

การตรวจเอกสาร

การเกิดกลิ่นโคลนในสัตว์น้ำเป็นผลมาจากสารจีโอสมิน

การเลี้ยงสัตว์น้ำจืดบ่อยครั้งจะพบปัญหาคุณภาพสัตว์น้ำ เรื่องกลิ่นโคลนในเนื้อสัตว์น้ำ ซึ่งสาเหตุเกิดจากปัจจัยสภาพแวดล้อมภายในบ่อเลี้ยงที่ทำให้เกิดกลิ่นโคลน เช่น แบคทีเรียสกุล *Actinomycetes*, *Streptomyces*, *Fossombronina*, *Nocardia* และ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Oscillatoria*, *Microcystis*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Aphanizomenon*, *Symploca* และ *Phormidium* ที่สามารถสร้างสารจีโอสมิน (geosmin, trans - 1, 10 - dimethyl - trans - 9 - decalol) และ 2 - methylisoborneol (1, 2, 7, 7 - tetramethyl - exo - bicyclo - [2,2,1] - heptan - 2 - ol หรือ MIB) ที่ทำให้เกิดกลิ่นโคลนในน้ำ ในสัตว์น้ำและอาหาร ปริมาณจีโอสมินจะมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแต่ละชนิด (Jones and Wolfgang, 1995; Hu and Chiang, 1996; Durrer *et al.*, 1999) และสามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อสัตว์น้ำเข้าไปสะสมภายในส่วนต่างๆ ของสัตว์น้ำ ปัญหาการเกิดกลิ่นโคลนที่พบบ่อยในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ มักจะมีสาเหตุมาจากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถสร้างสารจีโอสมิน หรือ MIB ได้ หลังจากนั้นจะมีการตายของสาหร่ายและเกิดการย่อยสลายซากสาหร่ายเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง (Krom and Neori, 1989) และเกิดกลิ่นเหม็นในบ่อเลี้ยงมีผลทำให้เกิดกลิ่นโคลนในเนื้อสัตว์น้ำ สัตว์น้ำที่พบปัญหากลิ่นโคลน เช่น ปลา bream (*Abramis brama*) ปลา carp (*Cyprinus carpio*) ปลา walleye (*Stizostedion vitreum*) และ ปลา lake herring (*Coregonu artedii*) ส่วนปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) เป็นปลาที่มีการศึกษาปัญหาการเกิดกลิ่นโคลนจากสารจีโอสมิน และ MIB กันมาก เนื่องจากเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจนิยมเลี้ยงกันมากในหลายมลรัฐทางภาคใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา ในบ่อเลี้ยงที่เนื้อปลามีกลิ่นโคลนราคาปลาจะต่ำกว่าปกติมาก (Lovell and Broce, 1985; Lorio *et al.*, 1992; Jones and Wolfgang, 1995; Hu and Chiang, 1996; Schrader *et al.*, 1998; Sugiura *et al.*, 1998; Tucker and Ploeg, 1999; Walker and Higginbotham, 2000; Saadoun *et al.*, 2001; Zimba and Grimm, 2002) สำหรับสัตว์น้ำในประเทศไทยที่พบว่ามีการเกิดกลิ่นโคลนบ่อยครั้ง เช่น ปลาสวาย (*Pangasius sutchi*) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่เลี้ยงในน้ำจืด กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำ เป็นต้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์-เอ และจีโอสมินในสาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายมีธาตุอาหารเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญโดยเฉพาะธาตุอาหารหลักไนโตรเจนและฟอสเฟต ซึ่งพบว่าในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ และในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งมีการขับถ่ายของเสียของสัตว์น้ำและอาหารที่เหลือตกค้างในบ่อเลี้ยง เมื่อของเสียเหล่านั้นถูกย่อยสลายทำให้เกิดธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายแต่ละชนิด (Pillay, 1992) การเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่อยู่ในน้ำและตะกอนดินซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมทางฟิสิกส์และเคมี (Hillebrand and Kahlert, 2002)

ปริมาณไนโตรเจนเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกลไกทางสรีรวิทยาของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Saha (2003) พบว่าในสภาวะที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria willei* BDU 130511 ขาดไนโตรเจนเป็นเวลานานจะทำให้ลักษณะของเซลล์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีสีเหลือง และเซลล์จะแตกหักออกจากเส้นสายเป็นจำนวนมาก การเจริญเติบโตจะลดลง 17 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด Funge-Smith and Briggs (1998) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนกับปริมาณคลอโรฟิลล์-เอในบ่อเลี้ยง กุ้งพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์-เอจะเปลี่ยนแปลงเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับปริมาณไนโตรเจน

นอกจากนี้ Saadoun *et al.* (2001) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมีผลต่อการสังเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ จีโอสมิน และมวลน้ำหนักรวมของสาหร่าย *Anabaena* โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณไนเตรทจะมีผลทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Anabaena* ในการสังเคราะห์ปริมาณจีโอสมิน อัตราส่วนของจีโอสมิน/มวลน้ำหนักรวม และ จีโอสมิน/คลอโรฟิลล์-เอ สูงสุด เมื่อมีปริมาณไนเตรท 124 ไมโครกรัม/ลิตร ส่วนมวลน้ำหนักรวมและคลอโรฟิลล์-เอ จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามปริมาณไนเตรท

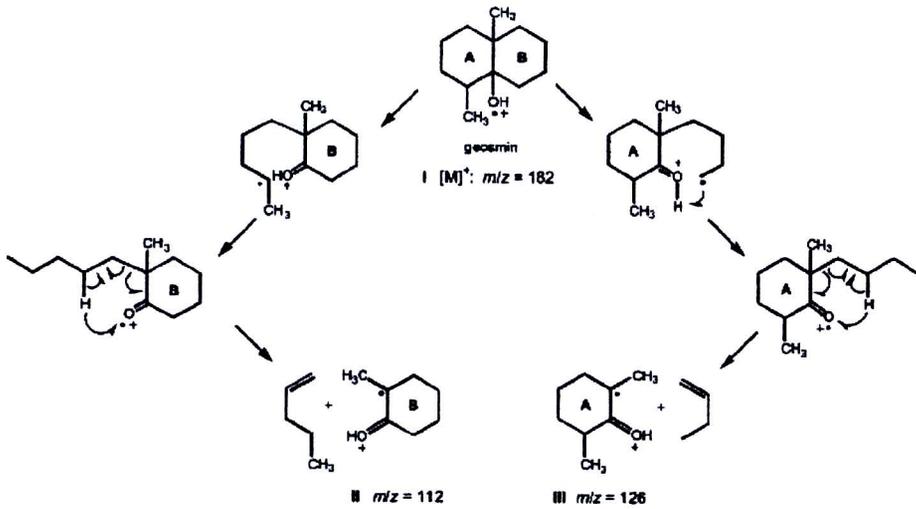
ปริมาณฟอสเฟตในแหล่งน้ำเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตต่อสาหร่าย (Hillebrand and Kahlert, 2002; Xie *et al.*, 2003 a) เนื่องจากฟอสเฟตที่อยู่ในตะกอนดินจะแตกตัวและปล่อยฟอสเฟตออกสู่แหล่งน้ำทำให้ปริมาณฟอสเฟตในน้ำเพิ่มขึ้น (Boyd, 1995; Boyd and Munsiri, 1996; Xie *et al.*, 2003a) ปริมาณฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลทำให้การสังเคราะห์ปริมาณจีโอสมินคลอโรฟิลล์-เอ และมวลน้ำหนักรวมของสาหร่าย *Anabaena* sp. นอกจากนี้ Yusoff *et al.* (2001) ได้ทดลองสกัดตะกอนดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งและนำน้ำที่ได้จากการสกัดมาเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Oscillatoria* พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี เมื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารในน้ำที่สกัดพบว่ามีปริมาณฟอสเฟต 25.98 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 65.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณธาตุอาหารมีมากพอต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Oscillatoria* การปล่อยฟอสเฟตจากตะกอนดินสู่แหล่งน้ำธรรมชาติเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ซึ่ง

ในช่วงที่ปริมาณฟอสเฟตในน้ำเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณไนโตรเจนในน้ำไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก จึงทำให้อัตราส่วนไนโตรเจนกับฟอสเฟต (TN:TP ratio) มีอัตราส่วนต่ำกว่า 29 (Havens *et al.*, 2003; Xie *et al.*, 2003 b) และพบว่า ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Oscillatoria* และ *Microcystis* ถ้าปริมาณฟอสเฟตลดลงจนอัตราส่วนไนโตรเจนกับฟอสเฟตมีอัตราส่วนมากกว่า 29 ก็จะทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลดลง และจะพบการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินน้อยมากถ้ามีปริมาณไนโตรเจนและฟอสเฟตน้อยถึงแม้ว่า จะมีอัตราส่วนไนโตรเจนกับฟอสเฟตจะมีอัตราส่วนมากกว่า 29 (Xie *et al.*, 2003 b) ดังนั้น อัตราส่วนของ TN:TP น่าจะเป็นดัชนีบอกแนวโน้มการเจริญเติบโตของ *Oscillatoria* และ *Microcystis* ในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ได้ทางหนึ่ง นอกจากนี้ในสาหร่าย *Anabaena* sp. (Saadoun *et al.*, 2001) ปริมาณไนโตรเจน และฟอสเฟตสามารถใช้เป็นปัจจัยบอกแนวโน้มในการสังเคราะห์จีโออสมินและคลอโรฟิลล์ได้ (Davies *et al.*, 2004) และ Robertson *et al.* (2006) พบว่าปริมาณจีโออสมินจะเปลี่ยนตามปริมาณฟอสเฟต

การวิเคราะห์ปริมาณสารจีโออสมินในสัตว์น้ำ

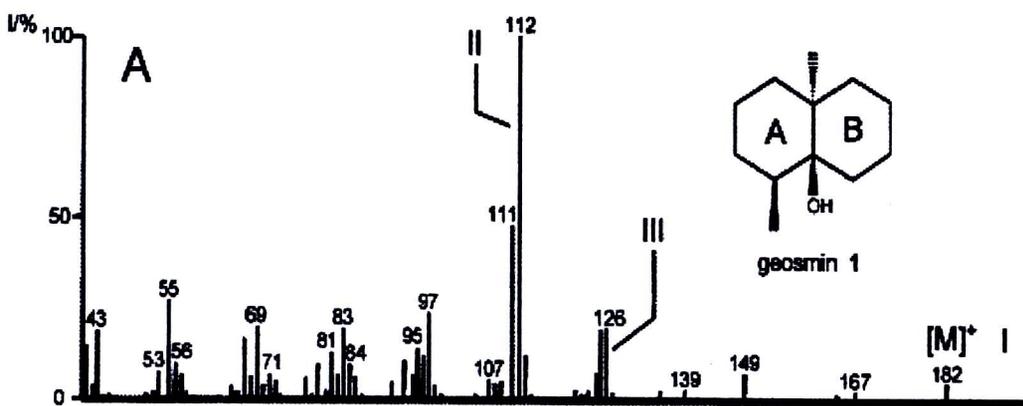
การวิเคราะห์ปริมาณจีโออสมิน สามารถวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Gas Chromatograph/Mass Spectrophotometry (GC/MS) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณจีโออสมิน และ MIB ได้ในระดับความเข้มข้น ng/L และมีการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณจีโออสมิน ต่างๆ กัน ซึ่งจากการวิเคราะห์จีโออสมิน ด้วยเครื่อง GC/MS จะได้ quantitative ions (m/z) มีค่า 112 , 126 และ 182 ดังภาพที่ 1 และ 2 (Martin *et al.*, 1992; Farmer *et al.*, 1995; Sunesson *et al.*, 1995; Nilsson *et al.*, 1996; Bao *et al.*, 1997; Zander and Pingert, 1997; Lloyd *et al.*, 1998; Palmentier *et al.*, 1998; Saito *et al.*, 1999, Zhu *et al.*, 1999; Watson *et al.* 2000; Silva *et al.*, 2002; Nakamura and Daishima, 2005; Zhang *et al.* 2005; Zhang *et al.* 2006) และสามารถแสดง chromatograms ในการวิเคราะห์ของสารต่างๆ ดังภาพที่ 3 การวิเคราะห์จีโออสมิน มีปัจจัยต่างๆ ที่ต้องควบคุม เช่น เครื่องมือ อุปกรณ์ อุณหภูมิ และความดัน ซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน (Sung *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006) จากการศึกษาของ Lovell and Broce (1985) พบว่า ปริมาณ geosmin 78 ug/kg เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดกลิ่นโคลนในเนื้อกุ้ง การศึกษากลิ่นโคลนในสัตว์น้ำ มีการศึกษากันแพร่หลายในปลา โดยการเปรียบเทียบกลิ่นโคลนที่ทดสอบโดยใช้วิธีประสาทสัมผัสชิมรสกับวิธีวิเคราะห์ปริมาณ geosmin โดยเครื่อง GC/MS เช่น ในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) การประเมินกลิ่นโคลนโดยใช้วิธีประสาทสัมผัสไม่มีกลิ่นโคลนเมื่อปริมาณจีโออสมิน น้อยกว่า $1.12 \pm 0.38 \mu\text{g/kg}$ (Robin *et al.*, 2006) ส่วน Robertson *et al.* (2005) พบว่า ปลา rainbow trout ที่มีปริมาณจีโออสมิน น้อยกว่า $0.9 \mu\text{g/kg}$ จะทำให้ไม่มีกลิ่นโคลนในเนื้อปลา

สำหรับปัญหากลิ่นโคลนในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทย ส่วนมากมีรายงานจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (ชลอ, 2535) โดยเฉพาะบ่อที่เลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ (ชลอ, 2543) ซึ่งใช้วิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) จากผู้เชี่ยวชาญทางด้านนี้โดยเฉพาะ (พจมาน, 2549) จากการศึกษาของสมชาย (2551) พบว่าปริมาณจีโอสมินมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. โดยพบว่า *Oscillatoria* sp. ในบ่อเลี้ยงน้อยกว่า 1.17×10^5 filaments/ml จะพบปริมาณจีโอสมินในเนื้อกุ้งชวาน้อยกว่า 2.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อนำมาประเมินทางประสาทสัมผัสชิมรสจะไม่พบกลิ่นโคลนในเนื้อกุ้งชวา



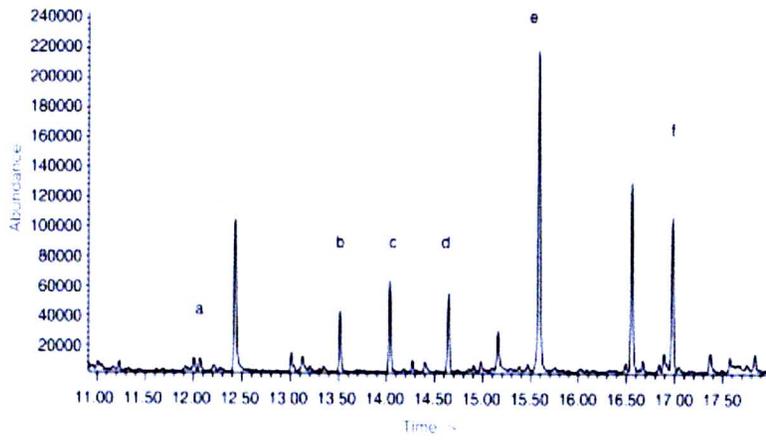
ภาพที่ 1 รูปแบบโครงสร้างของจีโอสมิน I) $m/z = 182$, II) $m/z = 112$ และ III) $m/z = 126$

ที่มา: Spiteller *et al.* (2001)



ภาพที่ 2 mass spectrum ของจีโอสมิน ที่แตกตัว I) $m/z = 182$, II) $m/z = 112$ และ III) $m/z = 126$

ที่มา: Spiteller *et al.* (2002)



ภาพที่ 3 chromatograms ของสารละลายมาตรฐานจืออสมิน (d)

ที่มา: Zhang *et al.* (2006)