รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

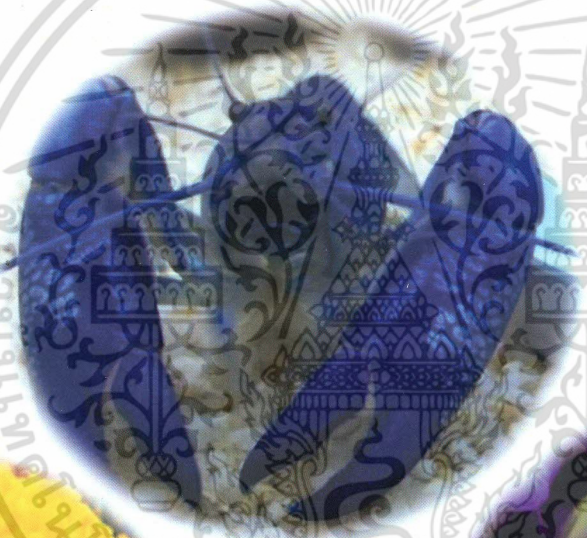
การใช้แคโรทีนอยด์และแอนโธไซยานินจากดอกไม้เร่งสีกุ้งเครฟิช

Application of flower's carotenoid and anthocyanin to enhance color in crayfish

ผศ.ดร. อัจฉรี เรืองเดช และ รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้หลักสูตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของ

12698003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การใช้แคโรทีนอยด์และแอนโธไซยานินจากดอกไม้เร่งสีกุ้งเครฟิช

Application of flower's carotenoid and anthocyanin to enchance color in crayfish

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2557

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 25,000 (สองหมื่นห้าพันบาทถ้วน)

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย 1 ปี (1 ตุลาคม 2556 - 30 กันยายน 2557)

ชื่อ-สกุล และพร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

ผศ.ดร. อัจฉรี เรืองเดช E-mail : Kruschar@kmitl.ac.th

รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ E-mail : Klnongnu@kmitl.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมงสาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทร. 0-2329-8517 โทรสาร 0-2329-8517

บทคัดย่อ

การศึกษา ผลของอาหารที่ผสมด้วยดอกอัญชันและดอกดาวเรืองต่อการเติบโตและการเพิ่มสีของกุ้งเครฟิช (*Cherax destructor*) โดยทำ 2 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 ใช้สารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชันปริมาณ 0,25,50 และ 100 กรัม/kg อาการ กลุ่มที่ 2 ใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองปริมาณ 0, 5, 10 และ 20g/kg อาหาร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำจะใช้กุ้งเครฟิช 8 ตัว ทำการเลี้ยงในถังพลาสติก ให้อาหารวันละ 2 มื้อ ทำการทดลอง 90 วัน จากการทดลองพบว่าสารสีในกุ้งของกลุ่มอาหารที่ผสมดอกอัญชันกลุ่มที่มีสารแอนโธไซยานินมากที่สุด คือ กลุ่มที่มีการผสมอาหารด้วยดอกอัญชันที่ 100g มีสารแอนโธไซยานินเท่ากับ 1.07±0.00 µg/g มีการให้สีที่เข้มกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ และสารสีในกุ้งของกลุ่มอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองกลุ่มที่มีสารแคโรทีนอยด์มากที่สุด คือ กลุ่มที่มีการผสมอาหารด้วยดอกดาวเรืองที่ 20 g มีสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 4.12±0.00 µg/g มีการให้สีที่เข้มกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ ในด้านน้ำหนัก ความยาว และอัตรารอดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกชุดการทดลอง จากการเปรียบเทียบโดยผลของการทดลองใน 2 กลุ่มการทดลองพบว่ากลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมด้วยดอกดาวเรืองที่ 20g/kg อาหาร จะให้สีของกุ้งเครฟิชชนิดนี้เข้มกว่าในกลุ่มการทดลองอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ResearcTitle: Application of flower's carotenoid and anthocyanin to enchance color in crayfish

Researcher : Assoc. Prof. UschareeRuangdej

Assist. Prof.NongnuchLaohavisuti

Faculty : Faculty of Agricultural Technology **Program**: Fisheries Science

Division : Animal Production Technology and Fisheries

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok

Abstract

Effects of feeding natural colorants from butterfly pea and marigold petal on crayfish were studied in two experiments. In the first experiment, crayfish were fed by four levels of anthocyanin, using crude water extract from butterfly pea 0, 25, 50 and 100 g/kg-feed. In the second experiment, ethanoic extracted from marigold flower of 0, 5, 10 and 20 g/kg in feed is used to evaluate effect of carotenoid. Both experiments were conducted for 90 days with 8 crayfish and 3 replications each. Crayfish were fed twice a day. The first experiment presented that the color of crayfish fed with butterfly pea 100 g/kg showed more blue color than the others while anthocyanin analysis from whole body was the highest 1.07 µg/g ($p < 0.05$). In the other experiment, crayfish in group of marigold 20 g/kg-feed had the highest deep blue color and body carotenoid content was 41.2 µg/g ($p < 0.05$). There was no significant difference on weight, length and survival rate when feeding crayfish with natural colorants ($p > 0.05$). The present results demonstrate that crayfish color could be stimulated by supplement with flowers colorant sources in diet. Our data indicates that the most appropriate dietary doses of butterfly pea and marigold for pigmentation of crayfish are 100 mg/g and 20 mg/g, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	III
สารบัญตาราง	IV
สารบัญภาพ	V
คำนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	13
สรุป	26
เอกสารอ้างอิง	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ	13
2	น้ำหนักเฉลี่ย และน้ำหนักเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ	14
3	ความยาวเฉลี่ย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ	15
4	ความยาวเฉลี่ย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ	15
5	อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ	17
6	อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ	17
7	ปริมาณสารแอนโธไซยานินผสมอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ความเข้มข้นต่างๆ	21
8	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ผสมอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้นต่างๆ	22
9	สารสีในกุ้งของอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรือง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กุ้งเดส (*Cherax destructor*) ที่ใช้ในการทดลอง	2
2	ชั้นเปลือกของสีที่ซับซ้อน (B) การแสดงออกของCRCNในเปลือกของกุ้ง (c)	3
3	ลักษณะกุ้งที่อยู่ในถังพื้นหลังสีขาว(a) และกุ้งที่อยู่ในถังพื้นหลังสีดำ(b)	5
4	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมด้วยดอกอัญชันและดอกดาวเรือง	14
5	ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรือง	16
6	อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	18
7	เปรียบเทียบสีกุ้งเครฟิชระหว่างการทดลองหลังจากที่ให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยให้อาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างกัน (control:อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ ผสมอัญชัน , B100:ผสมอัญชัน 100 กรัม , B50:ผสมอัญชัน 50 กรัม, B25:ผสมอัญชัน 25 กรัม)	19
8	เปรียบเทียบสีกุ้งเครฟิชระหว่างการทดลองหลังจากที่ให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์โดยให้อาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างกัน (control:อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ผสมดาวเรือง , M20:ผสมดาวเรือง 20 กรัม , M10:ผสมดาวเรือง 10 กรัม M5:ผสมดาวเรือง 5 กรัม	20
9	ปริมาณสารแอนโธไซยานินก่อนผสมและหลังผสมอาหารที่มีอยู่ในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	22
10	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ก่อนผสมและหลังผสมอาหารที่มีอยู่ในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ	23
11	ลักษณะของกุ้งเดสที่ใช้ในการทดลอง :ลักษณะการออกไข่ของแม่พันธ์กุ้งเดส (ภาพa,b) ลักษณะกุ้งเดสที่ทดลองในระยะเวลา 90 วัน (ภาพ c)	24
12	ลักษณะของพ่อแม่พันธุ์กุ้งเดส: พ่อพันธุ์กุ้งเดส(a) แม่พันธุ์กุ้งเดส(b)	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

การเลี้ยงกุ้งสวยงามได้รับความนิยมและความสนใจจากกลุ่มผู้เลี้ยงเป็นจำนวนมาก ซึ่งกุ้งสวยงามมีหลายชนิด เช่น กุ้งแคระ กุ้งเครฟิช กุ้งเชอรรี่ หนึ่งในจำนวนกุ้งที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบัน คือกุ้งเครฟิช กุ้งเครฟิชนั้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม *Procambarus clarkii* และกลุ่ม *Cherax* ซึ่งกลุ่ม *Cherax* นั้นมีกุ้งอยู่ในกลุ่มนี้หลายชนิด แต่ชนิดที่จะทำการศึกษา คือ *Cherax destructor* มีรูปร่างและมีสีสันสวยงาม ลำตัวมีลักษณะเป็นสีน้ำเงินจึงเป็นจุดที่ดึงดูดความสนใจจากกลุ่มผู้ที่นิยมเลี้ยงได้เป็นอย่างมาก และพบว่าผู้ที่เลี้ยงส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงกุ้งที่มีสีเข้มสดมากกว่ากุ้งที่มีสีซีด ผู้เพาะเลี้ยงจึงได้หาวิธีการที่จะทำให้กุ้งมีสีเข้มสด ซึ่งทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการแก้ปัญหากุ้งสีซีด คือ การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่มีการผสมสารเร่งสี โดยสารสีที่นำมาผสมอาหารให้กุ้งกินควรเป็นสารสีที่ได้จากธรรมชาติ เพราะจะทำให้ต้นทุนในการผลิตต่ำมากกว่าสารสีที่นำเข้ามาจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง จึงได้หาพืชที่มีราคาถูกที่เป็นแหล่งสารสีตามธรรมชาติและหาได้ง่ายมาใช้ในการทดลองนี้ คือ ดอกอัญชันที่มีปริมาณแอนโธไซยานินและดอกดาวเรืองที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าการใช้สารสีที่นำเข้าจากต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1.1 ศึกษาผลของอาหารที่ผสมสารสกัดจากดอกอัญชันและดอกดาวเรืองต่อการเติบโตของกุ้งเครฟิช *(Cherax destructor)*

1.2 ศึกษาผลของอาหารที่ผสมสารสกัดดอกอัญชันและดอกดาวเรืองต่อการเพิ่มสีของกุ้งเครฟิช *(Cherax destructor)*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะกุ้งเดส (Destructor)

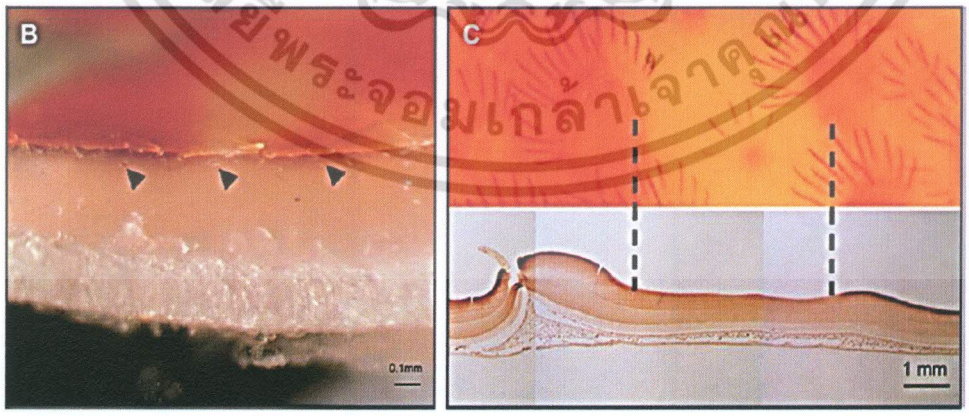
Austin et al.(1997) กล่าวไว้ว่ากุ้งเดสมีถิ่นกำเนิดมาจากแถบออสเตรเลียซึ่งบริเวณนี้มีสัตว์น้ำจืดที่มีความหลายหลายและมีกุ้งน้ำจืดที่อาศัยอยู่ 3 ชนิด คือ *Cherax erichson*, *Cherax destructor clark* และ *Cherax renuimanus* ซึ่งเพาะเลี้ยงเพื่อการพาณิชย์และเพื่อการทดลอง และยังเป็นอุตสาหกรรมขนาดเล็กที่จัดตั้งขึ้นเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบริเวณนี้ ในแถบตะวันตกและตะวันออกของออสเตรเลียเรามักจะพบกุ้งสายพันธุ์ *C. destructor clark* (ภาพที่ 1) และ *C. renuimanus* และเมื่อเร็วๆนี้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงยังได้ผลิต *C. quadricarinatus*, *Cherax erichson* และ *Cherax destructor clark* เพิ่มขึ้นและมีการส่งออกไปต่างประเทศจำนวนมากเพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์และการทดลอง การวิจัย โดยมุ่งเน้นทางด้านโภชนาการและความต้องการอาหารของกุ้งสายพันธุ์นี้ กุ้งชนิดนี้จัดอยู่ใน Phylum Artropoda ชั้น Malacostraca อันดับ Decapoda วงศ์ Astacoidea (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 กุ้งเดส (*Cherax destructor*) ที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สีภายในเปลือกกุ้ง

Wade et al.(2009) กล่าวว่าสีเปลือกของสัตว์มีหลายรงควัตถุและสามารถปรากฏเป็น carotenoids ได้ซึ่งส่วนใหญ่จะได้รับมาจากการสะสมอาหารของกุ้ง หรือมีความสัมพันธ์ทางชีวภาพกับการสังเคราะห์ปฏิกิริยาทางโมเลกุล ซึ่งมีโปรตีนที่สร้างสารประกอบ carotenoprotein อยู่ภายในเปลือกของกุ้งเครฟิช จากการศึกษาโปรตีนชนิดนี้พบว่ามี multimeric-crustacyanin (a-CRCN) โมเลกุลขนาดใหญ่ที่ซับซ้อนประกอบด้วย octomer จาก dimeric B-crustacyanin subunits (b-CRCN) เป็น dimer ที่เกิดขึ้นจากทั้งสองประเภทของ crustacyanin subunits (CRCN) ซึ่งโมเลกุลทั้งสองของ astaxanthin ประกอบด้วยสารเชิงซ้อนของ CRCN ในการศึกษาเราได้คัดเลือกช่วงของสัตว์จากหลากหลาย phyla สำหรับการปรากฏตัวของ CRCN โดยใช้วิธีทางชีวเคมีโมเลกุล การศึกษาลำดับยีนใน CRCN carotenoids ที่ใช้กันทั่วไปในสัตว์หลายเซลล์เพื่อใช้ในการผลิตสีของกุ้งจะขึ้นอยู่กับชนิดของโปรตีนที่เฉพาะเจาะจง ในตัวอย่างเช่น crustacyanin (CRCN) และ carotenoid astaxanthin ในการทดลองจะใช้เปลือกสีของกุ้งมังกร *Panulirus cygnus* ทำงานร่วมกันทางชีวเคมีผ่านการสำรวจทางพันธุกรรม และศึกษาการกระจายตัวของโมเลกุล CRCN แสดงให้เห็นความแตกต่างของ CRCN ในเปลือกสีของกุ้ง การแสดงออกของ CRCN ในกุ้ง *Panulirus cygnus* ของ การตรวจสอบการกระจายของโปรตีนภายในเยื่อบุผิว CRCN และในชั้นเปลือกที่แตกต่าง epicuticle, exocuticle และ endocuticle immunostaining CRCN ข้อมูลเหล่านี้บ่งบอกถึงสีเปลือกและรูปแบบที่เกี่ยวข้องมีความสัมพันธ์กับการสะสมของ CRCN (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ชั้นเปลือกของสีที่ซับซ้อน (B) การแสดงออกของ CRCN ในเปลือกของกุ้ง (c)

ที่มา: Wade et al. (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

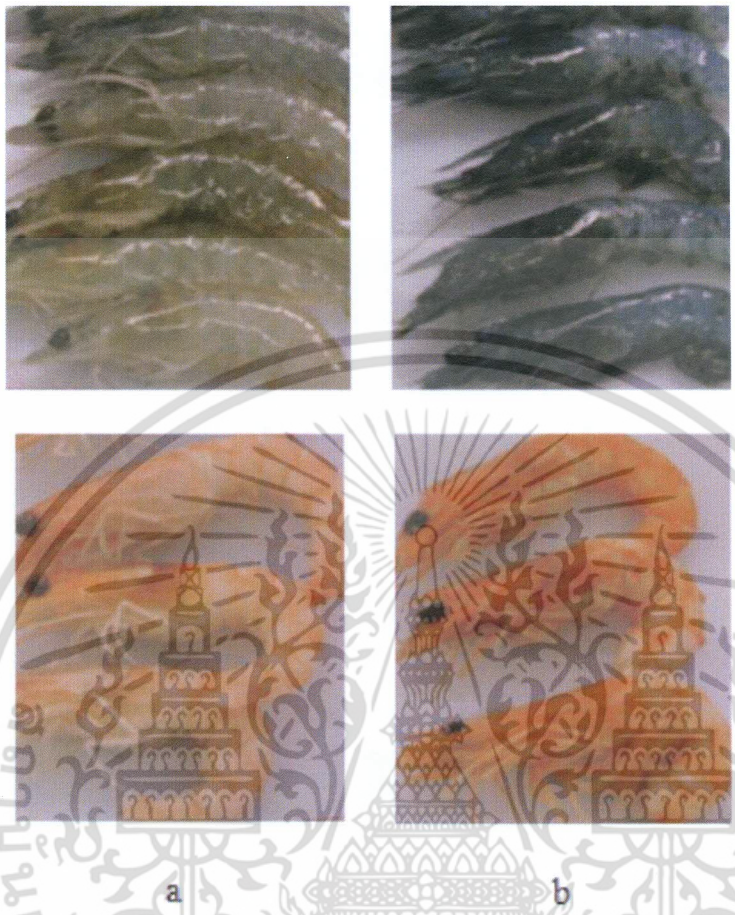
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อสีของกุ้งเดส

Parisenti et.al.(2011) ได้ศึกษาถึงลักษณะที่สำคัญของสีในกุ้งเครฟิช โดยพบว่าลักษณะกุ้งเครฟิชที่มีสีเข้มจะเป็นที่ยอมรับของตลาด และพบว่าลักษณะของสีที่ได้มีแหล่งที่มาจากสารสีในแคโรทีนอยด์และแอสตาแซนทิน สารสีแคโรทีนอยด์ที่ได้มาจากการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในอาหารและสภาพแวดล้อมที่กุ้งอาศัยอยู่ ซึ่งอาหารที่มีแคโรทีนอยด์ผสมอยู่จะช่วยทำให้สีของกุ้งเครฟิชเข้มขึ้นและแคโรทีนอยด์ยังเป็นแหล่งรวมวิตามินที่ช่วยเพิ่มอัตราการรอด เพิ่มน้ำหนักและช่วยเพิ่มความต้านทานต่อไวรัสในโรคจุดขาวอีกด้วย ทั้งนี้สีที่ได้ก็ขึ้นอยู่กับปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้รับ แต่การได้รับสารสีจากแคโรทีนอยด์ที่มีการเสริมในอาหารมีค่าใช้จ่ายที่สูง จึงได้หาแนวทางแก้ไขโดยใช้สภาพแวดล้อมเพื่อมาช่วยทำให้สีของกุ้งมีมีเข้มขึ้น

2.3.1 สภาพแวดล้อม

Parisenti et.al.(2011) ได้ทำการทดลองจากสภาพแวดล้อมที่กุ้งอาศัยอยู่โดยนำกุ้ง *Litopenaeus vannamei* มาชั่งน้ำหนัก 8 ± 1.2 กรัม และนำกุ้ง 500 ตัวเก็บไว้ในถังสองถัง (สีดำและสีขาว) สุ่มกุ้งมา 30 ตัวจากถังสีขาวแต่ละถังและวางไว้ในถังสีดำ และถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 ±2 ° C และวัดวันละสองครั้ง กุ้งจะถูกเก็บไว้ในถังที่มีความเหมาะสมในระบบกลางวัน (12 ชั่วโมงในความมืด) และนำกุ้งมาทดลองสูตรอาหารสามครั้งต่อวันโดยเติม carotenoid ในอาหาร 3 ppm วิเคราะห์ได้โดยการมองเห็นใน Spectrophotometer หลังจาก 30 วันนำกุ้ง 10 ตัว ออกจากถังและวางลงในถังที่มีน้ำและน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาทีจนตายและเอาออกไปเก็บไว้ในน้ำแข็งสำหรับการวิเคราะห์ การวิเคราะห์ใช้ตัวอย่างกุ้ง 10 ตัวต่อถังเป็นสองตัวอย่างจากถังสีดำและตัวอย่างสำหรับถังสีขาว สีกุ้งคือสีก่อนสุกและหลังการทำให้สุก เพื่อประเมินผลที่เหมาะสม โดยใช้ colorimeter และวัดค่าจากสามส่วนในร่างกายของกุ้ง (หัว ,กลาง,หาง) และเกิดสีในระบบเป็น L* (ความสว่าง) ,a * (สีแดง), b *(สีเหลือง) ที่ 25 ± 1 ° C การวัดสีในกุ้งดิบและกุ้งสุกดูจากโครงสร้างกล้ามเนื้อและเปลือกภายนอก เพื่อที่จะตรวจสอบสีของกุ้ง (เมื่ออยู่ในธรรมชาติ) และ(เมื่อสุก) และทำการสกัด carotenoids การเปลี่ยนกล้ามเนื้อของกุ้งสุกและ cephalothorax carotenoid ที่ได้มีความเข้มข้นโดยวัดจากspectrophotometrically ที่ 470 นาโนเมตรและนำมาคำนวณตามสมการ($y = 0.1847x$; $R^2 = 0.9951$) การวิเคราะห์ astaxanthin โดยใช้ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน การทดสอบโดยใช้ one tailed t- test ถูกนำมาใช้สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ผลที่ได้พบว่ากุ้งที่อยู่ในถังที่มีพื้นหลังสีดำจะมีสีน้ำเงิน แต่กุ้งที่อยู่ในถังที่มีพื้นหลังสีขาวจะมีสีเทา (ภาพที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ลักษณะกุ้งที่อยู่ในถังพื้นหลังสีขาว (a) และกุ้งที่อยู่ในถังพื้นหลังสีดำ (b)
ที่มา: Parisenti et al. (2011)

2.3.2 อาหาร

Wade et al.(2008) กล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงสีในครัสเตเซียเกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงใน chromatophores หรือโดยการเปลี่ยนแปลงสีใน exoskeletal นอกเหนือจากชนิดและปริมาณของการกิน carotenoid สิ่งแวดล้อมก็เป็นปัจจัยเช่นสีของพื้นผิวพื้นหลัง ความเข้มแสงของไฟ และอุณหภูมิยังสามารถเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาของสีในครัสเตเซียได้ การศึกษานี้ได้นำกุ้งมังกร *Panulirus cygnus* ขนาดความยาวกระดอง 65-85 มิลลิเมตรที่อาศัยอยู่ในแนวปะการังใกล้ฝั่งและในช่วง 3-4 สัปดาห์จะมีการลอกคราบสูง โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีชมพูอ่อน โดยในวัยอ่อนและวัยโตจะเรียกว่า 'Prewhites' และระยะวัยอ่อนที่อพยพย้ายถิ่นเป็นสีชมพูเรียกว่า 'white' เมื่อถึงน้ำลึกกุ้งมังกรสีขาวจะค่อยๆ กลับเป็นปกติและเติบโตพร้อมที่จะสืบพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงสีนี้มีความคิดเห็นว่าอาจเกิดจาก carotenoids การเปลี่ยนแปลงมีการปรับตัวจากสีตั้งต้น การถูกกระตุ้นในสีของเปลือก ปัจจัยจากสภาพแวดล้อม เช่นปริมาณ carotenoid ในอาหาร สีพื้นหลังพื้นผิว ความเข้มแสงของความยาวคลื่นแสงที่ตกกระทบกับแสง ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษานี้เขาได้วัดผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่มีปัจจัยสองตัวแปรคืออาหารและสีพื้นหลังสีเปลือกในช่วง Prewhite และ white phase เพื่อดูระยะลอกคราบโดยใช้ระบบของโน้ตสี L * a * b * ระบบนี้จะวัดสีของตัวอย่างเกี่ยวกับขนาดของค่าสีและความเข้มของสี ค่าของสี (L *แทนด้วยความสว่าง) 0 (สีดำ) 100 (สีขาว) สีมีสององค์ประกอบที่แยกความแตกต่างสีที่ตรงข้ามกัน คือ a * ซึ่งหมายถึงสีแดงสีเขียวและ b * ซึ่งหมายถึงระดับสีน้ำเงินสีเหลือง การลอกคราบจะแสดงปริมาณของเฉดสี, a*บวกจะเป็นสีแดง, a* ลบจะเป็นสีเขียวและ b*บวกจะเป็นสีเหลือง b*ลบจะเป็นสีฟ้า เทคโนโลยีนี้ได้ถูกดัดแปลงนำมาใช้ในการประเมินการเปลี่ยนแปลงสีในกุ้งมังกรเพื่อตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงด้านสิ่งแวดล้อม ผลคือสภาพแวดล้อมมีความเกี่ยวข้องในการปรับเปลี่ยนสีเปลือกกุ้ง ปัจจัยอื่นๆทางด้านสิ่งแวดล้อมทำให้สัตว์เหล่านี้อยู่ภายใต้สภาวะควบคุมของ แสง สว่าง อุณหภูมิ และอาหารข้อมูลนี้มีความเด่นชัดว่าสภาพแวดล้อมจะถูกเหนี่ยวนำโดยการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลในการตอบสนองทางสรีรวิทยาของการเปลี่ยนแปลงด้านสิ่งแวดล้อม

2.4 แหล่งสารสีจากธรรมชาติ

2.4.1 แอนโธไซยานิน

Lazze et al. (2004) กล่าวไว้ว่าแอนโธไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร โมเลกุลของ แอนโธไซยานิน (anthocyanins) จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) แอนโทไซยานิน เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีตั้งแต่สีแดงถึงน้ำเงินเข้ม ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโธไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโธไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโธไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

2.4.1.1 การคงตัวของสารแอนโธไซยานิน

Hiemori et al. (2009) ได้ศึกษาองค์ประกอบและความเสถียรทางความร้อนของแอนโทไซยานินใน black rice แอนโธไซยานิน 6 ชนิดถูกนำมาวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC-PDA และ LC-(ESI) MS/MS พบว่า แอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ cyanidin-3-glucoside (572.47 ไมโครกรัมต่อกรัม คิดเป็น 91.13% ของปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด) และ peonidin-3-glucoside (29.78 ไมโครกรัมต่อกรัม คิดเป็น 4.74 % ของปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด) รองลงมาคือ cyaniding-dihexoside isomer 3 ไอโซเมอร์ และ hexoside อีก 1 ชนิด นอกจากนี้ความเสถียรทางความร้อนของแอนโธไซยานินที่ประเมินจากการหุงข้าวและความดันที่ใช้ พบว่าวิธีการทั้งหมดของกระบวนการหุงข้าว black rice เป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของแอนโธไซยานินลดลง โดยความดันที่ใช้ในการหุงข้าวเป็นสาเหตุสำคัญสุดที่ทำให้ปริมาณของ cyanidin-3-glucoside

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดลง ในขณะเดียวกันปริมาณของ protocatechuic acid มีการเพิ่มขึ้นอีก 2.7-3.4 เท่า ในทุกวิธีการของกระบวนการหุงข้าว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการหุงข้าว black rice เป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวทางความร้อนของ cyanidin-3-glucoside และการเกิดของ protocatechuic acid ขึ้นพร้อมกัน Mori et al. (2007) ได้ศึกษาการสูญเสียแอนโธไซยานินในองุ่นแดงที่อุณหภูมิสูง คือ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส (control) พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะมี 3- monoglucoside, 3-acetylglucoside และ 3- p-coumaroylglucoside ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ delphinidins, cyanidins, petunidins, peonidins และ malvidins อยู่ในปริมาณมาก แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียส พบว่าแอนโธไซยานินแต่ละชนิดมีปริมาณลดลง ยกเว้นอนุพันธ์ของ malvidins ได้แก่ 3 glucoside, 3-acetylglucoside และ 3-pcoumaroylglucoside อาจเป็นเพราะว่ายีนที่ได้จากชีวสังเคราะห์นั้นไม่สามารถต้านการสลายตัวได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สีและความเสถียรของแอนโธไซยานินที่สกัดจากมะเขือเทศม่วงและแดงสด พบว่า pH และอุณหภูมิมีผลต่อความเสถียรน้อยกว่าความเข้มข้นของแครอทสีม่วงและองุ่น เยื่อราสเบอรีจากธรรมชาติและผ่านการพาสเจอไรซ์จะไม่ไวต่อการเปลี่ยนสีของแอนโธไซยานินระหว่างกระบวนการผลิตและบรรจุกระป๋อง แต่สีจะจางไปภายหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 วัน ทั้งนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อการเปลี่ยนสีของแอนโทไซนิน เนื่องจากสัดส่วนของ cyanidin และ pelargonidin 3-glycoside ในน้ำผลไม้ราสเบอรีแดงเข้มข้นและภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน พบว่า แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนสี ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

2.4.1.2 แหล่งของสารแอนโธไซยานิน

อัญชัน (Butterflypea) เป็นพืชในตระกูล Leguminosae และตระกูลย่อย Papilionoideae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Clitoria ternatea* Linn. มีชื่อสามัญเรียกกันหลายชนิด คือ Butterfly Pea และ Blue Pea มีชื่อไทยพื้นเมือง เรียกว่า อัญชัน (กลาง) แดงชัน และเอื้องชัน (เหนือ) ดอกอัญชันมีลักษณะทั่วไป คือ เป็นไม้เถาเลื้อย (grasper) ใช้ยอดพันแบบ twiner มีถิ่นเดิมอยู่ในปานามา อินเดีย และหมู่เกาะโมกุลละ เป็นพืชที่โตเร็ว ขึ้นง่าย ขึ้นได้ดีในดินร่วนลักษณะของดอกมีสีขาว ฟ้า และม่วง ดอกเดี่ยวหรือออกเป็นคู่ตามซอกใบ รูปดอกถั่ว มีทั้งดอกชั้นเดียวและดอกซ้อน กลีบดอก 5 กลีบ ดอกชั้นเดียวกลีบชั้นนอกมีขนาดใหญ่กลางกลีบสีเหลือง ส่วนกลีบชั้นในขนาดเล็ก แต่ดอกซ้อนกลีบดอกมีขนาดเท่ากัน ซ้อนเวียนเป็นเกลียว ดอกบานเต็มที่กว้าง 2-2.5 ซม. ออกดอกได้ตลอดทั้งปี พบขึ้นกระจายอยู่ทั่วไปในหลายพื้นที่ มีสภาพที่แตกต่างกัน ทั้งในดินร่วนปนทราย ดินเหนียว และดินทราย (เกียรติศักดิ์ , 2535) สีน้ำเงินจากดอกอัญชันจัดเป็นสารกลุ่มแอนโธไซยานิน (anthocyanins) ประกอบด้วยส่วนของอะกลัยโคน เรียกว่า เดลฟินิดิน และส่วนของน้ำตาลที่เป็น D-glucose ผลของการต่อของน้ำตาล ที่ตำแหน่ง –OH ต่างๆ กันของเดลฟินิดินและผลจากการเติม side chain เช่น malonyl group และ 25 p-coumaryl group ส่งผลให้สารแอนโธไซยานินในสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากดอกอัญชันมีความหลากหลาย นักวิจัย ชาวญี่ปุ่นได้แยกสารเคมี ออกจากดอกอัญชัน พบว่าสารเคมีที่พบในดอกอ่อนจะมีความหลากหลาย มากกว่าดอกแก่ สารเคมีที่รายงานว่าพบในดอกอัญชัน ได้แก่ ternatins (A3, B2, B4, C1, C5, D2, D3) และ preternatins (A4, C4) ด้วยเหตุที่สารเคมีจากดอกอัญชันมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบอยู่หลายโมเลกุลทำให้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี และสีจากดอกอัญชันเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงจะขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างอิออนของสารที่ปรากฏอยู่ในสารละลาย (จุไรทิพย์, 2545) Terahara et.al.(1998) ศึกษาแอนโธไซยานินในดอกอัญชัน ซึ่งพบ ternatins ใหม่อีก 5 ชนิดที่แยกได้จากดอกอัญชันโดยดูโครงสร้างซึ่งตรวจวิเคราะห์ทางเคมีใช้วิธี spectroscopic พบว่า delphinidin 3-malonyl G ที่เป็น 3'-GCG-5'-GCG, 3'-GCG-5'-GC, 3'-GCGCG-5'-GC, 3'-GCGC-5'-GCG และ 3'-GCGC-5'-GC ซึ่ง G เป็น D-glucose และ C เป็น p-coumaric acid และพบ ternatins ใหม่อีก 8 ชนิดที่แยกได้จากดอกอัญชันโดยใช้วิธี UV-vis และ FABMS พบว่า delphinidin 3-malonyl G ที่มีโครงสร้างเป็น 3'-GCGC-5'-G, 3'-GCGCG-5'-G, 3'-GC-5'-G, 3'-GCG-5'-G, 3'-G-5'-G และ 3'-GC-5'-GC และ delphinidin-3-glucoside ซึ่งมี 3'-GCG-5'-GCG, 3'-GCG-5'-G โดยที่ G เป็น D-glucose และ C เป็น p-coumaric acid

2.4.2 แคโรทีนอยด์

การทดลองการใช้สารสีในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน , แคนทาแซนทิน ,ซีแซนทิน และแอสตาแซนทินที่ได้จากมาจากแหล่งธรรมชาติ (ยีสต์, แบคทีเรีย, พืช และพวกครัสเตเชียน) มาผสมในอาหารเพื่อใช้ในการเร่งสีผิวของปลาและพวกครัสเตเชียน (Wang et al., 2006) แต่สารสีในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ใช้ในปลาสวยงามมีราคาแพงจึงได้มีการศึกษาค้นคว้าสารสีแหล่งอื่นๆนำมาใช้ทดแทน พบได้ทั่วไปในพืช ผัก ผลไม้และดอกไม้ เช่น พริกแดง (Red pepper) และ ดอกดาวเรือง (Marigold flower) (Buyukapar et al., 2005) ดอกดาวเรืองเป็นพืชดอกที่พบได้ใน ทั่วไปหาซื้อได้ง่ายและมีจำนวนมาก (Ezhill et al., 2008) โดยทั่วไปดอกดาวเรืองมีหลากหลายสี เช่น ขาวนวล, เหลือง, เหลืองอ่อน, เหลืองทอง และ สีส้ม (ภาพที่ 7)โดยส่วนที่จะนำมาใช้คือส่วนของกลีบดอก เนื่องจากบริเวณส่วนของกลีบดอกมีสารสีที่ชื่อว่า แคโรทีนอยด์เป็นจำนวนมาก ซึ่งแคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มของสารสีที่พบในพืช ให้สีเหลือง , ส้ม และส้มแดง จึงได้มีการนำสารแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองมาใช้ในการเร่งสีปลา ซึ่งจะทำให้ต้นทุนการผลิตปลาลดลง (Lewis et al., 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วางแผนการทดลอง

การทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ตามแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยทดสอบจากชนิดของพืช 2 ชนิด คือ กลุ่มที่ 1 ใช้สารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชันในการผสมอาหารกุ้ง กลุ่มที่ 2 ใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองในการผสมอาหารกุ้ง โดยมีปัจจัยคือระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกอัญชัน 3 ระดับ และระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกดาวเรือง 3 ระดับ ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารกุ้งที่เป็นกลุ่มควบคุม

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน25g/อาหาร1 kg

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน 50g/อาหาร1 kg

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน 100g/อาหาร1 kg

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง 5g/อาหาร1 kg

ชุดการทดลองที่ 6 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง 10g/อาหาร1 kg

ชุดการทดลองที่ 7 อาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง 20g/อาหาร1 kg

ทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 8 ตัว

3.2 การเตรียมสัตว์และพืชทดลอง

3.2.1 ลูกกุ้งเครฟิช *(Cherax destructor)* น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.47 กรัม ความยาวเฉลี่ยประมาณ 2.5 เซนติเมตร จำนวน 168 ตัว จาก จ.ชลบุรี

3.2.2 ดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* Linn) กลีบดอกสีเหลือง ซื้อจากตลาดไทย จ.ปทุมธานี

3.2.3 ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การทำอาหาร

1. การเตรียมผงจากดอกอัญชัน นำดอกอัญชันมาล้างน้ำให้สะอาด แล้วนำไปอบอุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อแห้งแล้วนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น ชั่งผงอัญชัน 7.5 g 15 g และ 30 g ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 g:20ml นำไปต้มให้เดือด กรองเอาส่วนน้ำ 180 ml ผสมกับอาหารกุ้งเบอร์ 0 ปริมาณ 300 g คลุกให้เข้ากัน นำเข้าเครื่องอัดอาหารอัตโนมัติหั่นอาหารเป็นท่อนๆให้มีขนาดพอเหมาะกับที่ต้องการ อบที่ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บใส่บรรจุภัณฑ์ในถุงพลาสติกแบบไล่อากาศ ทึบแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมผงจากดอกดาวเรือง นำดอกดาวเรืองมาล้างให้สะอาด แล้วนำกลีบดอกมาทำให้มีขนาดเล็กด้วยกรรไกร จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 วัน เมื่อแห้งแล้วนำมาบดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 mm ทำให้ได้ผงดอกดาวเรือง ชั่งผงดาวเรือง 5 g 10 g และ 20 g นำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% ในอัตราส่วน 1 g:10 ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ป้องกันไม่ให้ถูกแสง ทำการกรองเอาส่วนน้ำนำไปผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 180 ml ผสมกับอาหารกุ้งเบอร์ 0 ขนาด 300 g คลุกให้เข้ากัน นำเข้าเครื่องอัดอาหารอัตโนมัติหั่นอาหารเป็นท่อนๆให้มีขนาดพอเหมาะกับที่ต้องการ อบที่ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บใส่บรรจุภัณฑ์ในถุงพลาสติกแบบไล่อากาศ

3.3.2 การเตรียมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง

1. นำดอกดาวเรืองมาล้างให้สะอาด แล้วนำกลีบดอกมาทำให้มีขนาดเล็กด้วยกรรไกร จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 วัน เมื่อแห้งแล้วนำมาบด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 mm ทำให้ได้ผงดอกดาวเรือง จากนั้นนำผงดอกดาวเรืองเก็บใส่บรรจุภัณฑ์ในถุงพลาสติกแบบไล่อากาศ สกัดหาสารแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองเพื่อตรวจหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์รวม (total carotenoid content) ก่อนทำการทดลอง

2. การหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์รวม โดยชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัมใส่ลงใน Eppendorf เติมสารสกัด 1 ml ที่เตรียมจาก Petrolieum ether, Acetone และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 45:225:30 และเติม Butylated hydroxytoluene (BHT) 0.01 ml โดยเตรียมจาก Butylated hydroxytoluene (BHT) 0.05 g ละลายใน Ethanol 70% 10 ml แล้วคนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ด้วย vortex แยกส่วนใสด้านบนใส่หลอด ป้องกันไม่ให้ถูกแสงทำการสกัดจนสารละลายไม่มีสี บันทึกปริมาณสารสกัดที่ใช้ แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนที่กรองได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 442 นาโนเมตร และใช้คิวเวตแก้วในการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ Petrolieum ether เป็นแบลงค์ (blank) และคำนวณปริมาณสารแคโรทีนอยด์รวมจากสมการ Total Carotenoid Content (µg/g) =A*ปริมาตร (ml.) *10^4/ A_{cm} * น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) A = Absorbance (nm.) ปริมาตร = ปริมาตรรวมของสารที่ใช้สกัด A_{cm}= Absorbtion Coefficient Of Beta-Carotenoid ใน Petrolieum ether = 2592

3.3.3 การเตรียมสารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน

1. นำดอกอัญชันมาล้างให้สะอาด แล้วดอกมาทำให้มีขนาดเล็กด้วยกรรไกร จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 วัน เมื่อแห้งแล้วนำมาบด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ทำให้ได้ผงดอกอัญชัน จากนั้นนำผงดอกอัญชันเก็บใส่บรรจุภัณฑ์ในถุงพลาสติกแบบไล่อากาศ สกัดหาสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนโธไซยานินจากดอกอัญชันเพื่อตรวจหาปริมาณสารแอนโธไซยานินรวม (Total Anthocyanin) ก่อนทำการทดลอง

2. การหาปริมาณสารแอนโธไซยานินรวม ชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม เติม Methanol-1%HCL ที่เตรียมจาก Methanol 450 ml + HCL 4.5 ml ปริมาตร 1 ml ใส่ในหลอด Eppendorf เขย่าด้วย Vortex ประมาณ 1 นาที แล้วนำเข้าเครื่อง Centrifuge ควบคุมอุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 3500 รอบ นาน 5 นาที แยกส่วนใสด้านบนใส่หลอด Centrifuge ฝาเกลียว10 ml.ป้องกันแสง ล้างตะกอนที่ก้นหลอดตามวิธีเดิม ซ้ำจนครบ 3 รอบ หรือจนสารละลายไม่มีสีบันทึกปริมาตรของ Methanol-1%HCL ที่ใช้ นำส่วนใสที่ได้มากรองรวมกัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้ปริมาตร 3 ml เติมน้ำกลั่น 2 ml แล้วเขย่า เติม Chloroform 5 ml เขย่านำเข้าเครื่อง Centrifuge ควบคุมอุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 3500 รอบ นาน 5 นาที สารสีจะแยกชั้นกับ Chloroform ค่อยๆใช้ Micro-Pipette ขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างที่มีสีลงใส่หลอดทดลองใหม่ปริมาตร 4 ml ระวังอย่าให้ตะกอนฟุ้งกระจาย เติมสารผสม (Methanol-1%HCL; 60:40) ลงไป 4 ml วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร โดยการใช้สารผสมเป็น Blank แล้วทำการคำนวณ Total Anthocyanin (TAC) A = A510 – A700 TAC(mg/100gตัวอย่าง) = (A/226900)*449.2*dilution factor* (ปริมาตรสารตัวอย่าง/น้ำหนักพืช)*100

3.3.4 การดำเนินการทดลอง

1. นำกุ้งแยกลงถังพลาสติก เติมน้ำและให้ออกซิเจน และให้อาหารกุ้งทุกวัน โดยให้อาหารกุ้ง 3% ต่อน้ำหนักตัว วันละ 2 มื้อในเวลา08.00 น. และ 18.00 น. ตามลำดับ เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกสัปดาห์

2. ศึกษาประสิทธิภาพการเสริมสารสีในตัวกุ้งเครฟิชจากอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง โดยการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรือง 5g,10gและ20g และ .ศึกษาประสิทธิภาพการเสริมสารสีในตัวกุ้งเครฟิชจากอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน โดยการสกัดสารแอนโธไซยานินจากดอกอัญชัน25g ,50g.และ100g

3. ตรวจสอบคุณภาพน้ำ ในถังทดลองโดยวัดพารามิเตอร์ต่างๆทุกสัปดาห์ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าออกซิเจนละลายในน้ำ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณสารอาหาร (ไนเตรท ไนไตรท์ และแอมโมเนีย)

3.4 การบันทึกข้อมูล

3.4.1 บันทึกน้ำหนัก วัดความยาวก่อนและหลังการทดลอง คำนวณหาอัตรารอด และอัตราการเติบโตจำเพาะ ด้วยสมการดังต่อไปนี้

อัตราการรอด = จำนวนกุ้งที่เหลือ/จำนวนกุ้งเริ่มต้น*100

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก(FCR)=น้ำหนักอาหารที่ให้/น้ำหนักของกุ้งที่เพิ่มขึ้น

3.4.2 บันทึกข้อมูลวัดความเข้มสีเมื่อสิ้นสุดการทดลอง วิเคราะห์ปริมาณสารสีในตัวกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 บันทึกคุณภาพน้ำค่า อุณหภูมิ DO, pH, แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลการเจริญเติบโต และ อัตราการรอด ที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของการเสริมสารสีต่อการเจริญเติบโต ความยาว และอัตรารอด

4.1.1 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งที่กินอาหารที่ผสมดอกอัญชัน

จากการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.49±0.11 g น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายในกลุ่มที่ไม่ผสมอัญชันเท่ากับ 3.05±0.03 g และกลุ่มที่ผสมสารสกัดอัญชันในระดับ 25 , 50 และ 100 g/kg อาหาร มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 90 วัน เท่ากับ 3.10±0.04 , 3.11±0.05 , 3.16±0.06 ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มมีอัตราการเจริญเติมโต เท่ากับ 15.19±0.04 , 15.30±0.04 , 15.42±0.26 , 15.46±0.23 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 4)

ตารางที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการเติบโตจำเพาะของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ

ปริมาณอัญชันที่ผสมใน	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)		อัตราการเติบโตจำเพาะ
อาหาร (g/kg)	เริ่มต้น	สุดท้าย	(%/สัปดาห์)
0	0.49±0.00	3.05±0.03	15.19±0.04
25	0.50±0.01	3.10±0.04	15.30±0.04
50	0.49±0.01	3.11±0.05	15.42±0.26
100	0.49±0.01	3.16±0.06	15.46±0.23
F-test	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

4.1.2 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งที่กิน อาหารที่ผสมดอกดาวเรือง

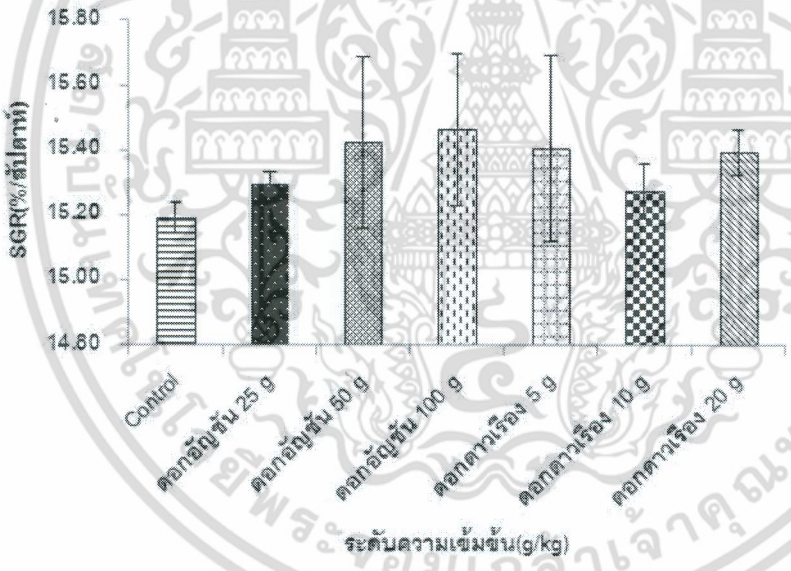
จากการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.49±0.11 g น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายในกลุ่มที่ไม่ผสมดาวเรืองเท่ากับ 3.05±0.03 g และกลุ่มที่ผสมสารสกัดดาวเรืองในระดับ 5 , 10 และ 20 g/kg อาหาร มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 90 วัน เท่ากับ 3.07±0.06 , 3.08±0.03 , 3.06±0.02 ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มมีอัตราการเจริญเติมโต เท่ากับ 15.19±0.04 , 15.41±0.29 , 15.27±0.08 , 15.39±0.27 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ย และน้ำหนักเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ

ปริมาณดาวเรืองที่ผสม ในอาหาร (g/kg)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)		น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย (กรัม)
	เริ่มต้น	สุดท้าย	
0	0.49±0.00	3.05±0.03	15.19±0.04
5	0.48±0.01	3.07±0.06	15.41±0.29
10	0.49±0.01	3.08±0.03	15.27±0.08
20	0.48±0.00	3.06±0.02	15.39±0.27
F-test	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมด้วยดอกอัญชันและดอกดาวเรือง

4.1.3 ความยาวของกุ้งที่กินอาหารผสมดอกอัญชัน

จากการทดลองพบว่าความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น ความยาวเฉลี่ยสุดท้าย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 100 g/kg ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ความยาวเฉลี่ย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ ระดับต่างๆ

ปริมาณอัญชันที่ผสมใน	ความยาวเฉลี่ย (cm.)		ความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น
อาหาร (g/kg)	เริ่มต้น	สุดท้าย	(cm.)
0	2.6± 0.06	4.92± 0.13	2.30± 0.11
25	2.66±0.04	5.06±0.15	2.40±0.12
50	2.56±0.04	4.92±0.09	2.36±0.07
100	2.54±0.02	4.90±0.07	2.36±0.05
F-test	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

โดยเมื่อเปรียบเทียบความยาวเฉลี่ยเริ่มต้นและความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน ที่ 0, 25, 50 และ 100 g/kg เท่ากับ 2.6± 0.06, 2.66±0.04, 2.56±0.04 และ 2.54±0.02 ตามลำดับ และความยาวเพิ่มเฉลี่ยตั้งแต่เริ่มจนถึง 12 สัปดาห์มีค่าเท่ากับ 2.30 ±0.11, 2.40±.0.12, 2.36±0.07 และ 2.36± 0.05 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 3และภาพที่5)

4.1.4 ความยาวของกุ้งที่กินอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง

จากการทดลองพบว่าความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น ความยาวเฉลี่ยสุดท้าย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 20 g/kg ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4)

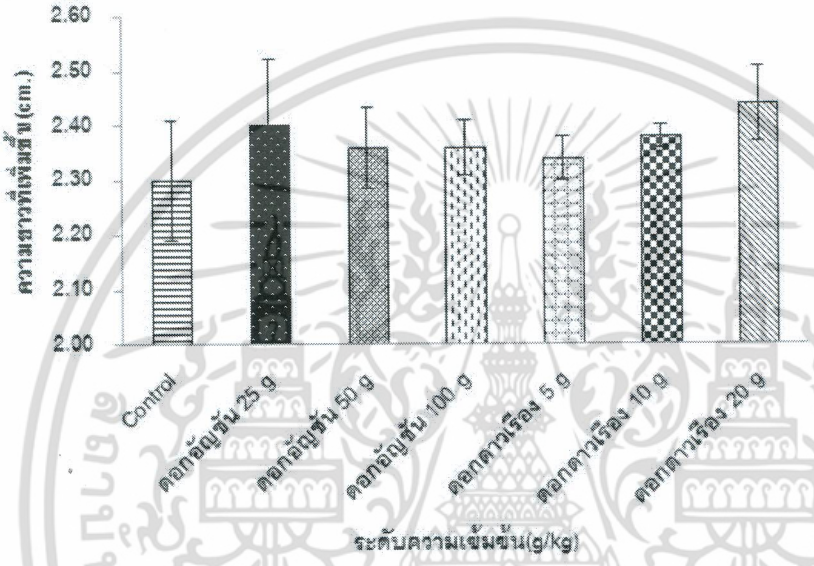
ตารางที่ 4 ความยาวเฉลี่ย และความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ

ปริมาณดาวเรืองที่ผสม	ความยาวเฉลี่ย (cm.)		ความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น
ในอาหาร (g/kg)	เริ่มต้น	สุดท้าย	(cm.)
0	2.6± 0.06	4.92± 0.13	2.30± 0.11
5	2.64±0.07	4.98±0.04	2.34±0.04
10	2.62±0.04	5.00±0.03	2.38±0.02
20	2.56±0.05	5.00±0.07	2.44±0.07
F-test	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเมื่อเปรียบเทียบความยาวเฉลี่ยเริ่มต้นและความยาวเพิ่มของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ พบว่าความเฉลี่ยเริ่มต้นในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ 0, 5, 10 และ 20 g/kg เท่ากับ 2.6± 0.06, 2.64±0.07, 2.62±0.04 และ 2.56±0.05 ตามลำดับ และความยาวเพิ่มเฉลี่ยตั้งแต่เริ่มจนถึง 12 สัปดาห์มีค่าเท่ากับ 2.30 ±0.11, 2.34±.0.04, 2.38±0.02 และ 2.44± 0.07 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4และภาพที่5)



ภาพที่ 5 ความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งเครฟิชในอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรือง

4.1.5 อัตรารอดของกุ้งที่กินอาหารผสมดอกอัญชันและอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง

อัตรารอดของกุ้งเครฟิชตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดการทดลอง (12 สัปดาห์) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) คือเท่ากับ 91.67% โดยเมื่อเปรียบเทียบอัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับ 0, 25, 50 และ 100 g/kg พบว่ามีค่าเท่ากับ 91.67 ± 4.17, 91.67 ± 8.33, 91.67 ± 4.17 และ 91.67 ± 4.17 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 5 และภาพที่ 6) และอัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับ 0, 5, 10 และ 20 g/kg พบว่ามีค่าเท่ากับ 91.67 ± 4.17, 91.67 ± 8.33, 91.67 ± 8.33 และ 91.67 ± 4.17 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 6 ภาพที่ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างๆ

ปริมาณดอกอัญชันที่ผสมในอาหาร (g/kg)	อัตรารอด (%)
0	91.67±4.17
25	91.67±8.33
50	91.67±4.17
100	91.67±4.17
F-test	ns

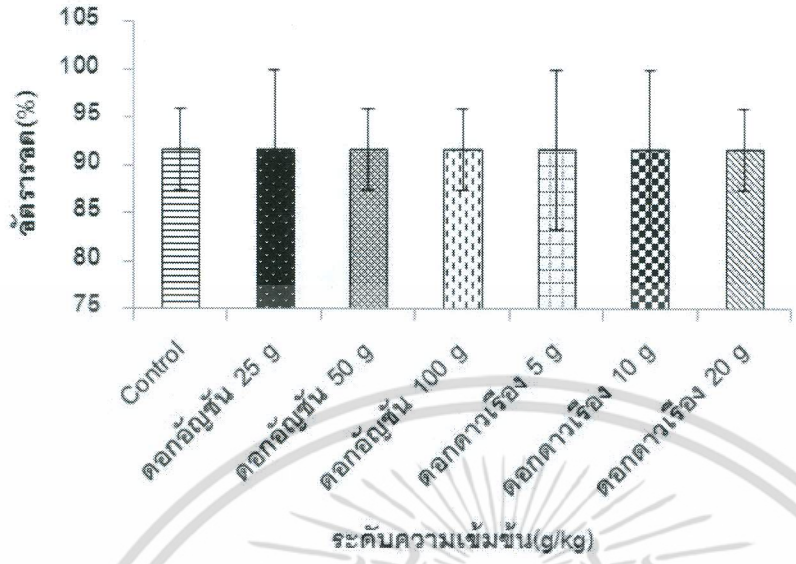
หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 6 อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างๆ

ปริมาณดอกดาวเรืองที่ผสมในอาหาร (g/kg)	อัตรารอด (%)
0	91.67±4.17
5	91.67±8.33
10	91.67±8.33
20	91.67±4.17
F-test	ns

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

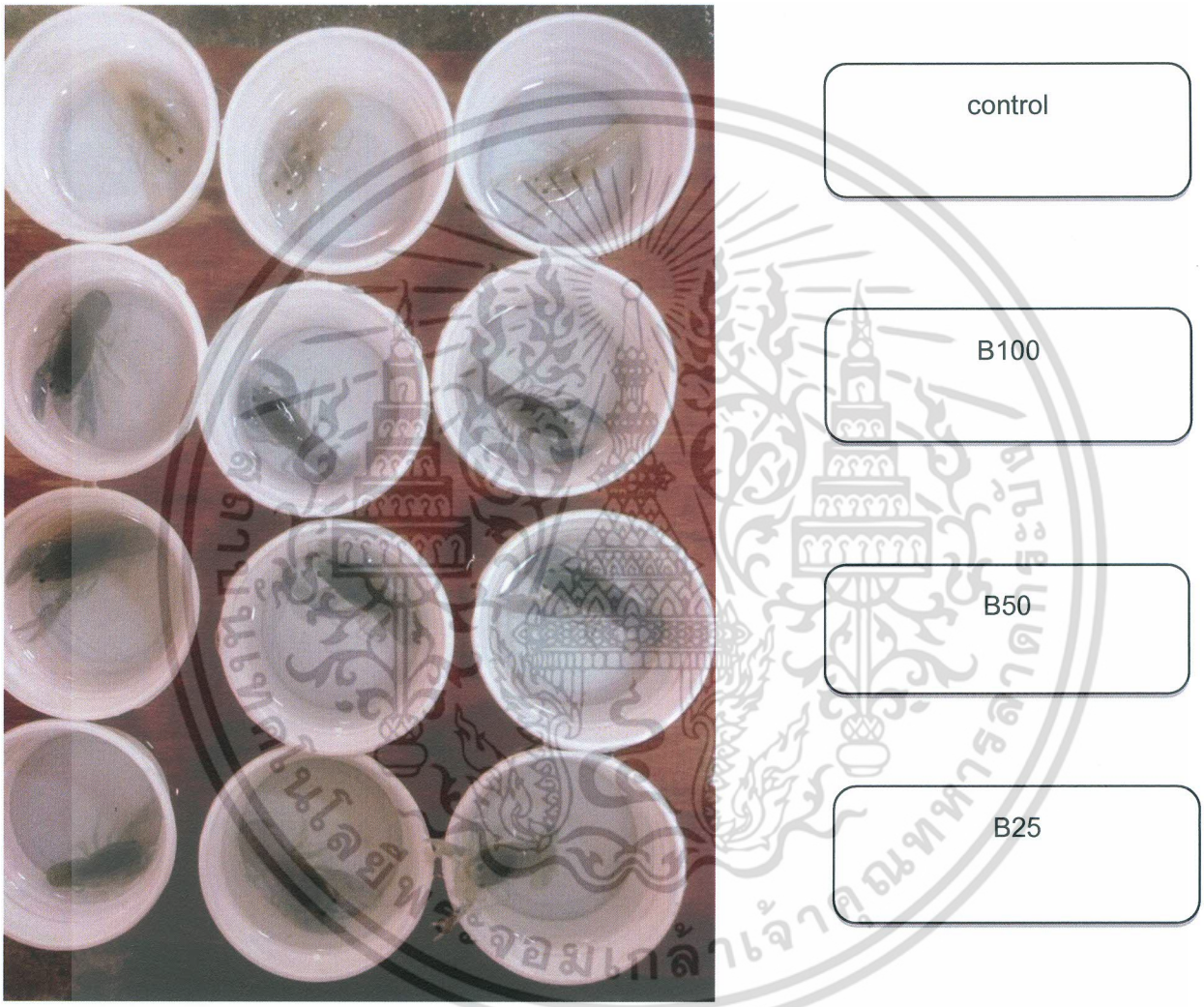


ภาพที่ 6 อัตรารอดของกุ้งเครฟิชที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.2 **ผลของดอกอัญชันและดอกดาวเรืองต่อสีของกุ้งเครฟิช**

ในการเลี้ยงกุ้งเครฟิชด้วยอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 100 g/kg อาหาร และอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้น 0,5,10,20 g/kg อาหาร พบว่ากุ้งเครฟิชที่อยู่ในกลุ่มอาหารที่ผสมดอกอัญชันกลุ่มที่ให้สีมากที่สุด คือ กลุ่มที่ผสมดอกอัญชัน 100 g/kgอาหาร จะให้สีออกมาคือสีน้ำเงิน ส่วนในกลุ่มอื่นๆจะให้สีออกมาน้อย และในกลุ่มควบคุมจะไม่มีสี ส่วนในกลุ่มอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองกลุ่มที่ให้สีเด่นชัดมากที่สุด คือ กลุ่มที่ผสมดอกดาวเรือง 20 g/kgอาหาร จะให้สีออกมาคือ สีน้ำเงินเข้ม ส่วนในกลุ่มอื่นๆก็จะแสดงสีออกมาในปริมาณน้อย และในกลุ่มควบคุมจะไม่มีสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบสีกุ้งเครฟิชระหว่างการทดลองหลังจากที่ให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยให้อาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับต่างกัน (control:อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ ผสมอัญชัน , B100:ผสมอัญชัน 100 กรัม , B50:ผสมอัญชัน 50 กรัม, B25:ผสมอัญชัน 25 กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 เปรียบเทียบสีกุ้งเครฟิชระหว่างการทดลองหลังจากที่ให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์โดยให้อาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ระดับต่างกัน (control:อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ผสมดาวเรือง , M20:ผสมดาวเรือง 20 กรัม , M10:ผสมดาวเรือง 10 กรัม M5:ผสมดาวเรือง 5 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การหาปริมาณแอนโธไซยานินในอาหาร

4.3.1 ปริมาณแอนโธไซยานินก่อนผสมและหลังผสมลงในอาหาร

ผลการทดลองการหาปริมาณแอนโทไซยานินก่อนผสมและหลังผสมลงในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ชุดควบคุม, ความเข้มข้นในสารสกัด 25g/kg, ความเข้มข้นในสารสกัด 50g/kg และความเข้มข้นในสารสกัด 100g/kg ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ผสมอาหารของดอกอัญชันมีอิทธิพลต่อปริมาณสารแอนโธไซยานินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

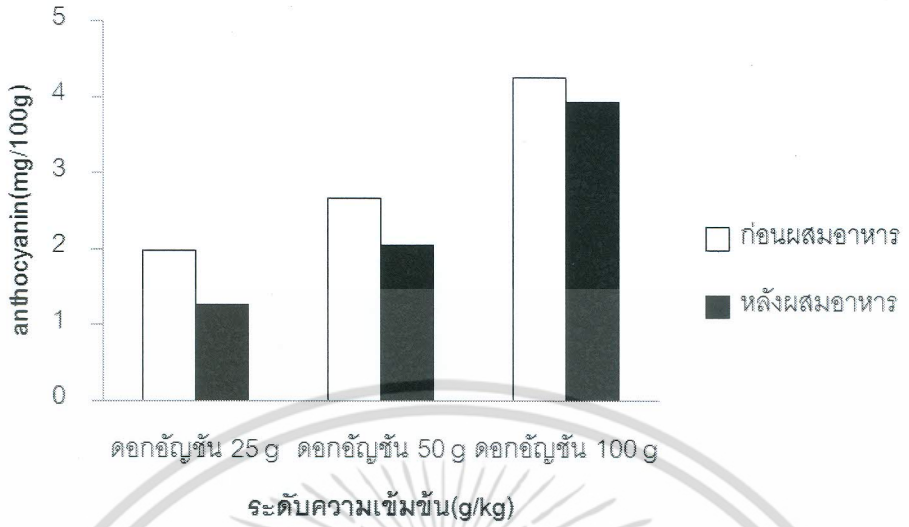
ตารางที่ 7 ปริมาณสารแอนโธไซยานินผสมอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาณดอกอัญชันที่ผสมในอาหาร (g/kg)	ปริมาณสารแอนโธไซยานินก่อนผสมอาหาร (µg/gของอาหาร)	ปริมาณสารแอนโธไซยานินหลังผสมอาหาร (µg/gของอาหาร)
25	1.9±0.00 ^{c}	1.3± 0.00 ^{c}
50	2.7±0.00 ^{b}	2.1±0.00 ^{b}
100	4.3±0.00 ^{a}	3.9±0.00 ^{a}
F-test	*	*

หมายเหตุ * หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแอนโธไซยานินก่อนผสมอาหารที่ความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชันในระดับต่างๆ พบว่า ปริมาณสารแอนโธไซยานินมากที่สุดอยู่ในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 100 g/kg อาหาร รองลงมาคือความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 50 g/kg อาหาร และความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 25 g/kg อาหาร มีปริมาณสารแอนโธไซยานินน้อยที่สุด โดยปริมาณสารแอนโธไซยานินเท่ากับ 4.3±0.00, 2.7±0.00 และ 1.9±0.00 µg/g อาหาร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 9) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแอนโธไซยานินหลังผสมอาหารที่ความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชันในระดับต่างๆ พบว่า ปริมาณสารแอนโธไซยานินมากที่สุดอยู่ในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 100 g/kg อาหาร รองลงมาคือความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 50 g/kg อาหาร และความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 25 g/kg อาหาร มีปริมาณสารแอนโธไซยานินน้อยที่สุด โดยปริมาณสารแอนโธไซยานินเท่ากับ 3.9±0.00, 2.1±0.00 และ 1.3± 0.00 µg/gอาหาร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ปริมาณสารแอนโธไซยานินก่อนผสมและหลังผสมอาหารที่มีอยู่ในอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.4 การหาปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาหาร

4.4.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์ก่อนผสมและหลังผสมลงในอาหาร

ผลการทดลองการหาปริมาณแคโรทีนอยด์ก่อนผสมและหลังผสมลงในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ชุดควบคุม , ความเข้มข้นในสารสกัด 5 g/kg, ความเข้มข้นในสารสกัด 10g/kg และความเข้มข้นในสารสกัด 20g/kg ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ผสมอาหารของดอกดาวเรืองมีอิทธิพลต่อปริมาณสารแคโรทีนอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

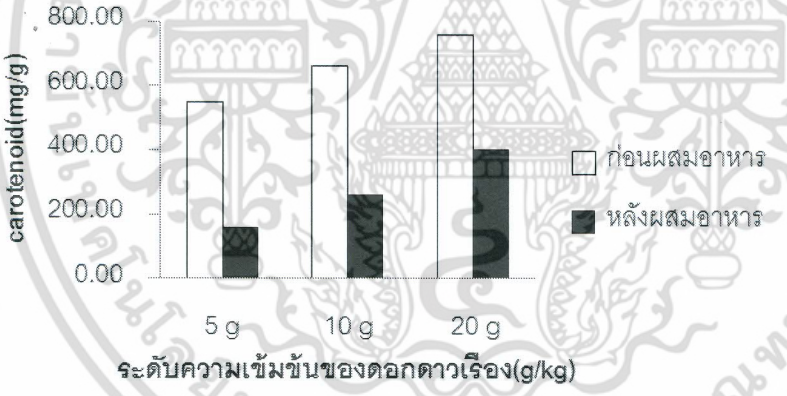
ตารางที่ 8 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ผสมอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาณดอกดาวเรืองที่ผสมในอาหาร (g/kg)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ก่อนผสมอาหาร (µg/gของอาหาร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ก่อนผสมอาหาร (µg/gของอาหาร)
5	550±0.01 ^{c}	160±0.00 ^{c}
10	660±0.00 ^{b}	260±0.01 ^{b}
20	760±0.00 ^{a}	400±0.01 ^{a}
F-test	*	*

หมายเหตุ * หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแคโรทีนอยด์ก่อนผสมอาหารที่ความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองในระดับต่างๆ พบว่า ปริมาณสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดอยู่ในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง 20 g/kg อาหาร รองลงมาคือความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง 10 g/kg อาหาร และความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 5 g/kg อาหาร มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.76±0.00, 0.66±0.00 และ 0.55±0.01 mg/100g อาหาร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 10) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแคโรทีนอยด์หลังผสมอาหารที่ความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองในระดับต่างๆ พบว่า ปริมาณสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดอยู่ในความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง 20 g/kg อาหาร รองลงมาคือความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง 10 g/kg อาหาร และความเข้มข้นของอาหารที่ผสมดอกอัญชัน 5 g/kg อาหาร มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 400±0.01, 260±0.01 และ 160±0.00 µg/g อาหาร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ก่อนผสมและหลังผสมอาหารที่มีอยู่ในอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ ระดับความเข้มข้นต่างๆ

4.5 สารสีในกุ้ง

โดยทั่วไปแล้วกลุ่มครัสเตเชียนจะพบสารสีในชั้นเปลือกกุ้ง ซึ่งเรามักจะพบสารสีแตกต่างกันในกุ้งแต่ละชนิด ไม่ว่าจะเป็นสีน้ำเงิน สีส้ม สีแดง และสีอื่นๆ แต่กุ้งที่เราใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คือ กุ้งในกลุ่มเครฟิช หรือที่เรียกกันสั้นๆว่า กุ้งเดส (Destructor) มีสีของเปลือกคือมีสีน้ำเงิน จากการทดลองโดยใช้อาหารที่ผสมดอกอัญชันและอาหารที่ผสมดอกดาวเรือง (ตารางที่ 9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(a) (b) (c)

ภาพที่ 11 ลักษณะของกุ้งเดสที่ใช้ในการทดลอง :ลักษณะการออกไข่ของแม่พันธ์กุ้งเดส (ภาพa,b) ลักษณะกุ้งเดสที่ทดลองในระยะเวลา 90 วัน (ภาพ c)

ตารางที่ 9 สารสีในกุ้งของอาหารที่ผสมดอกอัญชันและดอกดาวเรือง

สูตรอาหาร	anthocyanin (µg/g)	carotenoid(µg /g)
Control	0.136±0.00^{g}	14.8±0.00^{g}
ดอกอัญชัน 25 g	0.856±0.00^{c}	15.9±0.00^{f}
ดอกอัญชัน 50 g	0.973±0.00^{b}	17.7±0.00^{e}
ดอกอัญชัน 100 g	1.07±0.00^{a}	19.5±0.00^{d}
ดอกดาวเรือง 5 g	0.545±0.00^{f}	2.38±0.00^{c}
ดอกดาวเรือง 10 g	0.681±0.00^{e}	3.52±0.00^{b}
ดอกดาวเรือง 20 g	0.776±0.00^{d}	4.12±0.00^{a}
F-test	*	*

หมายเหตุ * หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การทดลองพบว่าสารสีในกุ้งของกลุ่มอาหารที่ผสมดอกอัญชันกลุ่มที่มีสารแอนโธไซยานินมากที่สุด คือ กลุ่มที่มีการผสมอาหารด้วยดอกอัญชันที่ 100 g มีสารแอนโธไซยานินเท่ากับ 1.07±0.00 µg/g และสารสีในกุ้งของกลุ่มอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองกลุ่มที่มีสารแคโรทีนอยด์มากที่สุด คือ กลุ่มที่มีการผสมอาหารด้วยดอกดาวเรืองที่ 20 g มีสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 4.12±0.00 µg/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(a) (b)

ภาพที่ 12 ลักษณะของพ่อแม่พันธุ์กุ้งเดส: พ่อพันธุ์กุ้งเดส(a) แม่พันธุ์กุ้งเดส (b)

จากการทดลองการเลี้ยงกุ้งเครฟิช มีความสอดคล้องกับ Wade et al.(2008) กล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงสีในครัสเตเซียเกิดขึ้นบริเวณชั้นใต้เปลือกพบว่าอาหารที่มีการเสริมแคโรทีนอยด์ในปริมาณสูงมีการเพิ่มสีของกุ้งมังกรและมีความสอดคล้องกับ Kalinowski et al. (2005) ทำการทดลองอาหารที่ผสมแคโรทีนอยด์จากเปลือกกุ้งที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 mg/.kg. เป็นระยะเวลา 105 วัน พบว่าความเข้มของสีกุ้งจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้รับจากการผสมลงในอาหาร และระยะเวลาในการกินอาหาร

4.6 คุณภาพน้ำ

ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำ น้ำที่เก็บมาได้จากการลองเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 90 วัน โดยมีการเก็บน้ำมาตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกสัปดาห์ ซึ่งพบค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

ค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28.55-28.82 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 5.5-6.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 8.09-8.17 แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.07-0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์ -ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.04-0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนเตรท -ไนโตรเจนอยู่ในช่วง 2.48-2.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าที่วัดได้จากการเลี้ยงตลอดระยะเวลาการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพิ่มสีของกุ้งเครฟิชโดยการให้อาหารที่ผสมดอกอัญชันในระดับความเข้มข้น คือ 0,25,50,100 g/kg อาหาร และอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองในระดับความเข้มข้น คือ 0,5,10,20 g/kg อาหาร พบว่าในปริมาณอาหารที่ผสมดอกอัญชันที่ 100 g/kg อาหารมีการแสดงออกของสีดีที่สุดโดยสีที่ได้ออกมา คือ มีสีน้ำเงิน เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นจะสามารถเห็นสีได้ชัดเจนกว่า โดยมีปริมาณสารแอนโธไซยานิน เท่ากับ 3.934±0.00 µg/g อาหาร มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย 2.67±0.06 g และมีอัตรารอดเท่ากับ 91.67±4.17% ซึ่งเราพบว่าปริมาณแอนโธไซยานินที่มีอยู่ในดอกอัญชันมีอิทธิพลต่อการแสดงออกสีในกุ้งเครฟิชเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองมีการแสดงออกของสีที่ดีที่สุด คือ อาหารที่ผสมดอกดาวเรืองที่ 20 g/kg อาหาร มีการแสดงออกของสีเป็นสีน้ำเงินเข้มเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นจะสามารถเห็นสีได้ชัดเจนกว่า โดยมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 400±0.01 µg/g มีน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย 2.57±0.02 g และมีอัตรารอดเท่ากับ 91.67±4.17 % ซึ่งเราพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในดอกดาวเรืองมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของสีในกุ้งเครฟิชเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นการศึกษาปริมาณสารแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองที่ผสมในอาหารในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและเร่งสีของกุ้งเครฟิช (destructor) จะเป็นแนวทางในการพัฒนาเทคนิคการเลี้ยงกุ้งสวยงามเพื่อเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์ต่อไปได้ ในอนาคตซึ่งกุ้งชนิดนี้ถ้ามีสีที่เข้มมากจะสามารถนำไปขายได้ราคาที่สูงกว่ากุ้งที่มีสีที่อ่อนกว่า และจะทำให้ต้นทุนในการเลี้ยงลดลงอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์. 2535. การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน *Clitoria ternatea* L. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล.2545.สีจากดอกอัญชัน *Clitoria ternatea*.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Austin C.M. , P.L. Jones , P.L. F. Stagnitti and B.D. Mitchell.1997. Response of the yabby, *Cherax destructor Clark*, tonatural and artificial diets: phenotypic variation in juvenile growth. Aquaculture 149 :39-46.

Buyukcapar, H.M., M.Yanar and Y.Yanar. 2005. Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annuum*). Turk. J. Vet. Anim. Sci: 31(1):7-12.

Ezhil, J., C.Jeyanthi and M. Narayanan. 2008. Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red Swordtail, *Xiphophorus helleri*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 8: 99-102.

Hiemori, M., E. Koh and A.E. Mitchell. 2009. Influence of cooking on anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L. japonica var. SBR). J. agric. food chem. 57: 1908-1914.

Kalinowski,C.T., L.E.Robiana, H.Fernandez-Palacios,D.Schuchardt and M.S.Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. Aquaculture. 244: 223-231.

Lazze, M.C., M. Savio, R.Pizzala, O.Cazzalini, P.Perucca, A.I.Scovassi, L.A.Stivala and L.Bianchi.2004. Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human celllines. Carcinogenesis 25: 1427-1433.

Lewis, D.H., S.J. Bloor and K.E. Schwin. 1998. Flavonoid and carotenoid pigments in flower tissue of *Sandersonia aurantiaca* (Hook). Scientia Horticulture 72:179- 192.

Mori, K. 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grapender high temperature. Journal of experimental Botany. 58(8): 1935-1945.

Parisenti, J., L. H. Beirao., J. L. Mourino., F. N. Vieira., C. C. Buglione and M. Maraschim. 2011. Effect of background color on shrimp pigmentation. Bol. Inst. Pesca. 37(2): 177 – 182.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Terahara, N., K.Toki, N., Saito., T.Honda., T.Matsui and Y.Osajima. 1998.Eight new anthocyanins,Ternatins C1-C5 and D3 and preternatins A3 and C4 from yong *Clitoria Ternatea* flowers.Jounal of natural product.61(11):1361-1367.

Wade, N. M., R. M. Smith., B. M. Degnan and M. R. Hall. 2008. Control of shell colour changes in the lobster, *Panulirus Cygnus*. The Journal of Experimental Biology 211:1512-1519.

Wade, N. M., A. Tollenaere., M. R. Hall and B. M. Degnan. 2009. Evolution of a novel carotenoid-binding protein responsible for crustacean shell color. Mol. Biol. Evol. 26(8):1851–1864.

Wang, Y-J., Y-H Chien and C.H. Pan.2006. Effect of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. Aquaculture.261:641-648.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้