

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเร่งสีปลาทองด้วยสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

The enhancing color in goldfish of a green alga *Chlorococcum* sp.



T104663



รพ.  
0285ก  
2550

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....104663  
รับเดือนปี..... 5 11 2552

1216000 3

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
กรุงเทพมหานคร 10520  
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเร่งสีปลาทองด้วยสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

The enhancing color in goldfish of a green alga *Chlorococcum* sp.

ชื่อนักศึกษา นายวรฤดี เหล่าอิทธิพร

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อัจฉรี เรืองเดช

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร. อัจฉรี เรืองเดช)

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๑๔ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๕๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

### เรื่อง

การเร่งสีปลาทองด้วยสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

The enhancing colour in goldfish of a green alga *Chlorococcum* sp.

ปลาทองเป็นปลาสวยงามชนิดหนึ่งที่มีสีส้มเป็นที่ต้องการของตลาดแต่ปัญหาส่วนใหญ่ที่พบคือ มักมีสีผิวตัวไม่สม่ำเสมอและมีสีซีดทำให้ปลาทองมีราคาตกลง จึงได้ศึกษาการใช้รงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ซึ่งมีองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ (carotenoid) และคลอโรฟิลล์(chlorophyll) ส่งผลให้ปลาทองมีสีส้มจัดขึ้น เพื่อตอบสนองต่อความต้องการและสร้างสีส้มให้กับตลาดปลาสวยงาม วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาระดับของรงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่เหมาะสม ต่อความเข้มสีในปลาทอง ค่าการเปลี่ยนแปลงสีบนตัวปลาทำการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี(Chromameter) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่าชุดการทดลองที่เสริมด้วยรงควัตถุจาก *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีแดงบริเวณลำตัว ( $a^*$ ) มากที่สุดคือ  $17.41 \pm 0.19$  โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่เสริมด้วยรงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเข้มสีเหลืองบนลำตัว ( $b^*$ ) มีค่าความเข้มของสีเหลืองน้อยที่สุด คือ  $24.39 \pm 1.30$  โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างทุกชุดการทดลอง ค่าความสว่างของสีบริเวณลำตัว ( $L^*$ ) พบว่ามีค่าความสว่างของสีน้อยที่สุดคือ  $43.92 \pm 0.60$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่เสริมด้วยรงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นปริมาณของรงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อความเข้มสีแดงของปลาทองได้ดีที่สุด แต่ไม่ส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัว โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยาม

ปัญหาพิเศษในครั้งนี้จะไม่สำเร็จส่งไปได้ด้วยดี ถ้าขาดบุคคลที่สำคัญ 2 ท่าน คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลหาะวิสุทธิ และ ดร. อัจฉรี เรืองเดช ที่ช่วยเหลือและแนะนำให้แก่ ข้าพเจ้า โดยเฉพาะอาจารย์อัจฉรี ที่ให้ความรู้ ให้คำปรึกษาในด้านวิชาการ และฝึกให้ข้าพเจ้ามีการ พัฒนาตัวเองในด้านการงานที่ดีขึ้น มีการวางแผนก่อนทำงานและเป็นระเบียบและปัญหาพิเศษ ฉบับนี้จะไม่สมบูรณ์เลย หากขาดบุคคลสำคัญเหล่านี้ได้แก่

ขอพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน เจ้าหน้าที่ภาคทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์พร้อมคำแนะนำที่ดี ที่ปริญาโททุกคนโดยเฉพาะที่ป้านที่คอยช่วยเหลืออยู่ตลอดเวลา และเพื่อนๆทุกคนที่เป็นเพื่อนที่ดี ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านจนสามารถผ่านพ้น ปัญหาต่างๆไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัวที่เป็นแรงจูงใจ และสนับสนุนในทุกๆเรื่อง

นายวรวุฒิ เหล่าอิทธิพร

พฤษภาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลการทดลองและวิจารณ์	20
สรุปและข้อเสนอแนะ	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	30



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ช่วงเวลาที่ใช้ในการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ และชนิดของแคโรทีนอยด์ในเซลล์สาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp.	8
2	ปริมาณสารสีของชนิดอาหารเสริมที่ได้จากธรรมชาติ	13
3	น้ำหนักของปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม <i>Chlorococcum</i> sp. ระดับต่างๆ	20
4	ความยาวตัวของปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม <i>Chlorococcum</i> sp. ระดับต่างๆ	21
5	ระดับความเข้มสีแดงบนผิวหนังปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง	22
6	ระดับความเข้มสีเหลืองบนผิวหนังปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง	23
7	ระดับความสว่างของสีบนผิวหนังปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง	25

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp.	3
2	ขั้นตอนและโครงสร้างการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp.	6
3	การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างกันของคลอโรฟิลล์ a,b และ แคโรทีนอยด์	7
4	ระยะการเจริญเติบโตและการสะสมของจำนวนเซลล์ในสาหร่าย ในสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ	10
5	ลักษณะทั่วไปของปลาทอง	11
6	การเปรียบเทียบการกระจายตัวของสีในส่วนต่างๆของปลาระหว่าง อาหารปกติกับอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทิน	12
7	การเพิ่มระดับของแอสตาแซนทินและระดับที่เหมาะสมต่อการเกิดสี	14
8	ระดับความเข้มของสีแดงบนผิวปลาในแต่ละชุดการทดลอง	22
9	ระดับความเข้มของสีเหลืองบนผิวปลาในแต่ละชุดการทดลอง	24
10	ค่า lightness ของแต่ละชุดการทดลอง	25
11	เปรียบเทียบสีผิวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวกที่		หน้า
1	การเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. ในหลอดทดลอง โดยตั้งให้รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง	31
2	การเลี้ยงสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. ในขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร โดยมี การให้อากาศและแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง	31
3	การแยกชั้นของแคโรทีนอยด์ และ diethyl ether	32
4	การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์โดยวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer UV/Vis	32
5	การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp.	33
6	การทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (CRD) ความเข้มข้นของ <i>Chlorococcum</i> sp. ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ระดับละ 3 ซ้ำ	34
7	วิธีการวัดสี ด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter)	34

## คำนำ

เนื่องจากสาหร่ายมีศักยภาพในเชิงการค้าและมีความสำคัญได้แก่ แคโรทีนอยด์ (carotenoid) แคโรทีนอยด์ที่สำคัญและมีมูลค่าสูง ได้แก่ เบต้า-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene) จากการวิจัยต่างๆพบว่าการใช้สารเคมีผสมในอาหารเพื่อให้เกิดสีในอาหารหรือการใช้สารเคมีผสมในอาหารสัตว์เพื่อให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์ ซึ่งสารที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ จึงมีการศึกษาค้นคว้ามากมายและนำรงควัตถุมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหารแทนสารเคมีที่อันตราย ตัวอย่างรงควัตถุที่นำมาใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่เป็นหน่วยย่อยของแคโรทีนอยด์ เช่น เบต้า-แคโรทีน เป็นรงควัตถุสีเหลืองแดงใช้เป็นอาหารเสริม โปรวิตามินเอ และแอสตาแซนทิน (astaxanthin) ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเหลืองแดงเช่นเดียวกับเบต้า-แคโรทีน ใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารหรือผสมในอาหารสัตว์เมื่อสัตว์บริโภค เช่น ปลาทองจะมีสีจัดขึ้น นอกจากนี้ยังนำไปเป็นสารปรุงแต่งในอุตสาหกรรมอาหารสำหรับบริโภค เช่น บะหมี่ ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ และอาหารประเภทอื่นๆ

การเจริญเติบโตของสาหร่ายขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพบางอย่าง เช่น ความเข้มแสง ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาและควบคุมการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

สำหรับปลาทองเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว มีสีสันสวยงามหลากหลายด้วยกัน เช่น สีแดง สีส้ม สีขาว สีดำ เป็นต้นรวมถึงสีดังกล่าวปะปนกัน จากเหตุผลดังกล่าวนี้เองจึงทำให้ปลาทองเป็นปลาสวยงามที่รู้จักกันทั่วไป และมีผู้นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย มนุษย์จึงได้พัฒนาปลาทองให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ๆขึ้น เพื่อตอบสนองต่อความต้องการและสร้างสีสันความแปลกใหม่ให้กับวงการปลาสวยงามต่อไป

ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ ผู้ทำได้ศึกษาถึงสารสีแดงที่พบอยู่ในสาหร่าย *Chlorococccum* sp. โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ขึ้นเองประกอบกับดูการเจริญเติบโตควบคู่กันไป จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายผสมกับอาหารเม็ดแล้วนำไปทดสอบกับปลาทองโดยการกิน และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้น เช่น สีที่ผิวหนัง ความยาวตัวหรือน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาระดับของรงควัตถุในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่เหมาะสมต่อความเข้มข้นของปลาทอง และใช้สารสกัดจากธรรมชาติแทนการใช้สารเคมีเนื่องจากอาจมีสารตกค้าง ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงระดับของรงควัตถุที่เหมาะสมต่อความเข้มข้นของปลาทองตลอดจนวิธีการเพาะเลี้ยง และสามารถนำไปใช้กับธุรกิจปลาสวยงามได้เป็นอย่างดี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

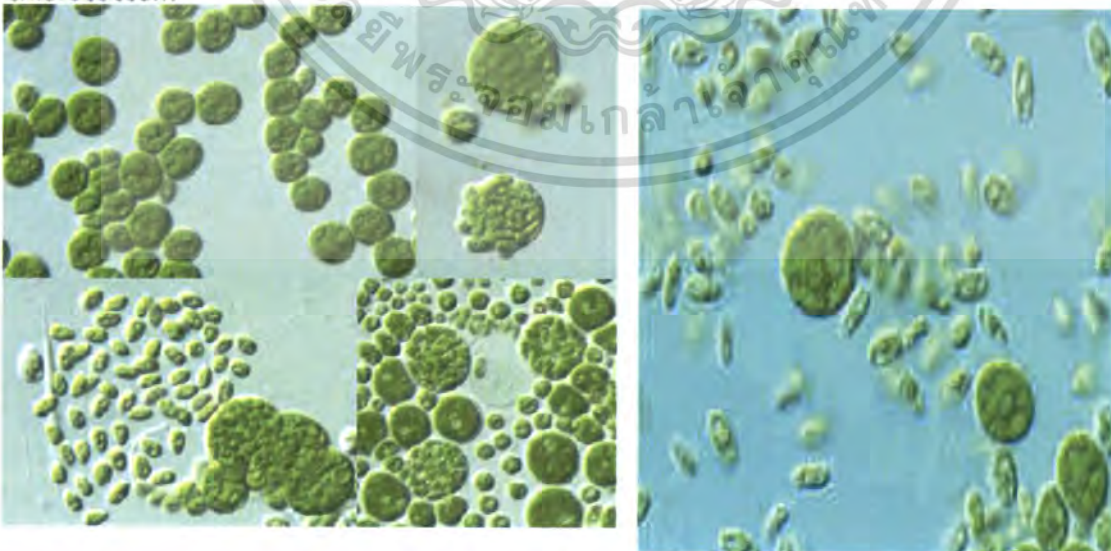
## การตรวจเอกสาร

### ลักษณะทั่วไป

*Chlorococcum* sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวซึ่งจัดอยู่ใน Division Chlorophyta Class Chlorophyceae Order Chlorococcales Family Chlorococcaceae เซลล์จะมีลักษณะเป็นทรงกลมหรือเป็นรูปไข่เล็กน้อย ขนาดของเซลล์จะไม่คงที่ เซลล์อาจจะเป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือรวมกันอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบ บางครั้งมีลักษณะเป็นฝ้าเมื่อมีความเปียกชื้นหรือมีน้ำท่วมหรือแช่บริเวณผิวหน้า เมื่ออกจะมีลักษณะบางและเห็นไม่เด่นชัด เซลล์เดี่ยวๆแต่ละเซลล์จะมีรูปร่างเป็นรูปถ้วย คลอโรพลาสต์จะถูกหุ้มด้วย ไพรีนอยด์ เซลล์เดี่ยวๆทั้งโครงสร้างสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง และข้อมูล que แสดงรายละเอียดของโมเลกุลจะแสดงให้เห็นว่า *Chlorococcum* sp. มีหลายสายพันธุ์ การศึกษาโครงสร้างและส่วนประกอบของคลอโรพลาสต์ ผนังเซลล์ของซูโอสปอร์จะมีความแตกต่างจากโครงสร้างและส่วนประกอบของสิ่งที่ไม่เคลื่อนไหวนชนิดอื่นๆ เช่น สาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ แหล่งกำเนิดไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสจะแบ่งระหว่าง ซูโอสปอร์ที่ยาวขึ้น ไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสก็จะถูกปล่อยออกจากแหล่งกำเนิดที่ผนังเซลล์ หนวดทั้งสองเส้นจะสั้น ซูโอสปอร์ ในระยะแรกจะมีจุดตาและคอนแทรกไทล์แควิวโอลล์ก่อนจะมีการพัฒนาใหญ่ขึ้น เซลล์จะมีการเจริญเติบโตเป็นวงกลมหลังจากผ่านไปเป็นเวลาหลายวัน ถ้าสิ่งแวดล้อมขาดน้ำไซโกตจะถูกกลืนอย่างหนา เซลล์จะมีการพัฒนาระหว่างที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การดำรงชีวิตของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำและบนพื้นดินที่ประกอบด้วยความอุดมสมบูรณ์ดินที่ชื้นหรือเปียกหรือตามแหล่งน้ำ

**Chlorococcum**



ภาพที่ 1 ลักษณะของสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

ที่มา: [www.innovations-report.de/.../bericht-62079.html](http://www.innovations-report.de/.../bericht-62079.html) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่ายสีเขียว *Chlorococcum* sp.

แคโรทีนอยด์ คือ สีเหลืองและแดงที่มีอยู่มากในพืช และสัตว์เป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับแคโรทีน (carotene) ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ.1831 จากสีแดงของหัวแครอท(Carrot) ซึ่งมีแคโรทีนผสมอยู่ (<http://thaianimal.tripod.com/fish/fishpage/fishcolor.html>)

1. ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ แคโรทีนและแซนโทฟิลล์ ซึ่งมีโครงสร้างพื้นฐานเกิดจากไอซินอยด์ 8 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันเป็นวง หลังจากนั้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นแคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll)

1.1 แคโรทีนเป็นโมเลกุลของ acyclic  $C_{40}H_{56}$  carotene ซึ่งประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่ และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองปลายจะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะเรียงเป็นวงต่อกันที่เรียกว่า ionone ring เช่น เบต้า-แคโรทีน (ณัฐวุฒิ และคณะ , 2547)

1.2 แซนโทฟิลล์ เป็นโมเลกุลที่เกิดจากการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุลของแคโรทีน ชนิดที่พบกระจายตัวอยู่ในธรรมชาติมากที่สุดได้แก่ ลูทีน(lutein) ซีแซนทิน(zeaxanthin) อีจีนีโนน (echinenone) แคนทาแซนทิน(canthaxanthin) และแอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นต้น (ภาพที่ 2)

## 2. ส่วนประกอบของของแคโรทีนอยด์

ในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ได้ทำการตรวจสอบแคโรทีนอยด์โดยใช้เทคนิค HPLC (High-performance liquid chromatography) ซึ่งพบว่าเป็นแหล่งของ Ketocarotenoid และยังพบว่ามี astaxanthin (free และ ester), adonixanthin (free และ ester), cantaxanthin,  $\beta$ -carotene, lutein และ cis-isomers บางตัวของ Ketocarotenoid เป็นองค์ประกอบอยู่ (ตารางที่ 1) เซลล์ของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. สามารถสร้างแอสตาแซนทินได้เหมือนกับในเซลล์สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* ซึ่งมีแอสตาแซนทินเพียงอย่างเดียวเป็นแคโรทีนอยด์หลัก แอสตาแซนทินอาจจะสังเคราะห์ได้จาก  $\beta$ -carotene ผ่านทาง cantaxanthin และ adonixanthin ซึ่งเกิดจากการ antioxidation ที่รุนแรง (Jian-Ping Yaun et al. ,2002)

จากรายงานยังพบว่าในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. มีแอสตาแซนทินในรูป free astaxanthin และ astaxanthin esters ซึ่งส่วนของ free astaxanthin จะมีความสำคัญมากกว่า และยังพบว่าการเติม hydrogen peroxide มีผลต่อการสร้าง free trans-astaxanthin (Raymond and Chen, 2001)

### 3. สมบัติของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนจึงสามารถละลายในไขมันและตัวทำละลายไขมัน (lipid solvent) เช่น อะซิโตน (acetone) แอลกอฮอล์ (alcohol) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethylether) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีส่วนในการสังเคราะห์แสง โดยเป็นตัวช่วยในการถ่ายทอดพลังงานรังสีที่รับไปยังคลอโรฟิลล์ เป็นสารละลายได้ในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์ ละลายได้ดีในปิโตรเลียมอีเทอร์ ส่วนแซนโทฟิลล์ละลายได้ดีในเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 แซนโทฟิลล์จะละลายอยู่ในเมทานอล ส่วนแคโรทีนจะยังคงอยู่ในปิโตรเลียมอีเทอร์ แคโรทีนอยด์สังเคราะห์ทั่วไปส่วนใหญ่เป็นเบต้า-แคโรทีน มีน้ำหนักโมเลกุล 546.9 ให้สีม่วงแดง ถ้าอยู่ในสารละลายพวกไขมันจะให้สีเหลืองอ่อนถึงส้ม ถ้าอยู่ในสารละลายน้ำจะให้สีส้ม

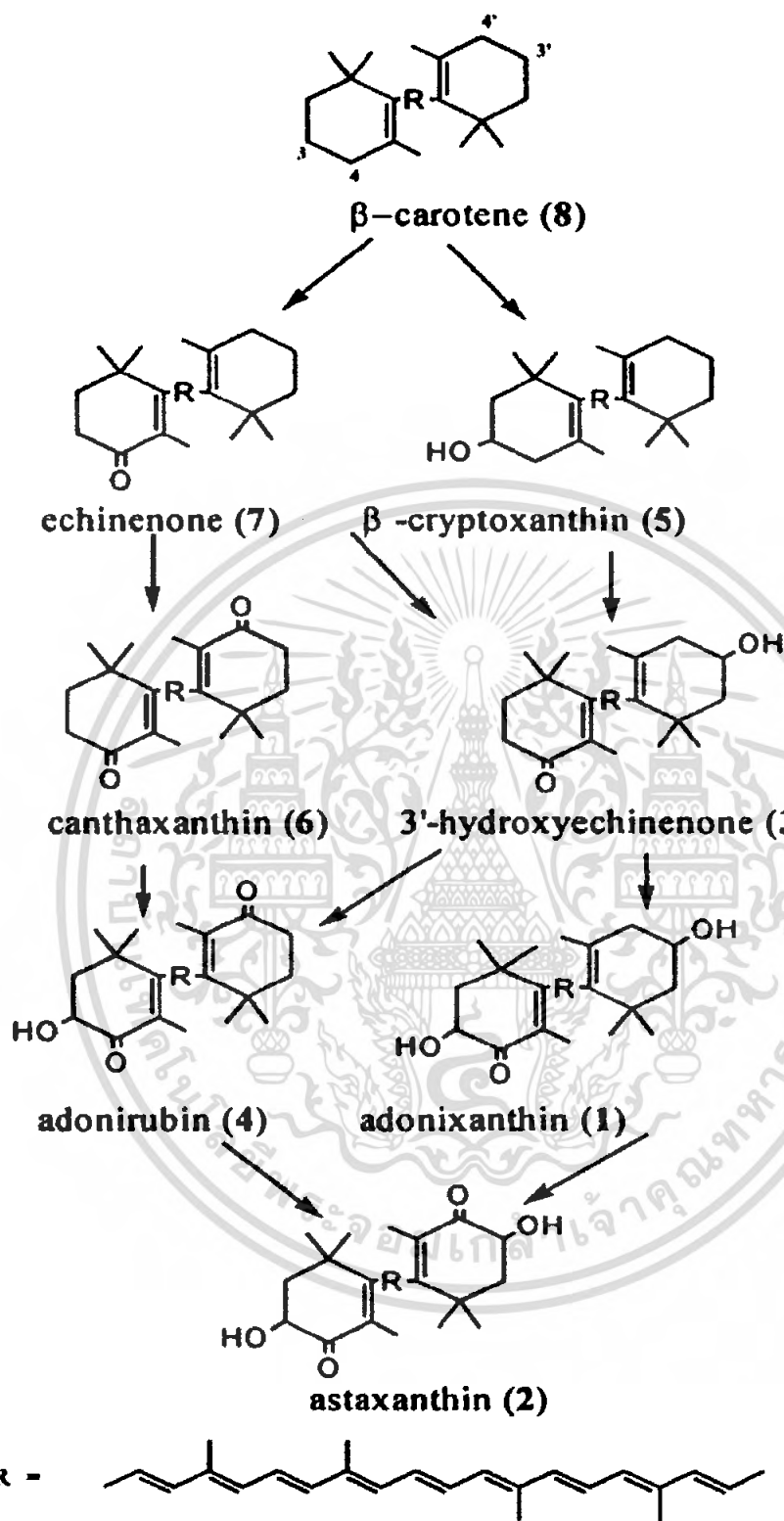
แคโรทีนอยด์พบได้ทั่วไปทั้งในพืชและสัตว์ แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้นมาเองได้ จึงต้องได้รับจากพืชหรือสัตว์ที่เป็นอาหารโดยตรงและสามารถเก็บเม็ดสีเอาไว้ในตัวของมันหรืออาจเปลี่ยนเป็นรงควัตถุรูปอื่นได้ รงควัตถุเหล่านี้อยู่ในพลาสติด (plastid) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลืองอมแดง โดยธรรมชาติจะดูดกลืนแสงสีน้ำเงินและเขียวได้ดีที่สุด (ภาพที่ 3) และจะปล่อยแสงสีเหลืองและแดงออกมาจึงเห็นเป็นสีเหลือง ส้ม หรือ แดง (ณัฐวุฒิ และคณะ , 2547)

### 4. หน้าที่ของแคโรทีนอยด์

4.1 การสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) แคโรทีนอยด์เป็นเม็ดสีที่ทำหน้าที่รับพลังงานแสง แล้วส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์ เอ ส่วนในพืชสีเขียวและสาหร่ายแคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่คลอโรฟิลล์ไม่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ความยาวคลื่นสูงกว่า 680 นาโนเมตร ในระบบรับแสงจะมีหน่วยรับพลังงานแสง ซึ่งประกอบด้วยรงควัตถุหลายชนิดทั้งแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ที่ทำงานร่วมกันในการรับพลังงานแสง แล้วส่งพลังงานนั้นเข้าสู่ศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction center) ซึ่งคือโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ ชนิดพิเศษชนิดหนึ่ง

4.2 การรับแสง (photoreception) กระบวนการมองเห็นภาพขึ้นอยู่กับกลุ่มเม็ดสีที่ไวต่อแสงคือ โรดอปซิน (rhodopsin) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างออปซิน (opsin) กับ 11-ซิส-เรตินัลดีไฮด์ (11-cis-retinaldehyde) โดยสารประกอบทั้งสองเป็นไอโซเมอร์ของ วิตามินเอ ซึ่งได้มาจากเบต้า-แคโรทีน ถ้าขาดวิตามินเอ ปริมาณโรดอปซินจะลดลง ทำให้เกิดภาวะมองเห็นในที่มืดหรือสลัว

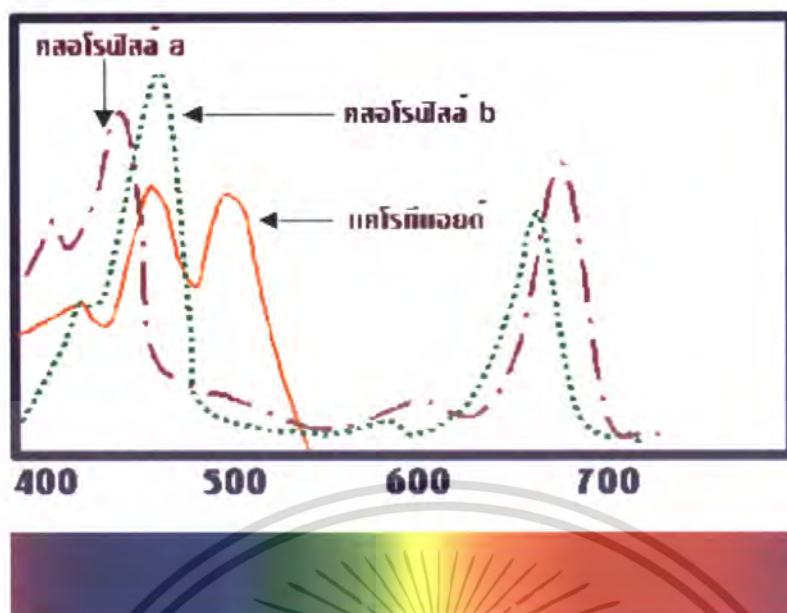
4.3 ทำให้เกิดสีในเนื้อเยื่อต่างๆ แคโรทีนอยด์สามารถทำให้เกิดสีขึ้นในเนื้อเยื่อต่างๆทั้งในสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เองและที่สังเคราะห์ไม่ได้ เมื่อสัตว์ได้รับแคโรทีนอยด์ปริมาณมากจะเกิดการสะสมที่ผิวหนัง เช่น ปลาเทราท์ จะสะสมลูทีนที่บริเวณผิวหนัง ไข่ และตับ (ณัฐวุฒิ และคณะ , 2547)



ภาพที่ 2 ขั้นตอนและโครงสร้างการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Chlorococcum* sp.

ที่มา : Liu and Lee. (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างกันของคลอโรฟิลล์ a,b และแคโรทีนอยด์  
ที่มา : <http://www.bbt.ac.th/html/StudentWork/sararak/18.html>

#### 5. การเก็บรักษาแคโรทีนอยด์

Baumfeind (1981) ได้กล่าวถึงวิธีการเก็บรักษาแคโรทีนอยด์ไว้ดังนี้

5.1 ป้องกันแคโรทีนอยด์จากแสงสว่าง ความร้อน และออกซิเจน แสงสว่างมีผลต่อแคโรทีนอยด์ 2 ประการคือ ประการแรกเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของซิล-ทรานส์ของพันธะคู่ ทำให้เปลี่ยนช่วงการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นผลต่อสมบัติการให้สีของแคโรทีนอยด์ ประการที่สอง เกี่ยวกับการออกซิไดซ์ของสายคาร์บอนอะตอมเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของโครมาโตฟอร์ทำให้แคโรทีนอยด์ไม่สามารถแสดงสีได้ สภาพดังกล่าวแก้ไขได้โดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA) หรือ butylated hydroxytoluene (BHT)

5.2 ป้องกันแคโรทีนอยด์จากกรดและด่าง ในสภาพที่เป็นกรดทำให้เกิดการสูญเสียความคงทนระหว่างคาร์บอนอะตอม เป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียแคโรทีนอยด์ทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ เมื่อแคโรทีนอยด์ถูกกับด่างทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพ หากใส่ด่างลงในแคโรทีนอยด์ที่เดิมมีสีแดง จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน เกิดเป็นสารอีกชนิดหนึ่งคือ violerythrin

5.3 ป้องกันแคโรทีนอยด์จากเอนไซม์ สีแดงในปลาบางชนิดหายไปขณะเก็บไว้ในตู้เย็นและในที่มืด ทั้งนี้เกิดจากเอนไซม์บางชนิดในตัวปลาถูกปล่อยออกมาและไปมีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์บางชนิด เช่น ทำให้แอสตาแซนทิน ฟูนาแซนทิน และเบต้า-แคโรทีนลดลงจนทำให้สีจางหายไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ช่วงเวลาที่ใช้ในการดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ และชนิดของแคโรทีนอยด์ในเซลล์  
สาหร่าย *Chlorococcum* sp.

Peak no.	Retention time (min)	Absorption maxima (nm)	Pigment
1	6.0	480.0	<i>Trans</i> -astaxanthin
2	6.6	(459.2) 469.2	Adonixanthin <sup>a</sup>
3	7.2	445.1 474.0	Lutein
4	14.1	479.4	Canthaxanthin
5	15.7	377.8 469.2	<i>Cis</i> -canthaxanthin
6	18.1	464.4 652.3	Chlorophyll <i>b</i>
6'	19.1	464.4 652.3	Chlorophyll <i>b'</i>
7	22.0	480.0	Astaxanthin esters
	22.5	(464.3) 474.0	Adonixanthin esters
8	23.6	435.4 663.6	Chlorophyll <i>a</i>
9	24.6	482.5	Astaxanthin esters
	25.1	(464.3) 474.0	Adonixanthin esters
10	28.8	482.5	Astaxanthin esters
	29.5	(464.3) 474.0	Adonixanthin esters
11	32.2	(464.3) 474.0	Adonixanthin esters
	33.5	355.4 464.4	<i>Cis</i> -adonixanthin esters
12	36.7	(464.3) 474.0	Adonixanthin esters
13	44.0	454.7 483.6	$\beta$ -Carotene

ที่มา : Jian-Ping Yaun et al. (2002)

## 6. ประโยชน์ของแคโรทีนอยด์

6.1 ใช้เป็นสีผสมอาหาร โดยเฉพาะเบต้า-แคโรทีน ใช้ผสมในอาหารประเภทไขมันต่างๆ เช่น เนยแข็ง เนยเหลว น้ำมันพืช และผลิตภัณฑ์หมักกะโรนี เป็นต้น เบต้า-แคโรทีนที่ถูกปรับปรุงและสังเคราะห์คือ แคนทาแซนทิน และอะโปแคโรทีนอยด์ ซึ่งสามารถละลายหรือกระจายตัวในน้ำได้

6.2 เป็นโปรวิตามิน เอ เบต้า-แคโรทีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามิน เอ ที่สำคัญที่สุด สามารถใช้ในการปรับสภาพและป้องกันการขาดวิตามิน เอ

6.3 ในทางเภสัชกรรม จะใช้เบต้า-แคโรทีน และแคนทาแซนทินเป็นสีผสมในน้ำตาลที่เคลือบบนเม็ดยาผสมลงเจลลาตินที่ใช้ทำแคปซูล และยังพบอีกว่าแอสตาแซนทินสามารถช่วยปกป้องผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งก่อให้เกิดโรคมะเร็งและเพิ่มการต่อต้านการติดเชื้อจากไวรัสแบคทีเรีย และพาราสิต (ณัฐวุฒิ และคณะ , 2547)

## 7. การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายขนาดเล็กมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยการแบ่งเซลล์จะมีช่วงการเจริญเติบโตอยู่ 6 ช่วงดังนี้

### 7.1 Lag phase

เป็นระยะที่สาหร่ายมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะนี้จึงไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ (ทิฆัมพร, 2527)

### 7.2 Acceleration phase

ระยะนี้จำนวนเซลล์สาหร่ายมีการเปลี่ยนแปลงโดย RNA เป็นองค์ประกอบแรกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น ต่อมาปริมาณโปรตีนและน้ำหนักร่างมีการเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนเซลล์มีการเพิ่มขึ้นเป็นอันดับสุดท้าย (Vonshak and Maske, 1982)

### 7.3. Exponential phase

เป็นช่วงที่สาหร่ายมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว มีเมตาบอลิซึมสูงสุด จึงมีอัตราการเจริญสูงสุดและเป็นอัตราการเจริญที่คงที่ (ทิฆัมพร, 2527 ; Vonshak and Maske, 1982)

### 7.4 Deceleration phase

เป็นช่วงที่การเจริญของสาหร่ายเริ่มมีการเพิ่มขึ้นน้อยลง เนื่องจากมวลของสาหร่ายมีความหนาแน่นมากขึ้น เกิดการบดบังแสงกันเอง ทำให้แต่ละเซลล์ได้รับแสงน้อยลง อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงตามลำดับ (Richmond, 1983)

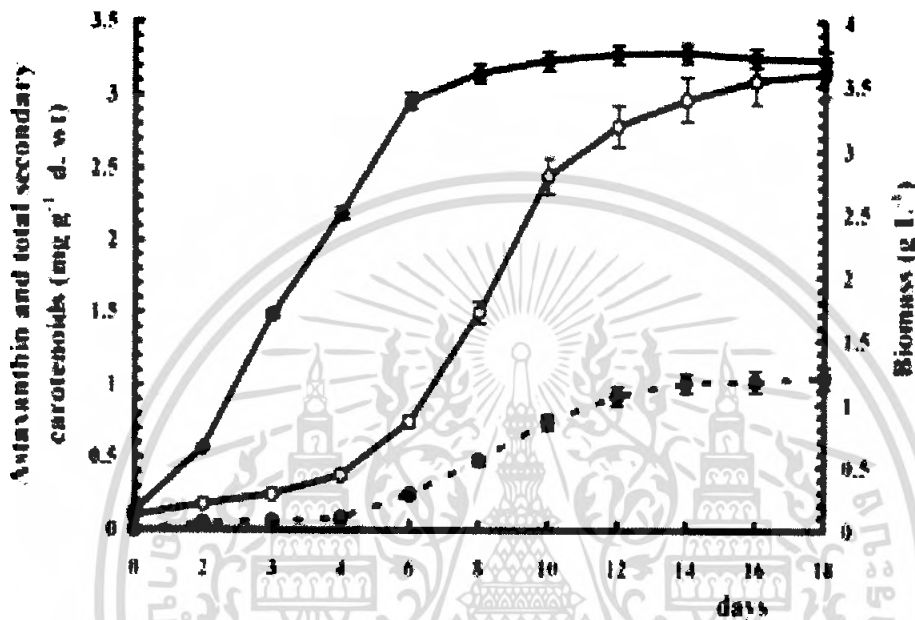
### 7.5 Stationary phase

เป็นช่วงที่ปริมาณสาหร่ายคงที่ แต่องค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์บางอย่างอาจมีปริมาณเพิ่มขึ้นหรือลดลง ช่วงการเจริญเติบโตนี้เกิดจากการขาดแคลนแร่ธาตุอาหารที่สำคัญ การขาดแคลนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การยับยั้งการเจริญเติบโตที่สาหร่ายปล่อยออกมา การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในอาหาร การได้รับแสงไม่เพียงพอ เนื่องจากความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย (Vonshak and Maske, 1982)

### 7.6 Death phase

ระยะนี้มีมวลของสาหร่ายเริ่มลดจำนวนลง เนื่องจากอัตราส่วนการหายใจต่อการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นจนมีค่ามากกว่าหนึ่ง หรือเนื่องจากมีการตายของเซลล์สาหร่าย (Vonshak and Maske, 1982)

นอกจากนี้ Zhang et al.,(1997) ได้ทำการศึกษาพบว่า ในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. จะมีการสังเคราะห์แอสตาแซนทินและแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆภายใต้สภาวะที่ให้แสง โดยมีการเจริญเติบโตและพบการสะสมตัวของสารสีเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 8-16 โดยวันที่ 16 จะมีปริมาณแอสตาแซนทินและแคโรทีนอยด์ถึง 1.06 และ 3.1 มิลลิกรัม/กรัม/น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ระยะการเจริญเติบโตและการสะสมของจำนวนเซลล์ (—○—), secondary carotenoid (—□—) และastaxanthin(—●—)ในสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ  
ที่มา : Zhang et al.(1997)

## ปลาทอง

ปลาทองจัดอยู่ใน Family Cyprinidae ชื่อสามัญ Goldfish ชื่อภาษาญี่ปุ่น Kin gyo (กิน กโย) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Carassius auratus* มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและญี่ปุ่น ต่อมาถูกนำไปเลี้ยงในยุโรปเมื่อศตวรรษที่ 17 และถูกนำไปเผยแพร่ในอเมริกาในศตวรรษที่ 19 ชาวจีนและชาวญี่ปุ่นรู้จักผสมพันธุ์ปลาทองมานานแล้ว และได้ปลาทองลูกผสมที่น่าสนใจ มีสีหลากหลายตั้งแต่สีแดง สีทอง สีส้ม สีเทา สีดำและสีขาว ปลาทองอาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำธรรมชาติจนกระทั่งมีชาวจีนบางคนได้จับมาเลี้ยงตามบ่อ เนื่องจากมีสีสันแปลกตาสร้างความเพลิดเพลินใจได้เป็นอย่างดี จึงเลี้ยงสืบต่อกันมาเรื่อยๆ ทำให้มีการพัฒนาเรื่อยมาประกอบกับความนิยมเลี้ยงที่มีมากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้ปลาทองที่เลี้ยงมีรูปร่างหน้าตาแปรเปลี่ยนไป ปลาทองถูกมนุษย์เลี้ยงมาตั้งแต่อดีตประมาณ พ.ศ. 1161-1450 หรือนับเป็นพันปีมาแล้ว ปลาทองในสภาพธรรมชาติที่ไม่ได้ถูกมนุษย์นำมาเลี้ยงนั้นก็พัฒนาตัวเอง สืบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทอดลายพันธุ์มาจนถึงปัจจุบัน ซึ่งมีลักษณะแตกต่างจากเดิมมาก เมื่อพิจารณาดูจะพบว่าปลาใน ปลาตะเพียนทั้งหลายต่างก็อยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาทอง



ภาพที่ 5 ลักษณะทั่วไปของปลาทอง

ที่มา: [www.platongclub.com](http://www.platongclub.com).

ปลาทองที่มีชื่อเรียกทั่วไปต่างก็มีความหมายรวมถึงปลาทองทุกชนิดพันธุ์ตั้งแต่พันธุ์ธรรมดาสามัญ (common goldfish) จนถึงปลาทองพันธุ์ใหญ่ๆ ที่มีรูปร่างสีสันสวยงามต่างๆ (fancy goldfish) สำหรับปลาทองที่ถูกลักษณะตามความสวยงามจะมีหัวที่กว้างและสั้น ปากเล็ก ตาสดใส ลำตัวที่หลังและที่ท้องโค้ง ครีบหลังเริ่มต้นตรงส่วนที่สูงสุดของสันหลัง เกิดเป็นเงางาม ส่วนสีของปลาพวกที่มีเกิดขึ้นนั้นก็ต่างกันไป ซึ่งตามปกติที่เป็นที่นิยมกันมากก็คือสีแดงเข้มที่มักเรียกกันว่า "ทอง" สีขาวที่มักเรียกว่า "ไข่มุก" และปลาที่มีสีดำคล้ายควีนไฟที่มักเรียกว่า "ปลาเงิน" (ชาติ, 2534) Watson et al., (2004) ได้ทำการสำรวจพบว่า เมื่อมีขนาดโตเต็มที่ที่มีความยาวได้ถึง 58 ซม. และมีน้ำหนัก 6 ปอนด์ (2.7 กิโลกรัม) หรือมากกว่านั้น สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ถึง 30 ปีหรือมากกว่านั้น อาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิค่อนข้างเย็น และยังสามารถอาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างได้

### สาเหตุการเกิดของสี

ในปลาแต่ละชนิดนั้นอาจจะมีความแตกต่างกันไป แต่ส่วนใหญ่แล้วเม็ดสีสำคัญที่พบในผิวหนังและกล้ามเนื้อ (รวมทั้งอวัยวะอื่นๆ ด้วย) คือ เม็ดสีเมลานิน (melanin) ซึ่งเป็นสีดำ ปลาสามารถสร้างเมลานินขึ้นได้เองในตัวเอง เมลาเนียนี้ถูกสร้างจากกรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งเรียกว่าทริโชนีนขึ้นภายในตัวปลา มีสีเป็นสีน้ำตาลเข้มและดำ เมลาเนียนี้อยู่ใต้ผิวหนังลึกจะเห็น เป็นสีน้ำตาลอ่อน ทริโชนีนี้อยู่ในสาหร่ายสปรูลิโน และในโปรตีนของวัตถุดิบทำอาหารปลาประเภทปลาป่น ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องให้อาหารเร่งสีดำเป็นพิเศษ แต่อย่างไรก็ตามถ้าระบบเอนไซม์ (enzyme) ในตัวปลาเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาดเหนาไปไซประโยชน์ดานการค้ำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผิดปกติ ถึงแม้ในอาหารที่มีทีโรซีนก็ตาม จะไม่เปลี่ยนเป็นเมลานิน สีปลาจะกลายเป็นสีเขียว ส่วนสีขาวเป็นส่วนที่ไม่มีแคโรทีนอยด์และเมลานิน การให้อาหารเร่งสีจะไม่ทำให้พื้นสีขาวปะปนกับสีเหลือง ส่วนความเงาวาวของเกล็ดปลา เกิดจากการสะท้อนแสงของโมเลกุลกับแก้วนิน แก้วนินนี้ปลาสามารถสร้างขึ้นได้ภายในตัวมันเองจึงไม่จำเป็นต้องให้อาหารกระตุ้นให้เกิดความเงาวาว และเม็ดสีที่มีความสำคัญสุดคือแคโรทีนอยด์ มีสีเหลืองจนถึงแดงสด แต่เมื่อไปรวมกับโปรตีนต่างๆ เรียกว่า "คาโรทีโนโปรตีน" ซึ่งทำให้เกิดสีหลากหลาย ตั้งแต่สีฟ้า น้ำเงิน ม่วง จนถึงสีเขียว เมื่อปลาได้รับสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ตัวใดตัวหนึ่ง เช่น แอสตาแซนทินหรือแคนทาแซนทินก็จะถูกเมตาบอลิซึมในตัวปลา กลายเป็นสารสีในที่สุดและไปสะสมในผิวหนังของปลา (ปลาทอง ปลาการ์ฟ ปลาหมอสี และอื่นๆ) หากมีปริมาณที่สูงก็จะทำให้ได้สีสดใส แต่ปลาบางชนิดจะนำไปสะสมที่กล้ามเนื้อแทน เช่น ปลาแรลมอน ซึ่งทำให้เนื้อเป็นสีเหลืองหรือบางตัวก็มีสีแดงสด

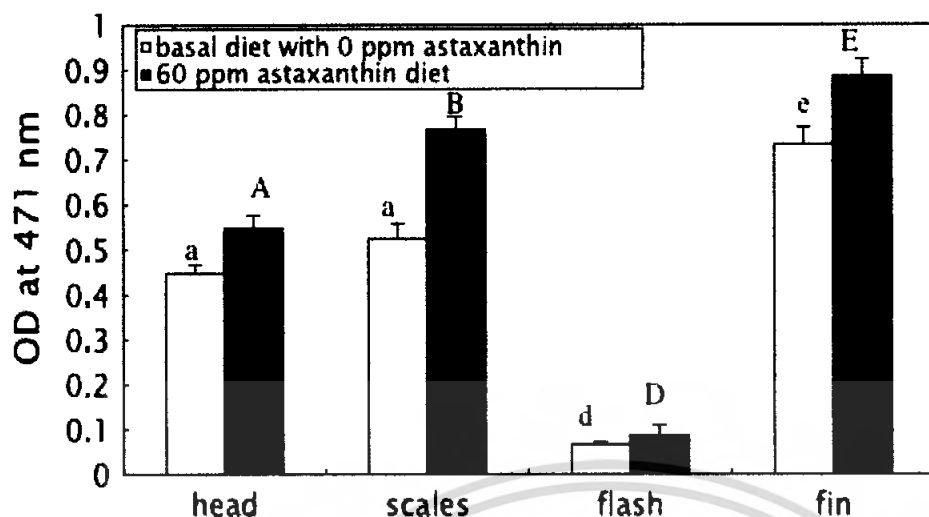
จากรายงานการศึกษายังพบอีกว่า แคโรทีนอยด์ไม่สามารถจับกับโปรตีนเมื่อถูกความร้อน ยกตัวอย่างเช่นปู ปกติจะเป็นสีม่วง หรือเกือบดำ เกิดจากแคโรทีนอยด์ไปจับกับโปรตีนเช่นกัน แต่เมื่อได้รับความร้อนทำให้เกิดการแยกตัวออกจากกัน และเห็นเพียงสีของแคโรทีนอยด์เป็นสีเหลืองจนถึงแดง ซึ่งปริมาณสารสีในธรรมชาติที่พบในสัตว์แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันไป จึงจำเป็นต้องให้สารสีเพิ่มจากภายนอกในรูปของอาหารเร่งสี (ตารางที่ 2)

### **ปัจจัยที่สำคัญต่อการพัฒนาสีปลา**

ปัจจัยสำคัญที่มีผลเกี่ยวข้องกับสีของปลา ได้แก่ คุณภาพของพันธุ์ปลา คุณภาพน้ำ อุณหภูมิ แสงแดด สภาพบ่อเลี้ยง บ่อกรองและอาหาร นอกจากนี้ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ที่มีผลต่อการพัฒนาสีของปลาทองแล้ว ยังมีการนำสารสีแอสตาแซนทินมาประยุกต์ใช้กับปลาทอง เช่น การใช้แอสตาแซนทินจากยีสต์แดง มีผลทำให้ปลาทองมีสีเข้มขึ้น และการจะทำให้เกิดประสิทธิภาพที่ดีนั้นจะต้องได้รับสารสีในปริมาณที่เหมาะสม

### **การใช้แอสตาแซนทินจากยีสต์แดง**

Xu et al., (2006) ได้ทำการศึกษาการใช้แอสตาแซนทินจากยีสต์แดงโดยผสมแอสตาแซนทินในอาหารที่ระดับความเข้มข้น 0 mg และ 60 mg/kg นำไปทดสอบกับปลา 3 กลุ่ม จากนั้นทำการสุ่มปลาตรวจสอบกลุ่มละ 3 ตัวโดยแบ่งการตรวจสอบออกเป็น 3 ส่วนคือส่วนหัว ส่วนลำตัว และส่วนครีบหาง เพื่อดูการตกตะกอนของรงควัตถุสี พบว่าการใช้แอสตาแซนทินที่ระดับความเข้มข้น 60 mg/kg เมื่อเทียบกับอาหารปกติที่มีระดับความเข้มข้น 0 mg/kg มีผลทำให้เม็ดสีมีการสะสมที่ทางมากที่สุดรองลงมาคือ ที่เกล็ด และส่วนหัวตามลำดับ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบการกระจายตัวของสีในส่วนต่างๆของปลาระหว่างอาหารปกติกับอาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทิน

ที่มา : Xu et al.(2006)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสีของชนิดอาหารเสริมที่ได้จากธรรมชาติ

ชนิดอาหารเสริม	สารประกอบเม็ดสี	ปริมาณ(mg/kg)
พวกไรน้ำ	astaxanthin	39-84
น้ำมันจากไรน้ำ	astaxanthin	520
กุ้งสด หรือแช่แข็ง	astaxanthin	1160
เปลือกกุ้ง	astaxanthin	60-128
น้ำมันกุ้ง	astaxanthin	1095
ปูแช่แข็ง	astaxanthin	76
เคย	astaxanthin	22-130
น้ำมันเคย	astaxanthin	727
น้ำมันปลา	astaxanthin	6-94
สารละลายโปรโรไรนา(แห้ง)	beta carotene	434
อาหารสังเคราะห์ชนิด	astaxanthin	50000
อาหารสังเคราะห์ชนิด	canthaxanthin	100000

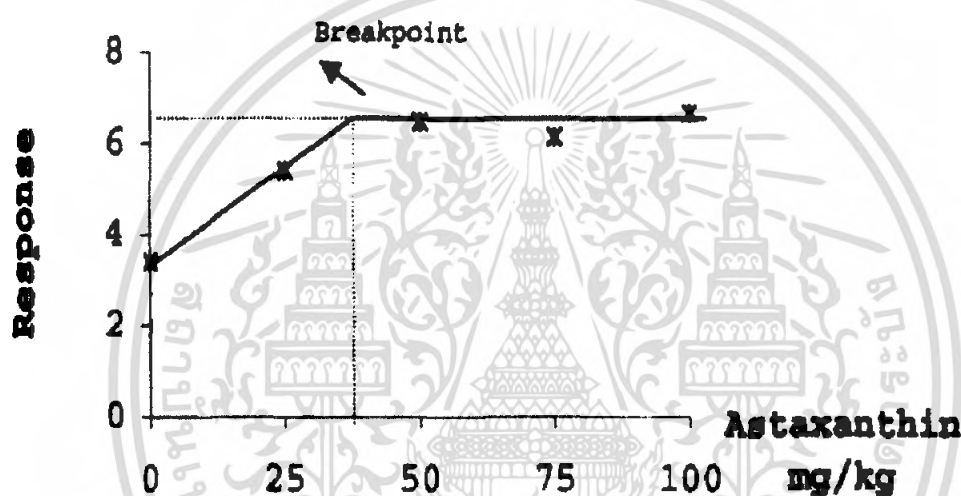
ที่มา : www.epofclinic.com.

<http://thaianimal.tripod.com/fish/fishpage/fishcolor.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การใช้แอสตาแซนทินในระดับที่เหมาะสม

Paripatananont et al., (1999) ได้ทำการศึกษาระดับของแอสตาแซนทินที่เหมาะสมต่อการเกิดสีในปลาทอง โดยแบ่งปลาออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว น้ำหนักประมาณ 10 กรัม จากนั้นให้อาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทินที่ระดับ 0-100 mg/kg เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยจะสุ่มปลาแต่ละกลุ่มมาตรวจสอบและวัดสีที่ได้ขึ้นผิวหนังซึ่งพบว่ากระบวนการสร้างเซลล์สีจะถูกกระตุ้นให้มีการพัฒนาการสร้างสีได้ดีหลังจากได้รับปริมาณแอสตาแซนทินที่อยู่ในช่วง 0-40 mg/kg และระดับที่เหมาะสมที่สุดคือ 36-37 mg/kg แต่ถ้ามีการเพิ่มปริมาณแอสตาแซนทินในระดับที่มากกว่า 40 mg/kg การให้สีก็จะไม่เกิดประสิทธิภาพใดๆ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 การเพิ่มระดับของแอสตาแซนทินที่ 0-100 mg/kg และระดับที่เหมาะสมต่อการเกิดสีคือ 36-37 mg/kg

ที่มา: Paripatananont et al.(1999)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. สาหร่าย *Chlorococcum* sp. รหัส 8438
2. บัวยุตรอาหาร BG-11 medium
3. ขวดน้ำเกลือขนาด 1 L
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL
5. หลอดทดลอง 50 หลอดพร้อม rack 1 อัน
6. Volumetric flask ขนาด 1 L
7. บีกเกอร์ ขนาด 1 L
8. บั้มลม 2 เครื่อง
9. ท่อลม
10. แท่งแก้วแตก
11. เครื่อง centrifuge
12. เครื่อง spectrophotometer
13. เครื่อง autoclave
14. เครื่องชั่งสาร
15. เครื่อง hot air oven
16. เครื่อง suction pump
17. โหลดูดความชื้น(dessicator)และกระดาษกรอง GF/C
18. ถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร จำนวน 12 ใบ
19. เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์, diethyl ether
20. เม็ดพลาสติกทรงกลม (glassbead)
21. สารละลายอะซีโตน 90 เปอร์เซ็นต์
22. กรวยแยกสารขนาด 250 มิลลิลิตร
23. Screw cap test tube
24. เครื่อง water bath
25. กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

26. ตัวกรองสำเร็จรูปแบบกล่อง 12 อัน
27. สายยาง
28. ข้อต่อสายอากาศ
29. เกลีส
30. ถังพลาสติกใส
31. หัวทราย
32. เทอร์โมมิเตอร์
33. กล้องถ่ายรูป
34. เครื่องวัดสี Chromameter ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR-10
35. ถังพลาสติกขนาดเล็ก
36. ยาสลบ
37. น้ำกลั่น
38. ขวดสีชา
39. ถาดอะลูมิเนียม
40. ไม้บรรทัด
41. อาหารปลาไฮเกรตขนาดเล็ก โปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์
42. ปลาทองน้ำหนักประมาณ 2.5 กรัม

## วิธีการ

### แผนการทดลอง

แผนการทดลองแบบสุ่มทดลองสมบูรณ์ (Complete randomized design ; CRD) ความเข้มข้นของรงควัตถุที่สกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร ระดับละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่มีการเสริม *Chlorococcum* sp. ในอาหาร)

ชุดการทดลองที่ 2 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 10 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 20 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการทดลอง

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* sp. และการเก็บเกี่ยว

1.1 สาหร่าย *Chlorococcum* sp. รหัส 8438 เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร BG-11 pH 7.4 โดยใช้น้ำกรองที่อบฆ่าเชื้อแล้ว (121 องศาเซลเซียส 15 นาที) เลี้ยงในหลอดทดลองโดยมีหัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้น 10% เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง (เขย่าวันละ 2 ครั้ง) เมื่อเซลล์สาหร่ายเพิ่มจำนวนมากขึ้น (ประมาณ 1 สัปดาห์) จึงทำการขยายเซลล์สาหร่ายใส่ขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร โดยมีการให้อากาศและตั้งให้ได้รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง ปิดปากขวดด้วยสำลีและอลูมิเนียมฟอยด์เพื่อป้องกันการปนเปื้อน เลี้ยงสาหร่ายอีกประมาณ 1 สัปดาห์

1.2 ทำการเก็บเซลล์สาหร่าย *Chlorococcum* sp. โดยรวบรวมเซลล์ที่ตกตะกอนมาเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เทของเหลวด้านบนทิ้ง เก็บเซลล์ด้านล่าง โดยการแช่แข็งและไม่ให้ถูกแสงจนกว่าจะนำมาใช้ทดลอง

1.3 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสีคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยง

## 1.3.1 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์

1.3.1.1 ตักน้ำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงขึ้นมา 1 ลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาด 5 ไมครอน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จนแน่ใจว่าไม่มีน้ำเหลือค้างอยู่

1.3.1.2 บดกระดาษกรองด้วยที่บดให้เนื้อเยื่อละเอียด แล้วเติมอะซิโตน 90 เปอร์เซ็นต์ที่ลดน้อยลงในภาชนะที่ใช้บดจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

1.3.1.3 ถ่ายตัวอย่างทั้งหมดลงในหลอด centrifuge สีขาวหรือหลอดที่บดแสง เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง

1.3.1.4 นำตัวอย่างในหลอด centrifuge มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3500 รอบ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ค่อยๆดูดสารละลายที่มีสีด้านบนคือคลอโรฟิลล์และรงควัตถุอื่นๆที่ละลายอยู่ในอะซิโตนออกมาวัดการดูดกลืนแสง ระวังอย่าให้รบกวนตะกอนด้านล่าง

1.3.1.5 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750, 663, 645, 630 nm นำมาคำนวณโดยหักลบค่าความขุ่นจาก 750 nm ก่อน แล้วคำนวณตามสูตร

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/L}) = \frac{[11.64 (\text{Abs}663) - 2.16 (\text{Abs}645) + 0.1 (\text{Abs}630)]E(F)}{V(L)}$$

V(L)

F = Dilution factor (ถ้า Abs663 มากกว่า 0.99 ควรทำการเจือจางตัวอย่างก่อนวัด)

E = ปริมาตรของอะซิโตนที่ใช้ในการสกัด (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงแก้ไขข้อมูลหรืออ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$V$  = ปริมาตรของน้ำที่ใช้กรอง (ลิตร)

$L$  = ความกว้างของเซลล์ที่ใช้วัด (เซนติเมตร)

### 1.3.2 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์

1.3.2.1 ชั่งสาหร่ายสด 1.00 กรัม ลงใน screw cap test tube เต็มอะซีโตน 25 มิลลิลิตร

1.3.2.2 นำตัวอย่างแช่ลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที แล้วนำออกแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็งทันที ทิ้งไว้ 3 นาที

1.3.2.3 นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบ นาน 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสด้านบนออกเก็บในที่มืดและเย็น ส่วนตะกอนด้านล่างเติมอะซีโตนอีก 25 มิลลิลิตร ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง จนกระทั่งส่วนตะกอนใสไม่มีสี

1.3.2.4 เมื่อทำการปั่นแยกตะกอนออกแล้ว นำส่วนใสทั้งหมดรวมกัน ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask แล้วถ่ายลงในกรวยแยกสารขนาด 250 มิลลิลิตร

1.3.2.5 เติม diethyl ether ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงผสมกันในกรวยแยกแกว่งเบาๆ เพื่อให้สารละลายแยกชั้น (ห้ามเขย่าเพราะจะทำให้เกิดการแตกตัว) ทิ้งไว้ 2-3 นาที สารละลายจะแยกชั้น จากนั้นปล่อยส่วนล่างทิ้ง

1.3.2.6 ชั้นบนซึ่งเป็นชั้นที่มีแคโรทีนอยด์ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง แล้วถ่ายลงในกระบอกตวง บันทึกปริมาตร

1.3.2.7 นำตัวอย่างแคโรทีนอยด์ที่แยกได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย UV/Vis ที่ความยาวคลื่น 350-550 นาโนเมตร ใช้อะซีโตนเป็น Blank ถ้าค่าที่ได้เกินกว่า 0.9 ต้องเจือจางตัวอย่างด้วยอะซีโตน ปิดฝา cuvette ทุกครั้งที่วัด

## 2. การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงปลาทอง

2.1 เตรียมการสกัดโดยนำสาหร่ายสดหนัก 50 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์เย็น 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร เทลงขวดพลาสติกที่เตรียมไว้ จากนั้นใส่เม็ดพลาสติกทรงกลมลงไป เขย่าจนเซลล์แตก(เซลล์จะมีสีซีด) ประมาณ 10-15 นาที ระวังขวดจะละลายอยู่ในแอลกอฮอล์

2.2 กรองส่วนใสนำไปฉีดพ่นเคลือบกับอาหารไฮดรอลิกขนาดเล็ก 100 กรัม โดยที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ใช้สาหร่าย *Chlorococcum* sp. 5 กรัม ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ใช้สาหร่าย *Chlorococcum* sp. 10 กรัม และที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ใช้สาหร่าย *Chlorococcum* sp. 20 กรัม ทิ้งอาหารที่ผสมไว้จนแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เก็บอาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. แล้วห่ออะลูมิเนียมฟลอยด์ให้มิดชิดนำไปเก็บรักษาในช่องแช่เย็นปกติที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเลี้ยงปลาของด้วยอาหารผสมรควัตถุที่ได้จากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. สด

3.1 เตรียมน้ำในถังขนาด 20 ลิตร จำนวน 12 ถัง ใส่ตัวกรองสำหรับกรองของเสียถังละ 1 ตัว ทำการให้อากาศแต่ละถังโดยการต่อตัวกรองเข้ากับปั๊มลม

3.2 นำปลาทองจุ่มต่างหีบหีบที่ความเข้มข้น 5 ppm ประมาณ 30 วินาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคและปรสิตที่ติดมากับปลาทดลอง

3.3 ปล่อยปลาทดลองถังละ ถังละ 20 ตัว (น้ำหนักประมาณ 2.5 กรัม)

3.4 ให้อาหารทุกวัน วันละ 2 ครั้ง (3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว) โดยอาหารที่ให้แต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นพร้อมทั้งตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิ น้ำ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 8 สัปดาห์

#### การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับการเจริญเติบโต เช่น น้ำหนัก และความยาวตัว ซึ่งเก็บข้อมูลก่อนทำการเลี้ยงและหลังจากนั้นทุก 2 สัปดาห์ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

2. บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับสีบนตัวปลาโดยทำการวัดความเข้มสีบริเวณส่วนลำตัวด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR-10 ก่อนการทดลองและทุก 2 สัปดาห์ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้อันวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS for Window version 15.0

#### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการปลาสวยงาม ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

#### ระยะเวลาในการทดลอง

พฤษภาคม 2550 – เมษายน 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. ผลของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ต่อการเจริญเติบโตของปลาทอง

จากการทดลองพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักสุดท้ายของปลาทอง และความยาวตัวของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ระดับต่างๆกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 3 และ 4)

เมื่อครบ 8 สัปดาห์น้ำหนักสุดท้ายของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ  $4.45\pm 0.62$ ,  $4.96\pm 0.30$ ,  $5.74\pm 0.45$  และ  $5.09\pm 0.48$  กรัม ตามลำดับ ความยาวตัวของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ  $5.36\pm 0.18$ ,  $5.67\pm 0.24$ ,  $5.90\pm 0.13$  และ  $5.53\pm 0.20$  กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 3 น้ำหนักของปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. ระดับต่างๆ

อาหารผสมสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. (%)	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
0	$1.70\pm 0.14^a$	$2.83\pm 0.12^a$	$3.30\pm 0.33^a$	$3.81\pm 0.27^a$	$4.45\pm 0.62^a$
10	$2.03\pm 0.11^a$	$3.32\pm 0.53^a$	$3.59\pm 0.04^a$	$3.84\pm 0.07^a$	$4.96\pm 0.30^a$
20	$1.95\pm 0.03^a$	$2.65\pm 0.10^a$	$3.39\pm 0.25^a$	$4.23\pm 0.45^a$	$5.74\pm 0.45^a$
40	$1.94\pm 0.09^a$	$3.23\pm 0.03^a$	$3.40\pm 0.39^a$	$4.51\pm 0.37^a$	$5.09\pm 0.48^a$

\*อักษรที่ไม่ต่างกันแถวเดียวกัน หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### 2. ผลของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของปลาทอง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีผิวปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงสีผิวบริเวณลำตัวด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ซึ่งอ่านค่าในระบบ CIE L a\* b\* ทุกๆ 2 สัปดาห์ จนกระทั่งครบ 8 สัปดาห์ โดยค่า L คือความสว่างของสี ค่า a\* คือความเข้มของสีแดง และค่า b\* คือความเข้มของสีเหลือง

**ตารางที่ 4** ความยาวตัวของปลาทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. ระดับต่างๆ

อาหารผสมสำหรับราย	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
<i>Chlorococcum</i> sp. (%)					
0	3.21±0.16 <sup>a</sup>	4.37±0.06 <sup>a</sup>	4.92±0.04 <sup>a</sup>	4.98±0.18 <sup>a</sup>	5.36±0.18 <sup>a</sup>
10	3.34±0.27 <sup>a</sup>	4.54±0.33 <sup>a</sup>	4.83±0.08 <sup>a</sup>	4.98±0.11 <sup>a</sup>	5.67±0.24 <sup>a</sup>
20	3.26±0.16 <sup>a</sup>	4.23±0.05 <sup>a</sup>	5.03±0.07 <sup>a</sup>	5.31±0.32 <sup>a</sup>	5.90±0.13 <sup>a</sup>
40	3.19±0.11 <sup>a</sup>	4.69±0.02 <sup>a</sup>	4.93±0.20 <sup>a</sup>	5.20±0.17 <sup>a</sup>	5.53±0.20 <sup>a</sup>

\*อักษรที่ไม่ต่างกันแถวเดียวกัน หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### 2.1 ค่าความเข้มของสีแดงบริเวณลำตัว ( $a^*$ ) ของปลาทอง

ผลของค่าความเข้มของสีแดงบริเวณลำตัว ( $a^*$ ) มีค่าความเข้มของสีแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 5)

ในสัปดาห์ที่ 2 ค่าความเข้มของสีแดงในชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าความเข้มของสีแดงมากที่สุดคือ  $11.06\pm 0.75$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) กับชุดการทดลองที่ให้อาหารเสริม *Chlorococcum* sp. 20 เปอร์เซ็นต์

ในสัปดาห์ที่ 4 ทำการวัดค่าความเข้มของสีแดงในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีแดงมากที่สุดคือ  $13.27\pm 0.51$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) กับชุดการทดลองที่ให้อาหารเสริม *Chlorococcum* sp. 20 เปอร์เซ็นต์

ในสัปดาห์ที่ 6 ทำการวัดค่าความเข้มของสีแดงในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีแดงมากที่สุดคือ  $13.86\pm 0.59$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) กับชุดควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

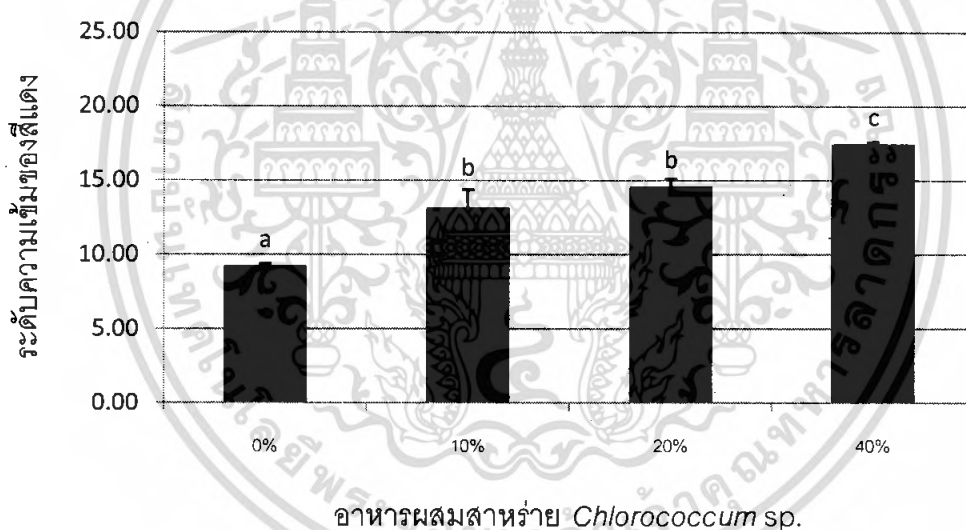
ในสัปดาห์ที่ 8 ทำการวัดค่าความเข้มของสีแดงในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีแดงมากที่สุดคือ  $17.41\pm 0.19$

โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ระดับความเข้มของสีแดงบนผิวปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง

อาหารผสมสำหรับราย	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
<i>Chlorococcum</i> sp. (%)					
0	8.03±0.72 <sup>a</sup>	8.43±0.21 <sup>a</sup>	9.18±0.42 <sup>a</sup>	9.07±0.12 <sup>a</sup>	9.18±0.21 <sup>a</sup>
10	8.20±0.03 <sup>a</sup>	8.55±0.19 <sup>a</sup>	9.96±0.44 <sup>a</sup>	12.78±1.28 <sup>b</sup>	13.12±1.26 <sup>b</sup>
20	8.23±0.09 <sup>a</sup>	10.47±0.06 <sup>b</sup>	11.98±0.93 <sup>b</sup>	13.44±0.78 <sup>b</sup>	14.54±0.55 <sup>b</sup>
40	8.31±0.19 <sup>a</sup>	11.06±0.75 <sup>b</sup>	13.27±0.51 <sup>b</sup>	13.86±0.59 <sup>b</sup>	17.41±0.19 <sup>c</sup>

\*อักษรที่ไม่ต่างกันแถวเดียวกัน หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )



ภาพที่ 8 ระดับความเข้มของสีแดงบนผิวปลาในแต่ละชุดการทดลอง

## 2.2 ค่าความเข้มของสีเหลืองบริเวณลำตัว (b\*) ของปลาทอง

ผลของค่าความเข้มของสีเหลืองบริเวณลำตัว (b\*) มีค่าความเข้มของสีเหลืองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนถึงชุดการทดลอง (ตารางที่ 6)

ในสัปดาห์ที่ 2 ค่าความเข้มของสีเหลืองในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. และชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสัปดาห์ที่ 4 ทำการวัดค่าความเข้มของสีเหลืองในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีเหลืองน้อยที่สุด คือ  $28.20 \pm 0.22$  โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับชุดควบคุม

ในสัปดาห์ที่ 6 ทำการวัดค่าความเข้มของสีเหลืองในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. และชุดควบคุม

ในสัปดาห์ที่ 8 ทำการวัดค่าความเข้มของสีเหลืองในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเข้มของสีเหลืองน้อยที่สุด คือ  $24.39 \pm 1.30$  โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ระดับความเข้มของสีเหลืองบนผิวปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง

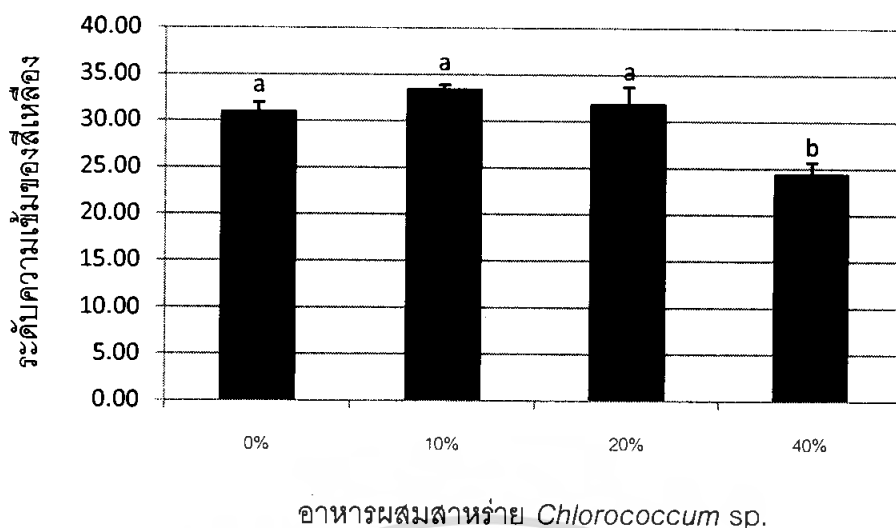
อาหารผสมสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. (%)	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
0	$30.76 \pm 2.82^a$	$30.31 \pm 1.07^a$	$29.28 \pm 1.64^a$	$31.84 \pm 0.81^a$	$30.97 \pm 1.02^b$
10	$33.96 \pm 2.07^a$	$30.92 \pm 2.08^a$	$32.32 \pm 0.61^b$	$32.48 \pm 1.73^a$	$33.39 \pm 0.50^b$
20	$34.24 \pm 0.75^a$	$32.54 \pm 3.26^a$	$32.52 \pm 0.25^b$	$33.48 \pm 1.38^a$	$31.85 \pm 1.84^b$
40	$34.24 \pm 1.01^a$	$36.19 \pm 0.56^a$	$28.20 \pm 0.22^a$	$29.84 \pm 0.80^a$	$24.39 \pm 1.30^a$

\*อักษรที่ไม่ต่างกันแถวเดียวกัน หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

### 2.3 ค่าความสว่างของสีบริเวณลำตัว (L) ของปลาทอง

ผลของค่าความสว่างของสีบริเวณลำตัว (L) ของปลาหมอมอลาวิททอง มีค่าความสว่างของสีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนถึงชุดการทดลอง (ตารางที่ 7)

ในสัปดาห์ที่ 2 ทำการวัดค่าความสว่างของสีในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. และชุดควบคุม



ภาพที่ 9 ระดับความเข้มของสีเหลืองบนผิวปลาในแต่ละชุดการทดลอง

ในลำดับที่ 4 ค่าความสว่างของสีในชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าความสว่างของสีน้อยที่สุด คือ  $57.33 \pm 1.80$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

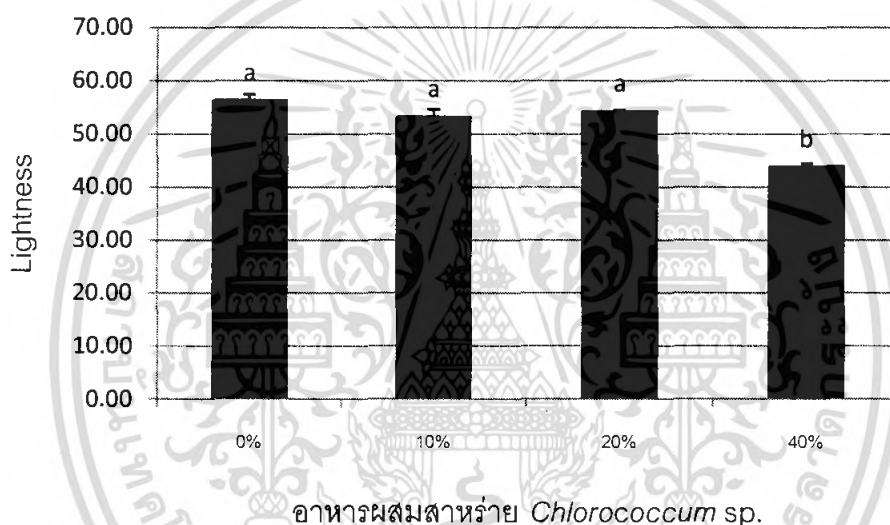
ในลำดับที่ 6 ค่าความสว่างของสีในชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าความสว่างของสีน้อยที่สุด คือ  $52.33 \pm 1.86$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ในลำดับที่ 8 ค่าความสว่างของสีในชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าความสว่างของสีน้อยที่สุด คือ  $43.92 \pm 0.60$  โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ระหว่างชุดการทดลองที่ให้อาหารที่เสริม *Chlorococcum* sp. 0, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 ระดับความสว่างของสีบนผิวปลาแต่ละชุดการทดลองที่ทำการวัดในแต่ละครั้ง

อาหารผสมสำหรับราย	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
Chlorococcum sp. (%)					
0	57.17±1.01 <sup>a</sup>	60.27±0.40 <sup>a</sup>	63.79±2.64 <sup>b</sup>	60.64±1.57 <sup>b</sup>	56.33±1.06 <sup>b</sup>
10	57.24±1.60 <sup>a</sup>	63.37±0.40 <sup>a</sup>	64.63±0.82 <sup>b</sup>	57.96±1.80 <sup>ab</sup>	53.28±1.38 <sup>b</sup>
20	55.69±0.72 <sup>a</sup>	57.45±3.50 <sup>a</sup>	61.44±0.25 <sup>ab</sup>	57.78±1.62 <sup>ab</sup>	54.30±0.15 <sup>b</sup>
40	56.19±0.86 <sup>a</sup>	63.01±0.77 <sup>a</sup>	57.33±1.80 <sup>a</sup>	52.33±1.86 <sup>a</sup>	43.92±0.60 <sup>a</sup>

\*อักษรที่ไม่ต่างกันในแถวเดียวกัน หมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

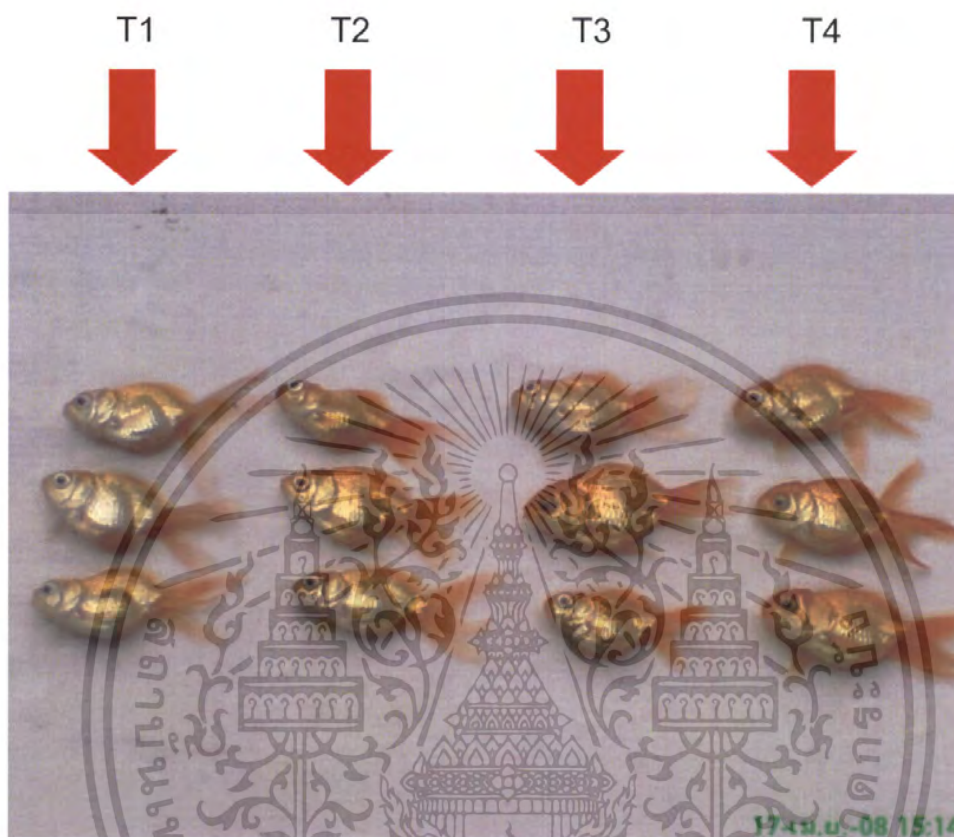


ภาพที่ 10 ค่า lightness ของแต่ละชุดการทดลอง

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การให้อาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ตั้งแต่ 10-40 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อการเกิดสีแดงบริเวณลำตัวของปลาทอง ปลาจะเริ่มมีสีแดงเข้มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 8 และทำให้สีเหลืองบริเวณลำตัวลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ในอาหารสูงขึ้นสามารถทำให้ความเข้มสีแดงเข้มมากขึ้นบริเวณลำตัว และทำให้สีเหลืองบริเวณลำตัวลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Paripatananont et al., (1999) ได้ทำการศึกษาระดับของแอสตาแซนทินที่เหมาะสมต่อการเกิดสีในปลาทอง โดยแบ่งปลาออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว น้ำหนักประมาณ 10 กรัม จากนั้นให้อาหารที่เสริมด้วยแอสตาแซนทินที่ระดับ 0-100 mg/kg เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยจะสุ่มปลาแต่ละกลุ่มมาตรวจสอบและวัดสีที่ได้ชั้นผิวหนังซึ่งพบว่ากระบวนการสร้างเซลล์สีจะถูกกระตุ้นให้มีการพัฒนาการสร้างสีได้ดีหลังจากได้รับปริมาณแอสตาแซนทินที่อยู่ในช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0-40 mg/kg และระดับที่เหมาะสมที่สุดคือ 36-37 mg/kg แต่ถ้ามีการเพิ่มปริมาณแอสตาแซนทีนในระดับที่มากกว่า 40 mg/kg การให้สีก็จะไม่เกิดประสิทธิภาพใดๆ



**ภาพที่ 11** เปรียบเทียบสีผิวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง T1 คือ ปลาในกลุ่มควบคุม (control) T2 คือ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 10 เปอร์เซ็นต์ T3 คือ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 20 เปอร์เซ็นต์ และ T4 คือ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุป

จากการศึกษาผลของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ในการเร่งสีปลาทอง โดยผสมกับอาหารปลาไฮดรอลิกขนาดเล็กโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ค่าการวัดสีในกลุ่มของปลาที่ได้รับอาหารเสริมด้วย *Chlorococcum* sp. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับทุกกลุ่มการทดลองรวมทั้งกลุ่มควบคุม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ จะพบระดับความเข้มของสีแดงบนผิวหนังปลาสูงสุด รองลงมาคือ 20, 10 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ส่วนค่าระดับความเข้มของสีเหลืองบนผิวหนังตัวปลามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปลาในกลุ่มทดลองอื่นๆ โดยในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วย *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสีเหลืองบนผิวหนังตัวที่ต่ำสุด ส่วนค่าความสว่างบนผิวหนังปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย *Chlorococcum* sp. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างทุกกลุ่มการทดลอง โดยในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วย *Chlorococcum* sp. 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสว่างของสีผิวที่ต่ำสุด และยังไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และน้ำหนักตัว โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ดังนั้นปลาทองที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความเข้มของสีแดงสูงสุด ส่วนสีเหลือง และค่าความสว่างของสีผิวปลาลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสาหร่าย *Chlorococcum* sp. เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

## ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาเพิ่มเติมว่าสาหร่าย *Chlorococcum* sp. สามารถนำไปประยุกต์ให้เกิดประโยชน์ในด้านอื่นๆได้หรือไม่ เช่น การบ่งชี้คุณภาพน้ำ การบำบัดน้ำเสีย การเพิ่มสีส้มในอาหาร เป็นต้น และสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้มากน้อยเท่าใดในแต่ละสัปดาห์

## เอกสารอ้างอิง

ชาติ ไชยณรงค์. 2534. ปลาทอง 4.

ณัฐวดี ปัญญาณะ, ณัษฐอรุณณ์ ไม่อ่อนมือ และดนุพล เทแก้ว. 2547. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียว. โครงการพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

ทิฆัมพร กุญยานนท์. 2527. Nutrition growth and reproduction. 55-69. ทิฆัมพร กุญยานนท์ อัญชลี ตัดตะวะศาสตร์ และวีระพงศ์ ลูจิตานนท์ (บรรณาธิการ). แบคทีเรียวิทยา ตอนที่ 1. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

รองศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี พีรพรพิศาล. 2546. หนังสือสาหร่ายวิทยา (Phycology). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Liu, B-H. and Y. K. Lee. 1999. Composition and biosynthetic pathways of carotenoids in the astaxanthin-producing green alga *Chlorococcum* sp. *Biotechnology Letters* 21:1007-1010.

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

Paripatananont, T., J.Tangtrongpairroj, A.Sailasuta and N.Chansue. 1999. Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of the world aquaculture society* 30:454-460.

Richmond, A.. 1983. C-phycoyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbial* 125:143-147.

Vonshak, A. And H. Maske. 1982. Algae:Growth techniques and biomass production. In J. Coombs and D. O. Hall(eds). *Technique in bioproductively and photosynthesis*. Pergamond press, Oxford : 66-67.

Watson, C. A., J. E. Hill and D. B. Pouder. 2004. Species profile: Koi and goldfish. SRAC Publication 7201.

Xu, X., Z. Jin, H. Wang, X. Chen, C. Wang and S. Yu. 2006. Effect of astaxanthin from *Xanthophyllomyces dendrorhous* on the pigmentation of goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of the world aquaculture society* 37:282-288.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Zhang, D. H., Y. K. Lee, M. L. Ng and S. M. Phang. 1997. Composition and accumulation of secondary carotenoids in *Chlorococcum* sp. *Journal of Applied Phycology* 9:147-155.

[www.epofclinic.com](http://www.epofclinic.com)

[www.innovations-report.de/.../bericht-62079.html](http://www.innovations-report.de/.../bericht-62079.html)

[www.platongclub.com](http://www.platongclub.com)

<http://thaianimal.tripod.com/fish/fishpage/fishcolor.html>

<http://www.bbt.ac.th/html/StudentWork/sararak/18.html>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

## ภาคผนวกที่ 1 สูตรอาหาร BG-11

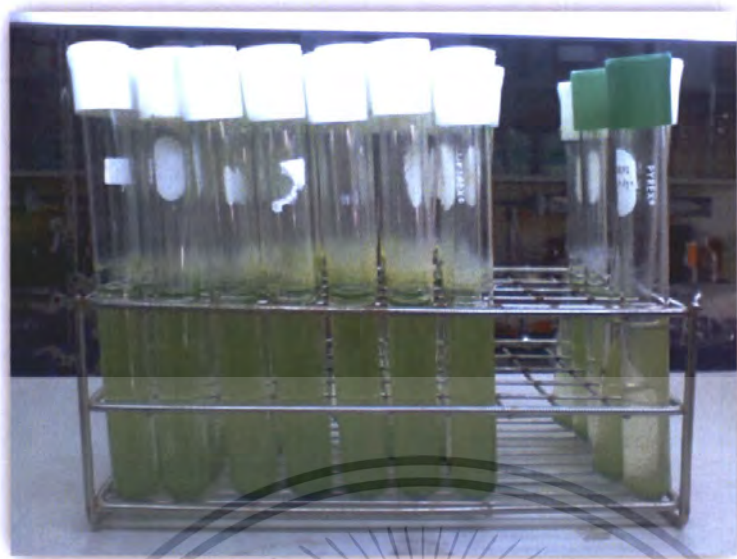
สูตรอาหารนี้นิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) ซึ่งให้ผลการเลี้ยงที่ดีมาก จึงเป็นที่นิยมใช้กันแพร่หลาย มีรายละเอียดดังนี้

ส่วนผสม (Ingredient)	ความเข้มข้น (Concentration)
โซเดียมไนเตรต ( $\text{NaNO}_3$ )	15 กรัม/10 ลิตร 176.5 mM
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต 7-ไฮเดรต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.4 กรัม/10 ลิตร 1.8 mM
แมกนีเซียมซัลเฟต 7-ไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.75 กรัม/10 ลิตร 3.0 mM
แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.36 กรัม/10 ลิตร 2.5 mM
กรดซิตริก ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_{10}$ )	0.06 กรัม/10 ลิตร 0.3 mM
เฟอริกแอมโมเนียมซิเตรต (Ferric ammonium citrate)	0.06 กรัม/10 ลิตร 0.3 mM
ไดโซเดียมแมกนีเซียม EDTA	0.01 กรัม/10 ลิตร 0.03 mM
โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	0.2 กรัม/10 ลิตร 1.9 mM
Deionozed water เติมน้ำให้ครบ	1 ลิตร
Trace Metal Mix A5+Co	1 มิลลิลิตร
- กรดบอริก ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	2.86 กรัมต่อลิตร
- แมงกานีสคลอไรด์ 4-ไฮเดรต ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	1.81 กรัมต่อลิตร
- ซิงก์ซัลเฟต 7-ไฮเดรต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.222 กรัมต่อลิตร
- โซเดียมโมลิบเดต 2-ไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.390 กรัมต่อลิตร
- คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.079 กรัมต่อลิตร
- โคบอลไนเตรต 6-ไฮเดรต [ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ]	0.049 กรัมต่อลิตร

1. นำสารแต่ละชนิดมาปรับปริมาตรกับน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร จากนั้นจึงเก็บใส่ขวดสีชาเป็น stock อาหารสาหร่ายจำนวน 8 ขวด (ขวดละ 1 ชนิด) โดยไม่ต้องแช่เย็น ในส่วนของ Trace Metal Mix A5+Co ทำการปรับปริมาตรกับน้ำกลั่น 1 ลิตรทำเป็น stock อาหารเช่นเดียวกัน จากนั้นจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. ใช้ปิเปตดูดสารแต่ละชนิดจาก stock ที่เตรียมอย่างละ 10 มิลลิลิตร และดูดสารจาก stock ของ Trace Metal Mix A5+Co 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ในหลอดทดลอง ประมาณ 1 ลิปดาห์ โดยตั้งให้  
รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง



ภาพผนวกที่ 2 การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ในขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร ประมาณ  
1 ลิปดาห์ โดยมีการให้อากาศและแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ตลอด 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

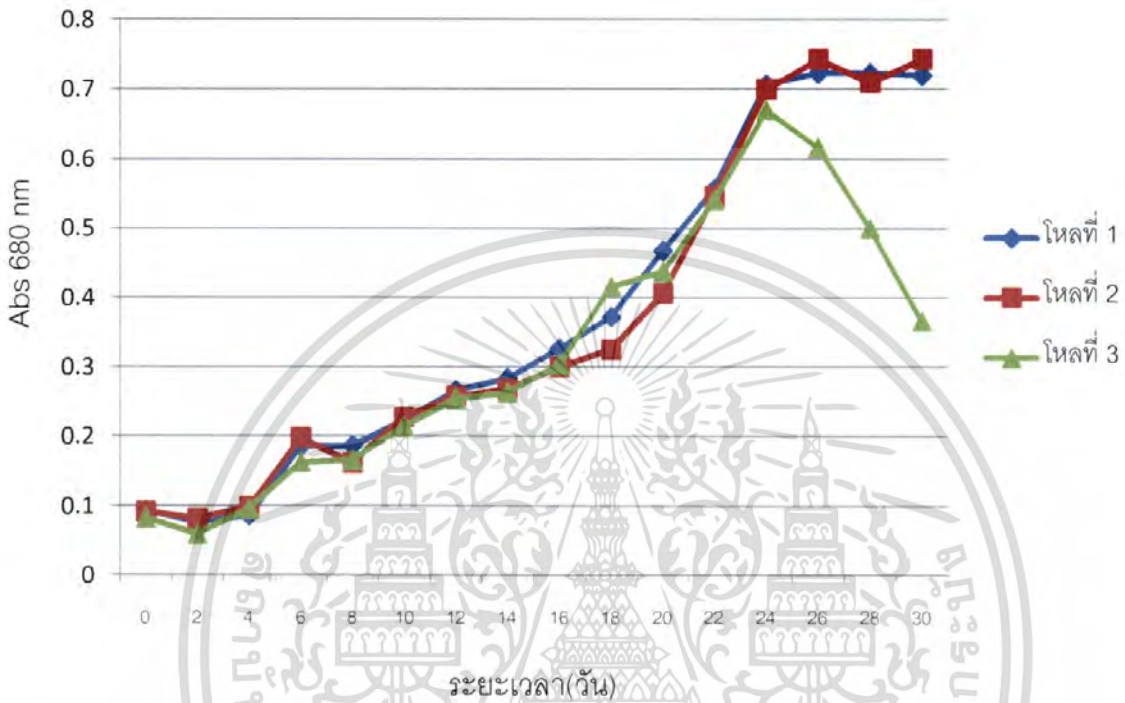


ภาพผนวกที่ 3 การแยกชั้นของแคโรทีนอยด์(ด้านบน) และ diethyl ether (ด้านล่าง)



ภาพผนวกที่ 4 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์โดยวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ความยาวคลื่น 350-550 นาโนเมตรเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 5 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ระยะเวลา 30 วัน ที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6 การทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (CRD) ความเข้มข้นของ *Chlorococcum* sp. ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ระดับละ 3 ซ้ำ



ภาพผนวกที่ 7 วิธีการวัดสี ด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR-10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้