass, *Micropterus salmoides*. *Comp. Biochem. Physiol.*113B: 485–489.

# ภาคผนวก

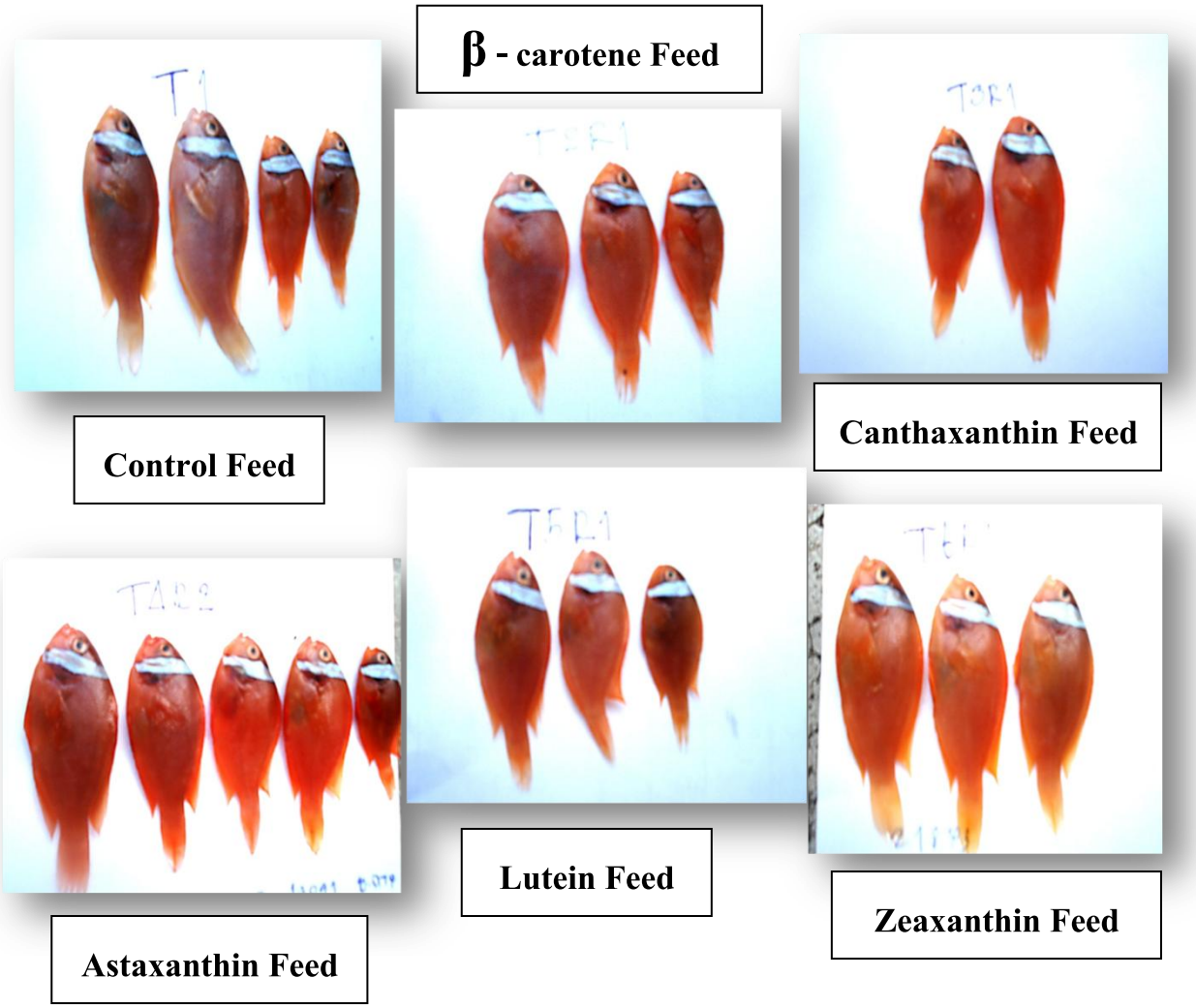
**ภาพผนวกที่ 1** ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนส้มขาว



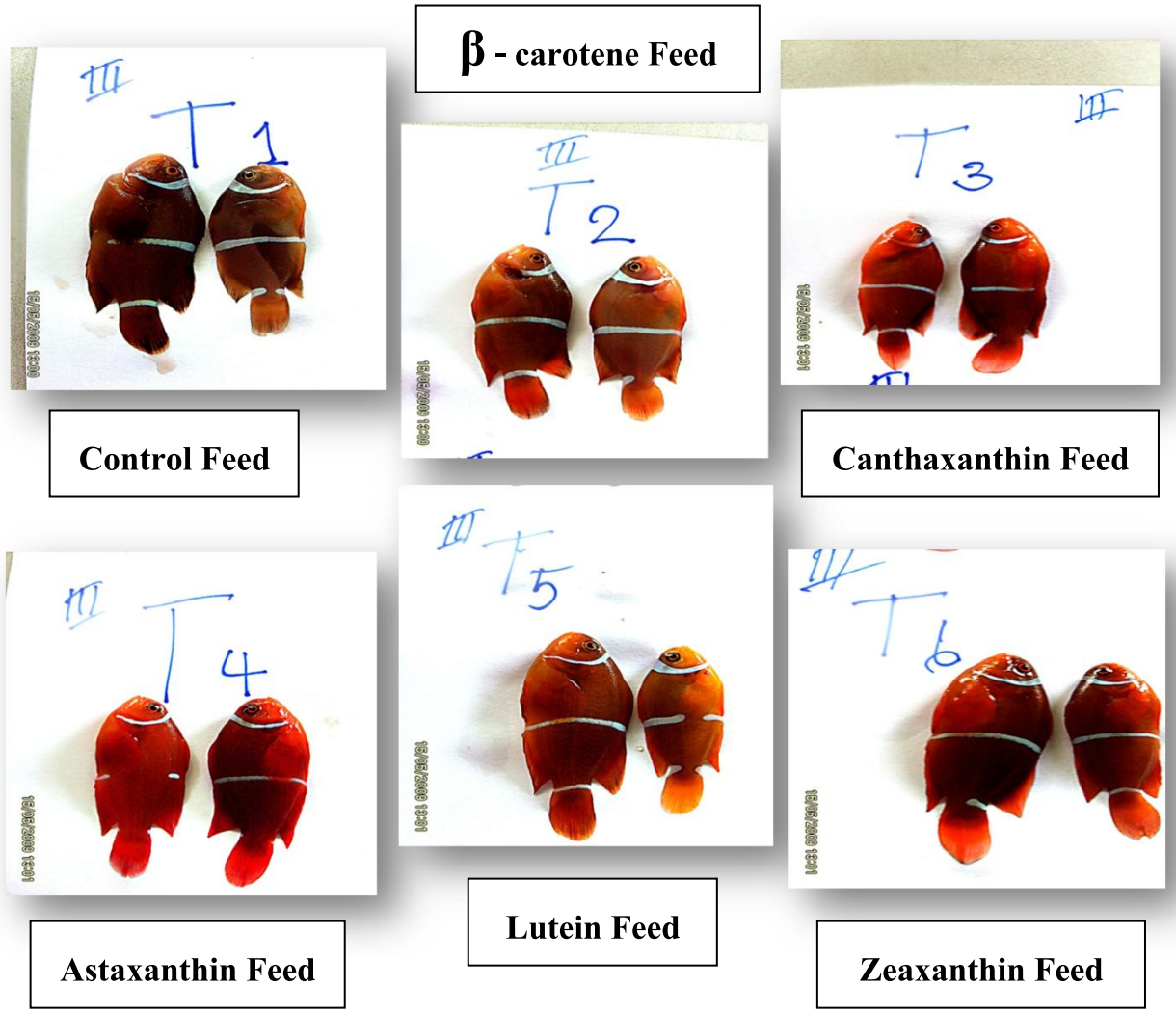
**ภาพผนวกที่ 2** ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนลายปล้อง



**ภาพผนวกที่ 3** ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ



**ภาพผนวกที่ 4** ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนแดง



**ภาพผนวกที่ 5** ความเข้มของสี หลังให้อาหารเสริมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ระยะเวลา 3 เดือน ในปลาการ์ตูนทอง