ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง 23097

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้สาหร่าย *Chlorococcum sp.* ในการเร่งสีปลาทอง(*Carassius auratus*)

The microalga *Chlorococcum sp.* use for enhancing colour of goldfish (*Carassius auratus*)

T099412

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน
วัน.เดือน.ปี.

885415
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คระเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การใช้สาหร่าย *Chlorococcum sp.* ในการเร่งสีปลาทอง (*Carassius auratus*)
The microalga *Chlorococcum sp.* use for enhancing colour of goldfish (*Carassius auratus*)

ชื่อนักศึกษา นายโสธัส วัฒนสิทธิ์
ชื่ออาจารย์ที่ปรึ

ได้พิจารณาเห็นช

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

.....
(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 16 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้สาหร่าย *Chlorococcum sp.* ในการเร่งสีปลาทอง(*Carassius auratus*)

The microalga *Chlorococcum sp.* use for enhancing colour of goldfish (*Carassius auratus*)

การใช้สาหร่าย *Chlorococcum sp.* ที่เลี้ยงในสภาวะปกติ และสภาวะที่ทำให้ขาดไนโตรเจน เพื่อเร่งสีปลาทองโดยผสมกับอาหารเม็ดขนาดเล็กลอยน้ำนั้นพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ น้ำหนักสุดท้ายและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น ของสีบนลำตัวปลาทอง ทำการ องสีแดงบริเวณลำตัวปลา (a*) ใ *sp.* ที่เลี้ยงในสภาวะทำให้ขาด ความเข้มของสีแดงไม่แตกต่างกั ดการทดลองที่อาหารเม็ดไม่ผสม ุดการทดลองที่อาหารผสม แอส เทียบกับทุกชุดการทดลอง ค่าค เดลองควบคุม, อาหารผสมสาหร่า เจน และอาหารผสมแอสตาแซนท , 44.69±1.44, 47.95±0.75 ตาม ต่างกันทางสถิติ (P>0.05) จึงเห็นไ ปลาทองได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณอาจารย์ อัจฉรี เรืองเดช อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่ช่วยสนับสนุน ให้คำปรึกษา และช่วยกระตุ้นให้ทำปัญหาพิเศษ ถึงผมจะเฉื่อยชาไปบ้าง แต่อาจารย์ก็ไม่ได้ดุอะไร เพราะอาจารย์ใจดีมากๆ แต่มีเหตุผล การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ต้องการความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่าย ในเรื่องอุปกรณ์การทำปัญหาพิเศษ ขอขอบคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ภาควิชาฯ ทุกคน และพี่เจ้าหน้าที่จากอุตสาหกรรมเกษตร พี่ปริญญาโทที่ผมปรึกษาทุกเรื่อง ความรู้ที่ได้เรียนมาจากอาจารย์ภาควิชาฯ ทุกท่าน เพื่อนๆ หอราชฯ หอริมน้ำ และเพื่อนๆประมงหลายๆ คนที่ช่วยเหลือและอยู่กันมาตั้ง 4 ปี อนุสาวรีย์ ร. 4 ศาลพ่อ ที่เป็นที่พึ่งทางใจ แต่ที่สำคัญที่สุดคือ ครอบครัวของผม และเตยที่เข้าใจและคอยเอาใจช่วยเสมอมา ขอขอบพระคุณทุกท่านที่กล่าวมาจากใจจริง

ไสธัส วัฒนสิทธิ์

ฤษภาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุปและข้อเสนอแ	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ช่วงเวลาที่ใช้ การดูดกลืนสูงสุด และการระบุชนิดของแคโรทีนอยด์	6
2	การเจริญเติบโตของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ	12
3	อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตรารอดตายของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ	13
4	ค่าการเปลี่ยนแปลงของสีบนลำตัวปลาทอง	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.	2
2	วัฏจักรสมมติสำหรับการสังเคราะห์ astaxanthin	4
3	สีปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ	16

ภาพผนวกที่		หน้า
1	วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ มี 4 ชุดการทดลอง การทดลอ[illegible]	19
2	เครื่องวัดอ[illegible]	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ธุรกิจปลาสวยงาม และอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามเกิดขยายตัวอย่างต่อเนื่องจากความต้องการทั้งในตลาดในประเทศ และนอกประเทศ มีมูลค่าหลายล้านบาทต่อปี ปลาสวยงามที่นิยมเลี้ยงกันมากชนิดหนึ่ง คือ ปลาทอง ซึ่งความต้องการของตลาดต้องมีรูปร่างที่สวยงาม แข็งแรง และที่สำคัญ คือ มีสีที่สดสวย แต่ส่วนใหญ่ในตลาดปลาสวยงามสีของปลาทองมักไม่มีความสม่ำเสมอ ซีดจาง หรือไม่สดสวย จึงทำให้ปลามีราคาที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อผู้จำหน่ายปลา และจากการที่ปลาไม่สามารถสังเคราะห์สารสีเองได้ จึงได้มีการนำสารสีแดงที่ผลิตโดยสาหร่ายขนาดเล็กไปใช้ประโยชน์ และเป็นที่สนใจเนื่องจากสารสีแดงที่กล่าวถึงมีอยู่หลายรูปและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายทั้งทางการประมง และทางการแพท ารเคมี และจาก ธรรมชาติ จะเป็น ในการชักนำให้ เกิดสีจึงทำให้สาร ร่ายขนาดเล็กที่ สามารถผลิแอสต ella zofinginus และ *Chlorococc* ได้ไม่ยากนัก จึง ต้องการศึกษาให้ สามารถใช้เพิ่ม ความเข้มของสีปล

วัตถุประสงค์

1. ศึกษา ห์ และอาหาร ผสมสาหร่าย *chlo*

2. ศึกษา *coccum* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

ยุวดี, (2549) รายงานว่า สภาพปกติสาหร่าย *Chlorococcum* sp. จะเป็นเซลล์เดียวแต่บางครั้งอาจจะเห็นเป็นกลุ่มโคโลนีเล็กๆประกอบด้วย 2-4 เซลล์ มีสารพวกเจลาตินหุ้มเซลล์ เซลล์จะมีลักษณะเป็นทรงกลม หรือป็นรูปไข่ ขนาดเซลล์ไม่คงที่ บางครั้งมีลักษณะเป็นฝ้าเมื่อเปียกชื้นหรือมีน้ำท่วมหรือแช่บริเวณผิวหน้า เมือกจะมีลักษณะบางและเห็นไม่เด่นชัด เซลล์เดี่ยวๆแต่ละเซลล์จะมีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ หรือบางชนิดจะอยู่ด้านข้างเซลล์ และถูกหุ้มด้วยไพรีนอยด์ โครงสร้างเซลล์เห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ แหล่งกำเนิดของไซโตพลาสซึม และนิวเคลียสจะถูกแบ่งในระหว่างที่ zoospores ถูกปล่อยออกจากแ spores และในระยะแรกจะมีอ ใหญ่ขึ้น เป็น vegetative cells ะพบเซลล์ในรูป aplanospore มา การพัฒนาเข้าสู่ vegetative cells

ภาพที่ 1 ลักษณะของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

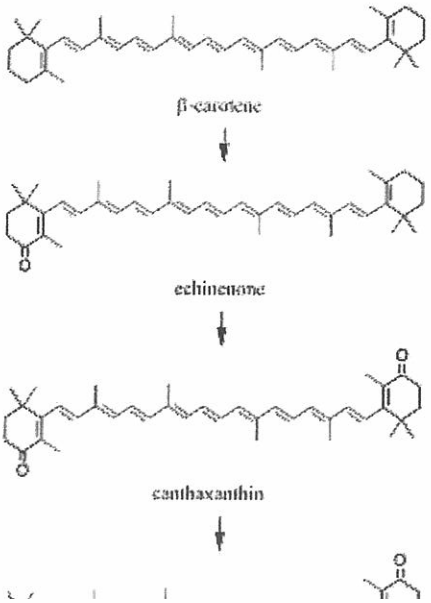
ที่มา : http://www.google.co.th/Morphology of microalga

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปแบบของแคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่าย

สาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorococcum sp.* สามารถสะสมแอสตาแซนทิน และแคโรทีนอยด์อื่นที่เป็น secondary carotenoids ที่ 5.2 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง โดยทำการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum sp.* ในอาหาร A9 เลี้ยงในถัง ทำการให้แสงตลอดที่ 200μmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ที่อุณหภูมิ30 ºC (Liu และ Lee 1999) แคโรทีนอยด์ที่สกัดแล้วนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค spectroscopic techniques และวิธี Thin-Layer Chromatography (TLC) ซึ่งผลที่ได้จากการวิเคราะห์จะพบว่าในสาหร่าย*Chlorococcum* sp. ที่มี canthaxanthin, 3'hydroxyechinenone, adonirubin และ adonixanthin และนอกจากนี้การทำการตรวจสอบโดยใช้เครื่อง high-performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสาหร่าย *Chlorococcum sp.* เป็นตัวหนึ่งที่เป็นแหล่งของ Ketocarotenoid เพื่อการค้า จากการตรวจซึ่งจะพบแอสตาแซนทิน (free และester) ,ado lutein และ cis-isomers บาง ลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* *eamatococcus pluvialis* ซึ่งมี เซนทิน (3,3' – dihydroxy -β , β จาก β– carotene เนื่ แรง แอสตาแซน ทินจึงถูกนำมาใช้ งานว่าสาหร่าย *Chlorococcum* s ละการแสดงตัว ของ canthaxa การสังเคราะห์ astaxanthin ใน *alis* และมีการ เกิดปฏิกิริยาที่สม xanthin จำนวน มากที่ถูกสังเคราะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 วัฏจักรส าน

canthax าหร่าย

Chloroc

ที่มา : Jian-Ping

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสะสม secondary carotenoids ในสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

Secondary carotenoids เช่น แอสตาแซนทิน และ cantaxanthin สามารถผลิตได้โดยสาหร่าย *Chlorococcum* sp. การสะสมของ secondary carotenoids ส่วนมากได้จากการเลี้ยงในสภาวะเครียด แสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการส่งเสริมการสร้างแคโรทีนอยด์และในการศึกษาส่วนมากจะใช้แสงร่วมกับการศึกษาปัจจัยอื่นเพื่อเพิ่มการสร้างสารสีต่างๆ ในส่วนของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Chlorococcum* sp. ก็มีการสะสมของ carotenoid เป็นจำนวนมากเมื่อเลี้ยงภายใต้การให้แสง Masojidek et al .,(2000) รายงานว่าแสงจะช่วยส่งเสริมกระบวนการสร้าง secondary carotenoids ที่ได้จากการเลี้ยงภายใต้การให้แสงที่มาก นอกจากนี้ Liu and Lee (2001) กล่าวว่าการเปลี่ยนรูปของ β-carotene ไปเป็นสารสีตัวอื่นจะต้องอาศัยออกซิเจน ซึ่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน β-carotene จะเปลี่ยนไปเป็น monohydroxylated (3′-

hydroxyechinen chinenone, 3′-
hydroxyechinen sp. มาเลี้ยงด้วย
อาหาร BG 11 ที่ การเลี้ยงนำมา
วิเคราะห์หาแคโรท esojidek et al.,
2000) Yin-Nin M sp. จะมีแอสตา
แซนทินในรูป free มีความสำคัญ
มากกว่า astaxar *rococcum* sp.
เพิ่มขึ้นจาก 3.664 in ทั้งหมด 80.8
เปอร์เซ็นต์) ในกา 22 μE/m^{2}s ซึ่ง
การเพิ่มขึ้นของ fr 0.1 mM มีผล
ต่อการส่งเสริมกา -astaxanthin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ช่วงเวลาที่ใช้ การดูดกลืนสูงสุด และการระบุชนิดของแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ใน เซลล์สาหร่าย*Chlorococcum* sp.

หมายเลข Peak	ช่วงเวลา (นาที)	การดูดกลืนสูงสุด (nm)	สารสี
1	6.0	480.0	*Trans*-astaxanthin
2	6.6	(459.2) 469.2	adonixanthin
3	7.2	445.1 474.0	lutein
4	14.1	479.4	canthaxanthin
5	15.7	377.8 469.2	*Cis*-canthaxanthin
6	18.1	464.4 652.3	Chlorophyll *b*
6′			l *b*′
7			ı esters
			ı esters
8			l *a*
9			ı esters
			in esters
10			ı esters
			in esters
11			in esters
			anthin esters
12			in esters
13			

ที่มา : Jian-Ping Yuan et al., (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ปลาทอง *Carassius auratus* เป็นปลาที่เป็นที่ได้รับความนิยมอย่างมาก และมีการพัฒนาให้เกิดชนิดใหม่ รูปร่างของลำตัว, รูปร่างหาง และขนาด สีของตัวปลาทองเองก็มีความสำคัญ และมีผลต่อราคาตลาด จากความต้องการของลูกค้าที่ต้องการสีส้ม-แดง เนื่องจากปลาสังเคราะห์เม็ดสีเองได้ จึงต้องได้รับจากอาหารซึ่งแคโรทีนอยด์ (แอสตาแซนทิน และแคนตาแซนทิน) ที่เป็นสารสีที่ใช้ในการเลี้ยงปลา ซึ่งปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีแอสตาแซนทินเป็นรงควัตถุพื้นฐานที่พบได้ในเนื้อสัตว์จำพวก salmonids ได้แก่ ปลาแซลมอนและปลาเทราท์ และสัตว์จำพวก crustaceans เช่นกุ้ง กั้ง และปูต่างๆ ซึ่งตามธรรมชาติแล้วสัตว์เหล่านี้จะได้รับรงควัตถุนี้จากอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัดทำให้สีของเนื้อสัตว์มีสีสันจืดจางไม่สวยและขายได้ในราคาต่ำ (Lorenz and Cysewski, 2000)ดังนั้นผู้เลี้ยงจึงนิยมใช้แอสตาแซทิน เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อที่จ คำแนะนำให้ใช้แอสตาแซนทิน 1 เป็นระยะเวลาประมาณ 2-4 เดือ กจะช่วยในการสร้างสีแล้วแอสต ดีและยังกระตุ้นให้ปลามีการเจริญ

การสะสมของแ

การสะส อาหารปลาทองด้วยแอสตาแซนทิ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของอาหา งลิกรัม/กิโลกรัมของอาหาร เมื่อทำ นในชั้น dermis ของผิวหนังปลา (่อสีปลากระแหเลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทิน 5 ระดับ คือ 25, 50, 100 และ200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้ครีบหางปลากระแหมีสีแดงเข้มมากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กับที่เลี้ยงเสริมด้วยแอสตาแซนทิน ที่ระดับ 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมจึงมีความเหมาะสมกับปลากระแหที่สุด อย่างไรก็ตามการเสริมแอสตาแซนทินในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตรารอดของปลากระแห (ดาราวรรณ และคณะ 2546)

การสะสมของแอสตาแซนทินในเลือดของปลา จากการทำการทดลองโดยให้อาหารปลาเรนโบว์เทร้าท์ด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทิน ได้แก่ ชุดที่ 1 อาหารผสมแอสตาแซนทินสังเคราะห์และผสมน้ำมันตับปลา ชุดที่ 2 อาหารผสมแออสตาแซนทินสังเคราะห์และผสมน้ำมันมะกอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดที่ 3 อาหารผสม *Haematococcus pluvialis* และผสมน้ำมันปลา และชุดที่ 4 อาหารผสม *Haematococcus pluvialis* และผสมน้ำมันมะกอก หลังจาก 6 สัปดาห์ พบว่าปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินสังเคราะห์และผสมน้ำมันมะกอกมีค่าการสะสมของแอสตาแซนทินในเลือดของปลาสูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกับค่าการสะสมแอสตาแซนทินในเลือดปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Haematococcus pluvialis* และผสมน้ำมันปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลาทอง (*Carassius auratus*) จำนวน 240 ตัว
2. ถังพลาสติกใสขนาด 50 ลิตร จำนวน 12 ใบ
3. อาหารเม็ดขนาดเล็กชนิดลอยน้ำ
4. สาหร่าย *Chlorococcum sp.* รหัส 8438
5. สารสกัดแอสตาแซนทินจากสาหร่าย *Haematococcus sp.* ชื่อทางการค้า NatuRose
6. เอทิลแอลกอฮอล์ 95%
7. อุปก sp.
8. ปุ๋ยสู

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนก ทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทด lorococcum *sp.* และแอสตาแ

ชุดการทด *um sp.* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร B

ชุดการทด *um sp.* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 Medium ที่ทำให้ปราศจากไนโตรเจน 30 กรัม / อาหาร 300 กรัม

ชุดการทดลองที่ 4 กลุ่มเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดผสมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ 50 มิลลิกรัม / อาหาร 1 กิโลกรัม

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมปลาที่ใช้ทดลอง

ปลาทองจำนวน 240 ตัว จากตลาดจตุจักร พักในถังขนาด 100 ลิตรเพื่อปรับสภาพปลาให้กินอาหารเม็ดขนาดเล็กชนิดลอยน้ำ วันละ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) ประมาณ 1 สัปดาห์ ก่อนการทดลองทำการชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสาหร่าย *Chlorococcum sp.*

การเตรียมอาหารเลี้ยงสาหร่าย สูตร BG-11 Medium จากสารต่างๆ นำสารเหล่านี้มาปรับปริมาตรในน้ำ 1 ลิตร ทำเป็น stock อาหารสาหร่าย จากนั้นนำมาใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และขวดน้ำเกลือ นำไปเข้าหม้อนึ่งความดันไอ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นใส่สาหร่าย *Chlorococcum sp.* ลงเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้สาหร่ายเริ่มต้น 1.68 x 10^5 เซลล์/ซีซี ทำการให้อากาศพร้อมทั้งให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 20 $\mu E/m^2s^{-1}$ ตลอด 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น 5 วัน นำมาใส่ในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร โดยเลี้ยงที่อาหาร ทำการเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 Medium 5 โหล และสูตร BG-11 Mediumซึ่งลดธาตุลงครึ่งหนึ่งและทำให้ขาดธาตุไนโตรเจนอีก 5 โหล (ไม่เติม $NaNo_3$) ประมาณ 10 วัน จึงเก็บสาหร่าย โหลที่เก็บสาหร่ายแล้เติมอาหารในแต่ละสูตรลงไป เติมน้ำปรับปริมาตรน้ำจนเป็น 10 ลิตร เท่าเดิม จาก ณหภูมิ 0 องศา เซลเซียส

3. การเ

อาหารเม *n sp.* เลี้ยงด้วย อาหารสูตร BG .จน ที่สกัดด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ นทินที่สกัดจาก สาหร่าย *Haemat* น 50 มิลลิกรัม/ อาหาร 1 กิโลกรัม จากนั้นนำมาผึ่ง ให้แห้ง และเก็บไว้

4. การดำ

นำปลาท ถังให้อาหารวัน ละ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) ทำการเปลี่ยน ถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 3 ครั้ง

การบันทึกข้อมูล

1. วัดการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวปลาก่อนการทดลอง จากนั้นชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวปลา ทุก 2 สัปดาห์ จนจบการทดลองระยะเวลา 4 สัปดาห์

2. ทำการวัดความเข้มสีบนตัวปลาบริเวณด้านข้างลำตัวด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300 ก่อนและหลังการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการเจริญเติบโต และการวัดความเข้มสีของปลาทอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 10.0

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการปลาสวยงาม ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาการทดลอง

มิถุนายน 2550-เมษายน 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของอาหารผสมสูตรต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของปลาทอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำหนักสุดท้ายของปลาทองเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการรอดตาย และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมอาหารสูตรต่างๆ กัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

หลังจาก 4 สัปดาห์น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยของปลาทองกับ5.03±0.44, 5.40±0.17, 5.15±0.11 และ 5.27±0.13 ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสูตรต่างๆ เท่ากับ 1.38±0.25, 1.67±0.32, 1.48±0.27 และ1.55±0.30 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเจ

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลาทองด้วยสูตรต่างๆ	ที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว)
ชุดควบคุม	.25[a]
สาหร่ายเลี้ยงปกติ	.32[a]
สาหร่ายเลี้ยงขาดN	.27[a]
ผสมแอสตาแซนทิน	.30[a]

* อักษรที่ไม่ต่างกัน >0.05)

อัตราร อร์เซ็นต์ และ
อัตราการเปลี่ยนอา บ 1.15±0.54 ,
1.02±0.35 ,1.05± ารทดลองของ
ดาราวรรณ และคณะ (2546) ทำการทดลองผสมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ในอาหารปลากระแหที่ระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทิน 0, 25, 50, 100 และ200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 10 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเติบโตและอัตรารอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตรารอดตายของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ
ชุดควบคุม	100	1.15±0.54[a]
สาหร่ายเลี้ยงปกติ	100	1.02±0.35[a]
สาหร่ายเลี้ยงขาด N	100	1.05±0.63[a]
ผสมแอสตาแซนทิน	100	1.09±0.59[a]

* อักษรที่ไม่ต่างกั P>0.05)

ค่าการเปลี่ยนแ

จากก เลี้ยงด้วย
อาหารที่ไม่ผสมส ารผสม
chlorococcum s นที่ความ
เข้มข้น 50 มิลลิกรั ลำตัวทั้งสอง
ข้าง ด้วยเครื่องวัด นทำการทดลอง
และตอนสุดท้ายข วามเข้มข้นของ
สีแดง และค่า b* ที่

1. ค่

ก่อนก ารวัดสีบริเวณ
ทั้งสองข้างของลำตัวปลา ค่าความเข้มสีแดงบนลำตัวของปลาทอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเริ่มทำการทดลองโดยให้อาหารเม็ดสูตรผสมต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการวัดค่าความเข้มสีแดงในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าค่าความเข้มสีแดงในชุดทดลองที่ให้อาหารผสมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าความเข้มของสีแดงที่ทำให้ปลาทองมีสีเข้มมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 22.45±1.00 และมีค่ามากกว่าชุดการทดลองควบคุม(11.51±0.85), ชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสาหร่าย *Chlorococcum sp.* ที่เลี้ยงในสภาวะปกติ (16.88±0.78) และที่เลี้ยงในสภาวะขาดไนโตรเจน (17.99±0.81) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ค่าความเข้มสีเหลืองบนลำตัว (b*) ของปลาทอง

ก่อนการทดลองนำปลาทองทำการวัดสีด้วยเครื่อง chromameter ทำการวัดสีบริเวณทั้งสองข้างของลำตัวปลา ค่าความเข้มสีเหลืองบนลำตัวของปลาทอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเริ่มทำการทดลองโดยให้อาหารเม็ดสูตรผสมต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการวัดค่าความเข้มสีเหลืองในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าค่าความเข้มสีเหลืองในชุดทดลองที่ให้อาหารผสมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าความเข้มของสีเหลืองที่ทำให้ปลาทองมีสีเข้มมากที่สุดมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 47.95±0.75 และมีค่ามากกว่าชุดการทดลองควบคุม(39.37±1.26), ชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสาหร่าย *Chlorococcum* ส ดไนโตรเจน (44.69±1.44) อย่

3. ค่

ผลข จ้ปดาห์สุดท้าย พบว่าที่ทุกชุดการ งสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4)

จากก ว่ยสาหร่าย *Chlorococcum s* ลทำให้สีของ ปลาทองมีสีที่เข้มขึ้ ทินที่ระดับ ความเข้มข้น 50 มิ างสถิติ (P>0.05) ซึ่งสอดค เอสตาแซนทิน สังเคราะห์ในอาหา /อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในระหว่างกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมแอสตาแซนทินกับกลุ่มที่ให้อาหารไม่ได้ผสมแอสตาแซนทิน และยังสอดคล้องกับการทดลองของใช้แอสตาแซนทินในปลากระแหด้วย (ดาราวรรณ และคณะ, 2546)

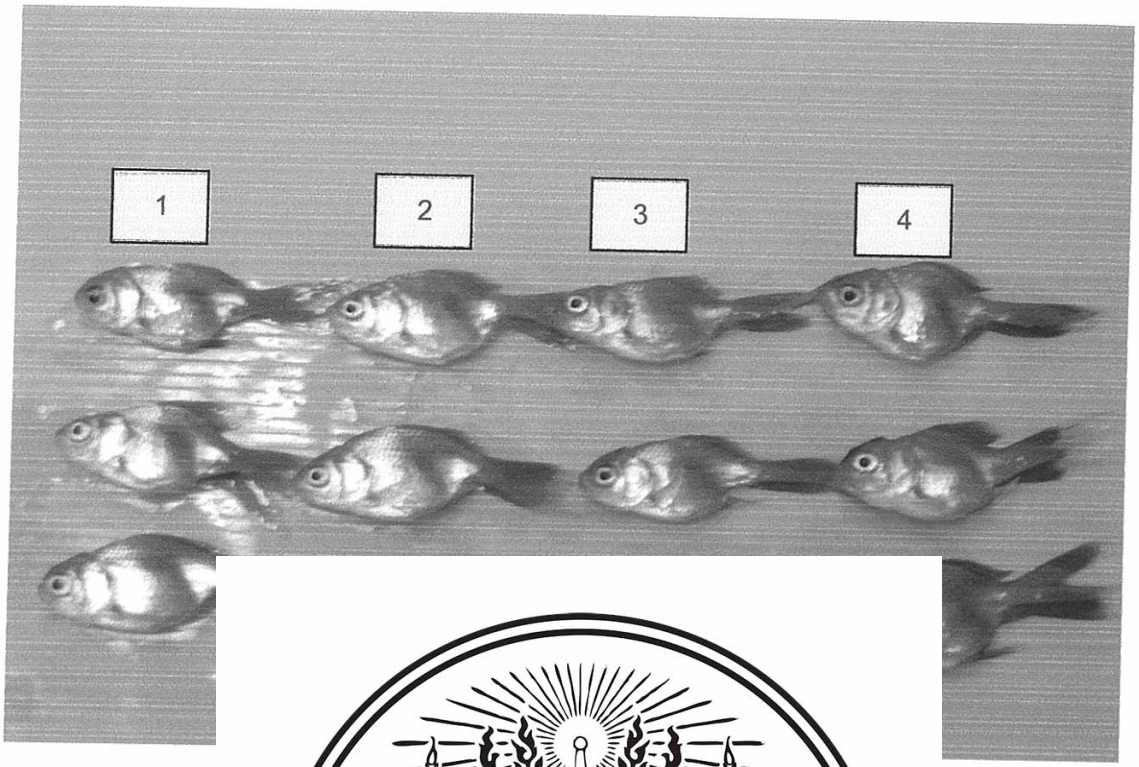
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ค่าการเปลี่ยนแปลงของสี (ค่า L คือ ค่าความสว่างของสี, ค่า a* คือ ค่าความเข้มของเฉดสีแดง และค่า b* คือ ค่าความเข้มของเฉดสีเหลือง) ของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ค่าที่อ่าน	กลุ่มทดลอง	ระดับสี	
		เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง
L	ควบคุม	68.89±1.24[a]	66.38±0.90[a]
	สาหร่ายเลี้ยงปกติ	66.66±1.17[a]	64.47±0.79[a]
	สา[illegible]	67.85±1.11[a]	63.94±0.90[a]
	ผ[illegible]		66.08±0.88[a]
a*	ค[illegible]		11.51±0.85[a]
	ส[illegible]		16.88±0.78[b]
	ส[illegible]		17.99±0.81[b]
	ผ[illegible]		22.45±1.00[c]
b*	ค[illegible]		39.37±1.26[a]
	ส[illegible]		43.00±2.09[ab]
	ส[illegible]		44.69±1.44[bc]
	ผ[illegible]		47.95±0.75[c]

* อักษรที่ไม่ต่างกัน[illegible] P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 สีปลาทอ
ในสภาวะปกติ (3)
ระยะเวลา 4 สัปดา

n sp. ที่เลี้ยง
าแซนทิน เป็น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สรุปผล

การใช้สาหร่าย *Chlorococcum sp.* และแอสตาแซนทินสังเคราะห์ผสมอาหารเม็ดเลี้ยงปลาไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ค่าการเปลี่ยนแปลงของสีในปลาทองมีความเข้มขึ้นเมื่อได้รับอาหารผสมสาหร่าย *Chlorococcum sp.* ที่เลี้ยงในสภาวะขาดไนโตรเจน และการให้อาหารผสมสาหร่าย *Chlorococcum sp.* ที่เลี้ยงในสภาวะปกติ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ปลาทองจะมีสีเข้มที่สุดเมื่อให้อาหารผสมแอสตาแซนททินสังเคราะห์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) กับอาหารผสมชนิดอื่นๆ อาหารเม็ดทั้งที่ผสมสาหร่าย *Chlorococcum sp.* และผสมแอสตาแซนทินสังเคราะห์มีความแตกต่างของสีที่เข้มขึ้นในปลาทอง เมื่อเปรียบเทียบกั มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ค่าสีเฉลี่ย ให้อาหารผสมสาหร่าย *Chloroc* ป็นอีกทางเลือกหนึ่งของอาหารเร่ง

1. ควรมีก มิคุ้มกันในสัตว์น้ำด้วยหรือไม่

2. ศึกษาร เมีความเหมาะสมกับการใ

99412

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เชียงใหม่. 546 น.

ดาราวรรณ ยุทธยงค์, จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ สนธิพันธ์ ผาสุกดี. 2546. ผลของแอสตาแซนทินในอาหารต่อสีปลากระแห. การสัมมนาวิชาการประมงประจำปี 2546, น. 45.

Choubert, G., M. M. Mendes-pinto, and R. Morais. 2006. Pigmenting effect of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* : Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. Aquaculture. 257: 429-436.

Liu, B.H. and Y.K. Lee. 1999. Composition and biosynthetic pathways of carotenoid in the asta Biotechnology Letters.

Liu, B.H. and Y. ll extracts of a green alg

Lorenz, R.T. ar aematococcus microalg 6.

Johnson, E.A., T an astaxanthin source ir

Masojidek, J., G. A. Lukavska and A. uenching and pigment under nitrogen deficienc

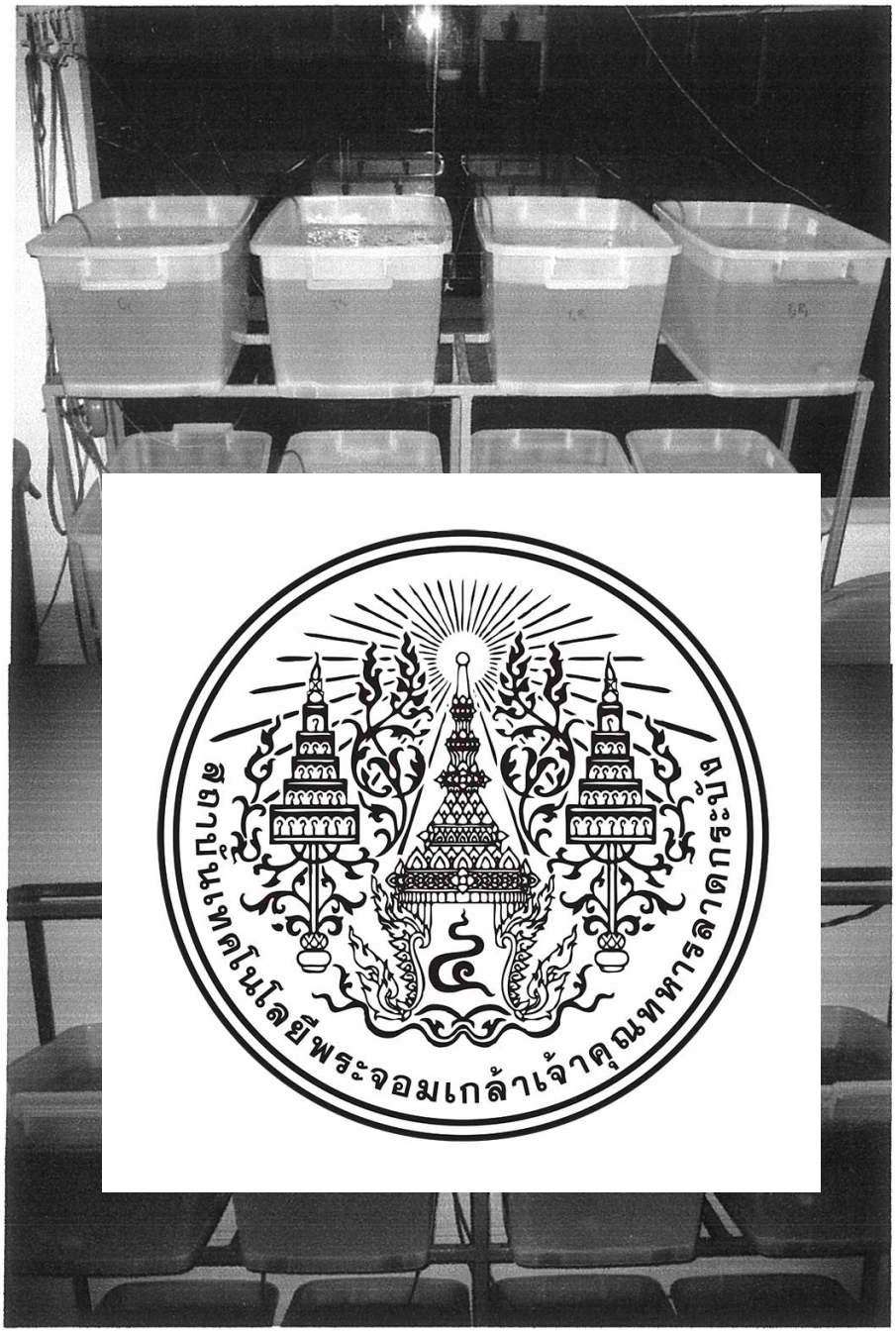
Ma, R. Y.-N., and F. Chen. 2001. Enhanced production of free *trans-astaxanthin* by oxidative stress in the culture of the green microalga *Chlorococcum sp.* Process Biochemistry. 36: 1175-1179.

Paripatananont, T. 1999. Effect of Astaxanthin on the Pigmentation of Goldfish Carassius auratus. The World Aquaculture Society. 30: 454-460.

Yuan, J.-P., F. Chen, X. Liu and X.-Z. Li. 2002. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum* . Food Chemistry. 76: 319-325.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก



ภาพภาคผนวกที่ 1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (CRD) มี 4 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวกที่ 2 เ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้