

ผลของสาหร่ายไฟ (*Chara zeylanica*) ต่อการเจริญเติบโต การเพิ่มสี ผิว และการสะสมแคโรทีนอยด์ของปลาชิวข้างขวานเล็ก *Trigonostigma espei* (Meinken, 1967)

Effects of Stonewort, *Chara zeylanica* on Growth, Skin Pigmentation and Total Carotenoids of Lambchop Rasbora *Trigonostigma espei* (Meinken, 1967)

จิราพร วรรณะ¹ มณี ศรีชนะนันท์¹ และ วรรณิณี จันทร์แก้ว^{1*}
Jiraporn Wanna¹, Manee Srichanan¹ and Wanninee Chankaew^{1*}

Received: 3 September 2022

Revised: 11 June 2023

Accepted: 14 June 2023

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสาหร่ายไฟ (*Chara zeylanica*) ในระดับแตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต การเพิ่มสี และการสะสมแคโรทีนอยด์ของปลาชิวข้างขวานเล็ก โดยใช้อาหารผสมผงสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *C. zeylanica* ระดับ 4 mg/kg ทำการทดลองเป็นระยะ 8 สัปดาห์ ใช้ปลาทดลองที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.06 ± 0.01 g/fish ผลการศึกษาพบว่าด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และปริมาณอาหารที่ปลาชิวข้างขวานเล็กกินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ความยาวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) สีผิวหนังของปลาชิวข้างขวานเล็กทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่าย 20% มีค่าสีแดงสูงสุดและค่าความสว่างต่ำที่สุด เท่ากับ 3.50 ± 1.87 และ 4.83 ± 3.48 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในตัวปลาสูงที่สุดเช่นเดียวกัน (11.01 ± 1.62 µg/g) การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มสาหร่าย *C. zeylanica* ในอาหารที่ระดับ 20% ช่วยเพิ่มคุณภาพของสีผิวหนังและการสะสมแคโรทีนอยด์ในปลาชิวข้างขวานเล็กได้ดีที่สุด ดังนั้นการเสริมสาหร่ายชนิดนี้ในอาหารปลาเป็นการเพิ่มศักยภาพของอาหารปลาสวยงามได้

คำสำคัญ: แคโรทีนอยด์รวม สาหร่ายไฟ การเร่งสี ปลาชิวข้างขวานเล็ก

¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย นครศรีธรรมราช 80110

¹ Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat, 80110

* ผู้รับผิดชอบงาน (Corresponding author) e-mail: wanninee.c@rmutsv.ac.th

ABSTRACT

The effect of stonewort algae (*Chara zeylanica*) at different levels on growth, skin pigmentation and total carotenoids of Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*). Dried powdered of *C. zeylanica* was added to the basal diet at 0 (control), 5, 10, 15, 20 % and fed with carotenoid extract 4 mg/kg feed. Lambchop Rasbora fish initial average weight of 0.06 ± 0.01 g were fed diets for 8 weeks. The results found that weight gain specific growth rate, feed conversion ratio and feed intake were significantly different among the treatment ($p < 0.05$), but the length gain and survival rate were not significant different ($p > 0.05$). The skin pigmentation response of male and female Lambchop Rasbora brightness (L), red hue (a) and yellow hue (b) were significant ($p < 0.05$). The highest of redness and the lowest of brightness in both male and female fishes were found in the fish fed by diet containing 20 % were 3.50 ± 1.87 , 4.83 ± 3.48 respectively. In addition, The highest of accumulative carotenoid content in fish was found in the fish fed by diet containing 20 % (11.01 ± 1.62 $\mu\text{g/g}$). This study conclude that, the addition of stonewort, *C. zeylanica* in diet at 20 % can improve the quality of skin pigmentation, carotenoid accumulative of Lambchop Rosbosa, thus, stonewort in diet can increase potential in ornamental fish.

Keywords: Total Carotenoids; Stonewort; Pigmentation; Lambchop Rasbora

บทนำ

ปลาชิวช้างขวานเล็ก พบแพร่กระจายตามลุ่มน้ำทางภาคตะวันออกและภาคใต้ [1] สำหรับในพื้นที่ภาคใต้พบมากในแหล่งน้ำของจังหวัดตรัง ปลาชิวช้างขวานเล็กเป็นปลาสวยงามที่มีมูลค่าการส่งออกสูง ซึ่งจากการสำรวจรายชื่อปลาสวยงามที่ส่งออก 140 อันดับแรก ระหว่างเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม 2548 พบว่าปลาชิวช้างขวานมีปริมาณการส่งออกเป็นอันดับที่ 34 โดยในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม มีจำนวน 13,365, 28,245 และ 34,795 ตัว ตามลำดับ รวม 3 เดือน จำนวน 76,405 ตัว ราคา 5.45 ดอลลาร์ต่อ 100 ตัว อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญประการหนึ่งของปลาสวยงามในประเทศไทยคือ ปลาไม่มีสีชัดเจน ส่งผลให้ปลามีราคาถูก และปัญหาปลาไม่มีสีไม่ตรงตามความต้องการของท้องตลาด [2] ซึ่งอาจเนื่องมาจากปลาขาดสารสีหรือรงควัตถุในอาหาร [3] ทำให้ปลาจากการเพาะเลี้ยงไม่มีสีที่ตลาดต้องการ รวมทั้งปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เอง จำเป็นต้องได้รับจากอาหารโดยตรง สำหรับการปรับปรุงสีของปลาสามารถทำได้โดยการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร ซึ่งแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุประกอบด้วย สีส้ม แดง เหลือง [3] แต่แคโรทีนอยด์สังเคราะห์มีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาสวยงามต้องเพิ่มต้นทุนในการผลิตเพิ่มสีของปลา

ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายมาใช้เร่งสีปลาสวยงามมากขึ้นเนื่องจากสาหร่ายมีรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ [4] ซึ่งแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่นิยมนำมาใช้ในการเร่งสีปลาสวยงามมากที่สุด [2] ซึ่งมีรายงานการศึกษาในสาหร่ายขนาดเล็ก เช่น สไปรูโลน่า คลอเรลลา และ อีมาโตคอกคัส มาเร่งสีปลาทอง [2] ซึ่งพบว่าแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายดังกล่าวสามารถเร่งสีปลาทองได้ และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา สำหรับสาหร่ายที่นำมาศึกษาครั้งนี้ เป็นกลุ่มสาหร่ายไฟ (stonewort) ชนิด *Chara zeylanica* ซึ่งเป็นสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่มีปริมาณมากในแหล่งน้ำในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี และได้มีการศึกษาพิษเฉียบพลันแล้วพบว่ามี

ปลอดภัยต่อการบริโภคทั้งในคนและในสัตว์ [5] ดังนั้นเพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่เป็นแนวทางในการเร่งสี และเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาสวยงาม รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกลุ่มสาหร่ายไฟ การวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเรื่องผลของสาหร่าย *C. zeylanica* ต่อการเร่งสี และแคโรทีนอยด์รวมของปลาชิวข่างขวานเล็ก

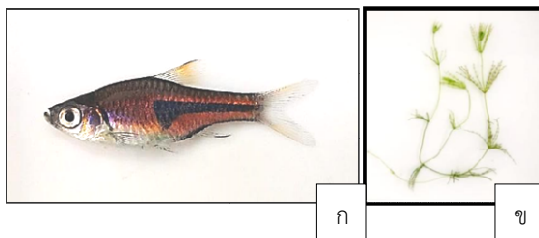
วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสาหร่าย *C. zeylanica*

เก็บรวบรวมสาหร่าย *C. zeylanica* จากอำเภอยะแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี (8.6294931 N, 98.9843880 E) นำมาทำความสะอาด หลังจากนั้นนำมาจัดจำแนกชนิดตาม John et al. [6] และ Sitwipusiri [7] และผึ่งลมให้สาหร่ายแห้งแล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 50 °C จากนั้นนำมาบดจนละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาดตา 425 μ m นำสาหร่ายไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เยื่อใย ความชื้น และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC [8] และแคโรทีนอยด์รวม ตามวิธีการดัดแปลงจาก KMUTT [9] อ้างโดย Sae-Tan et al. [10] และได้ผลการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 1

2. การเตรียมสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่าย *C. zeylanica* ตามวิธีการดัดแปลงจาก KMUTT [9] อ้างโดย Sae-Tan et al. [10]

นำสาหร่ายละเอียดมา 25 mg เติมนิโอดอล 95% ปริมาตร 10 ml กับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 60% ลงไปปริมาตร 1 ml หลังจากนั้นทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องอัลตราโซนิก เป็นเวลา 15 min บ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 5 min เพื่อให้รังควัตถุถูกสกัดออกมาจากเซลล์ ทิ้งให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปั่นแยกสารสกัดออกจากเซลล์สาหร่ายด้วยความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 min เก็บสารละลายส่วนใสไว้ในขวดสีชา จากนั้นเติมนิโอดอลอีเทอร์ลงไปปริมาตร 15 ml กับโซเดียมคลอไรด์ 9% ลงไปปริมาตร 15 ml นำไปเทลงในกรวยแยกสาร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเขียวและสีเหลืองปล่อยชั้นสีเขียวของคลอโรฟิลล์ทิ้งไปเก็บชั้นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ นำชั้นสีเหลืองที่ได้มาเติมนิโอดอลอีเทอร์ 9% ลงไปปริมาตร 15 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้นสีขาวและสีเหลืองปล่อยชั้นสีขาวทิ้ง เก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ ปรับปริมาตรเป็น 25 ml ด้วยไดเอทิลอีเทอร์กับนิโอดอลอีเทอร์ลงไปปริมาณ 0.02 g เพื่อเป็นการกำจัดน้ำ จากนั้นนำสารละลายไปวัดที่ความยาวคลื่น 450 nm



ภาพที่ 1 ปลาชิวข่างขวานเล็ก (ก) และสาหร่าย *C. zeylanica* (ข)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *C. zeylanica*

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (g/100 g dw)
โปรตีน	13.20
คาร์โบไฮเดรต	23.74
ไขมัน	1.15
เยื่อใย	10.29
ความชื้น	5.98
เถ้า	55.93
แคโรทีนอยด์รวม	0.045

3. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 0% (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 5%

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 10%

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 15%

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 20%

ชุดการทดลองที่ 6 อาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับ 4 mg/kg (ชุดควบคุม) (เป็นผลที่ได้จากการทดลองที่ 1)

4. การเตรียมวัตถุดิบอาหารปลา และการประกอบสูตรอาหารทดลอง

4.1 การเตรียมอาหารทดลองชุดการทดลองที่ 6

นำอาหารปลาที่อัดเม็ดแล้วผสมกับสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายไฟที่ระดับความเข้มข้น 4 mg/kg 1 kg โดยนำสารสกัดจากสาหร่ายไฟที่สกัดตามข้อที่ 2 ไประเหยสารละลายไดเอทิลอีเทอร์ออก และเติมเอทานอล 95% ไปแทนที่ นำสารสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Biodrop) แล้วบันทึกผล และคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตร

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g dry weight)} = \frac{A_{450} \times \text{ปริมาตรสารสกัด} \times 1,000}{260 \times \text{mg ของสาหร่ายแห้ง}}$$

แทนค่าในสูตรเพื่อหาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (mg/g dry weight)

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g dry weight)} &= \frac{0.903 \times 450 \text{ ml} \times 1000}{260 \times 9000 \text{ (mg/g น้ำหนักแห้ง)}} \\ &= 0.173 \text{ (mg/g น้ำหนักแห้ง)} \end{aligned}$$

เมื่อได้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง) ทำการแทนค่าในสูตรอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 6 อาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมจากสาหร่ายไฟที่ระดับ 4 mg/kg feed

จากนั้นนำไปฉีดพ่นให้กระจายบนอาหาร และคลุกเคล้าให้เข้ากับอาหารเม็ดจนทั่ว นำไปผึ่งลมในร่มและมืด เป็นเวลา 24 hrs ในห้องที่มีอากาศถ่ายเท เมื่ออาหารแห้งแล้วบรรจุในขวดสีชา เพื่อลดการสัมผัสกับอากาศและแสงเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2 การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองโดยอาหารทุกชุดการทดลองมีโปรตีน 38% และไขมัน 12% ดัดแปลงจาก Kraisurasre et al. [11] แล้วนำส่วนผสมของอาหารที่มีระดับของสาหร่ายที่ต่างกัน (ตารางที่ 2) ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำประมาณ 30% เมื่อผสมเข้ากันดีนำไปอัดเม็ดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 mesh มีลักษณะเป็นเส้นยาวนำมาอบให้แห้งที่ 50 °C เป็นเวลา 3 hrs ขยี้ให้มีขนาดเล็กลง แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาดตา 425 mesh เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ทดลองต่อไป และสູ່มนำอาหารที่อัดเม็ดแล้ว 20 g นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (Proximate analysis) ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และความชื้น ตามวิธีการของ AOAC [8] ส่วนค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ (NFE) ใช้วิธีคำนวณตามวิธีของ National Research Council [12] ดังนี้ คาร์โบไฮเดรต (NFE) = 100 - (% โปรตีน + % ไขมัน + % กาก + % เถ้า + % ความชื้น) และวิเคราะห์ปริมาณแคลโรทีนอยต์ในอาหาร ดัดแปลงจาก KMUTT [9] อ้างโดย Sae-Tan et al. [10] ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอาหารทดลอง (g/100 g feed)

วัตถุดิบอาหาร	ชุดการทดลองที่					แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg
	สาหร่าย ไฟ 0 %	สาหร่ายไฟ 5%	สาหร่ายไฟ 10%	สาหร่ายไฟ 15%	สาหร่ายไฟ 20%	
ปลาป่น	30	30	30	30	30	30
ไก่ป่น	10	10	10	10	10	10
กากถั่วเหลือง	20	20	20	20	20	20
รำข้าว	15	15	14.10	9.60	5.09	15
แป้งสาลี	10.60	5.50	1.40	1.30	1.30	10.60
เจลาติน	3	3	3	3	3	3
สาหร่าย	0	5	10	15	20	0
แคลกละเอียด	3.43	3.54	3.44	2.52	1.50	3.43
น้ำมันปลา	3	3	3	3	3	3
น้ำมันพืช	3.67	3.66	3.76	4.28	4.81	3.67
เลซีติน	1	1	1	1	1	1
วิตามินและแร่ธาตุผสม	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
รวม	100	100	100	100	100	100

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (g/100 g feed)

องค์ประกอบทางเคมี	ชุดการทดลองที่					แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg
	สำหรับ 0 %	สำหรับ 5%	สำหรับ 10%	สำหรับ 15%	สำหรับ 20%	
โปรตีน	35.86	34.12	34.73	34.08	33.25	35.93
ไขมัน	18.30±1.86	17.30±0.35	18.06±0.56	17.50±0.37	19.20±0.93	16.81±2.22
เยื่อใย	4.72±0.12 ^b	5.71±0.27 ^a	5.74±0.22 ^a	5.42±0.27 ^a	4.77±0.06 ^b	4.75±0.27 ^b
เถ้า	3.32±1.45	2.50±2.49	4.16±2.88	4.14±1.43	6.65±1.44	3.32±3.81
ความชื้น	9.85±0.21 ^a	9.40±0.32 ^{ab}	9.68±0.22 ^a	9.85±0.21 ^a	9.40±0.31 ^{ab}	9.18±0.15 ^b
NFE*	27.95	30.97	27.63	29.77	26.73	30.02
แคโรทีนอยด์ (mg/100 g dw)	0.47±0.02 ^f	1.32±0.05 ^d	2.62±0.23 ^c	3.06±0.32 ^b	4.37±0.15 ^a	0.86±0.25 ^e

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ของแต่ละปัจจัยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$), *Nitrogen Free Extract (NFE) = $100 - (\% \text{ โปรตีน} + \% \text{ ไขมัน} + \% \text{ เยื่อใย} + \% \text{ เถ้า} + \% \text{ ความชื้น})$

5.การเตรียมระบบน้ำและสัตว์ทดลอง

เลี้ยงปลาในกล่องพลาสติกขนาด 20 x 30 x 18 cm จำนวน 18 กล่อง เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 8 L ระดับน้ำลึก 15 cm ให้ออกซิเจนตลอดเวลา ระบบน้ำไหลเวียน และจัดเตรียมพันธุ์ปลาชีวข้างขวานเล็กเพื่อใช้ในการทดลองนำมาพักไว้ในบ่อซีเมนต์ และฝึกให้ปลากินอาหารที่ใช้ในการทดลองคือ อาหารชุดควบคุมประมาณ 2 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ปล่อยเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่เตรียมไว้ จำนวน 30 ตัวต่อกล่อง ส่วนในช่วงการทดลองมีการให้อาหารจนอิ่ม เป็นเวลา 2 มื้อ คือ เช้า (08.00 น.) และเย็น (16.00 น.) และมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก ๆ 2 สัปดาห์ ทุกชุดการทดลอง ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตของปลาที่เลี้ยง โดยมีสูตรในการคำนวณดังนี้

(1) น้ำหนักปลาเฉลี่ย (g/fish)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด (g)}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด (fish)}}$$

(2) น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain: g /fish)

$$= \text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}$$

(3) ความยาวปลาเฉลี่ย (cm/fish)

$$= \frac{\text{ความยาวทั้งหมด (cm)}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด (fish)}}$$

(4) อัตราการรอดตาย (survival rate: %)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ (fish)} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น (fish)}}$$

(5) ปริมาณอาหารที่กิน (total feed intake; TFI g/fish)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารทั้งหมดปลากิน}}{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$$

(6) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate: SGR %/day)

$$= \frac{(\ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}) \times 100}{\text{จำนวนวันทดลอง}}$$

(7) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Ratio: FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (g/fish)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g/fish)}}$$

6. การวัดสีผิวของปลาหลังทดลอง

สุ่มตัวอย่างปลาทั้งสองเพศที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ หน่วยการทดลองละ 6 ตัว (ชุดการทดลองละ 18 ตัว) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml ทำการสลับปลาทุกหน่วยทดลองพร้อมกัน โดยเติมน้ำปริมาตร 50 ml ที่มียาสลับ (น้ำมันกานพลู) 3 หยด เมื่อปลาสลับแล้วนำตัวอย่างปลาไปวางบนโฟมเรียงตามชุดการทดลองที่ 1 ถึง 6 แล้วถ่ายรูปตัวอย่างปลาจากมุมบนด้วยกล้อง Canon EOS M10 และนำภาพที่ได้ปรับความละเอียดของภาพจาก 72 DPI เป็น 300 DPI แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าสีโหมด L a b หมายถึง L หมายถึงความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 – 100 โดย 0 คือสีดำ และ 100 คือสีขาว +a หมายถึงสีแดง –a หมายถึงสีเขียว +b หมายถึงสีเหลือง และ –b หมายถึงสีน้ำเงิน ด้วยโปรแกรม Photoshop CS6 [13] โดยวัดค่าสีผิวหนังปลาบริเวณบนรูปขวานข้างเส้นประสาทข้างลำตัวล่างครึ่งหลัง (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ตำแหน่งที่วัดค่าสีผิวหนังปลาบริเวณบนรูปขวานข้างเส้นประสาทข้างลำตัวล่างครึ่งหลัง

7. การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในปลา

โดยนำตัวอย่างปลาที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร สูตรละ 10 ตัว สลับด้วยน้ำมันกานพลูแล้วนำตัวอย่างปลาไปแช่น้ำหนักแต่ละชุดการทดลอง และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 2 hrs หลังจากนั้นบดตัวอย่างปลาด้วยโกร้งบด เติมนิโคเตียมซัลเฟตปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง แล้วบดจนละเอียดนำไปวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาตามวิธีหัวข้อ 2 และนำมาคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g wet weight)} = \frac{A_{450} \times \text{ปริมาตรสารสกัด} \times 1,000}{260 \times \text{mg ของเนื้อปลาสด}}$$

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโต สปีปลา โดยในการวัดค่าสีมีการแยกเพศปลาผู้ และเมีย และแคโรทีนอยด์ในปลานำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน One Way Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองตามวิธีการของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ผลการวิจัย

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาชิวข้างขวานเล็ก

จากการทดลองเลี้ยงปลาชิวข้างขวานเล็กด้วยอาหารผสมผงสาหร่าย *Chara zeylanica* ที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20 % และอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *C. zeylanica* ระดับ 4 mg/kg โดยใช้ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ผลการเจริญเติบโตของปลาชิวข้างขวานเล็กทางด้านน้ำหนัก พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 4 mg/kg มีน้ำหนักปลาสุดท้ายสูงสุด 0.29 ± 0.02 g/fish และมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.24 ± 0.03 g/fish แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ในระดับ 20% แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 0, 5, 10 และ 20% มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.29 ± 0.01 , 0.26 ± 0.02 , 0.27 ± 0.02 และ 0.27 ± 0.04 g/fish ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

การเจริญเติบโตทางด้านความยาวพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 15% มีความยาวที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.44 ± 0.08 cm (ตารางที่ 4) ทั้งนี้ความยาวเริ่มต้นของปลาทดลองมีค่าระหว่าง 2.37 ± 0.16 - 2.60 ± 0.06 cm

ปริมาณอาหารที่ปลากิน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าปริมาณอาหารที่ปลากินสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับสาหร่ายทุกระดับและอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายมีค่าอยู่ในช่วง 0.28 ± 0.01 - 0.33 ± 0.02 g/fish ยกเว้นปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% มีค่าปริมาณอาหารที่ปลากินต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.27 ± 0.01 g/fish (ตารางที่ 5)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.16 ± 0.21 %/day แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 0, 5, 10 และ 15% ในขณะที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย *C. zeylanica* ในระดับ 20% (ตารางที่ 5)

อัตราการแลกเนื้อ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% มีค่าดีที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับและอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.25 ± 0.15 - 1.46 ± 0.12 แต่มีความแตกต่างกันกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 20% มีค่าอัตราการแลกเนื้อต่ำที่สุด 1.69 ± 0.13 (ตารางที่ 5)

อัตราการรอด เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมทุกระดับมีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน มีค่าอยู่ในช่วง 67.77 ± 12.62 - 76.66 ± 11.54 % (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย ความยาวสุดท้ายเฉลี่ย ความยาวที่เพิ่มขึ้น ของปลาชิวชังขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *C. zeylanica* ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	น้ำหนัก เริ่มต้นเฉลี่ย (g/ fish)	น้ำหนัก สุดท้ายเฉลี่ย (g/ fish)	น้ำหนักที่ เพิ่มขึ้น (g/ fish)	ความยาว เริ่มต้นเฉลี่ย (cm)	ความยาว สุดท้ายเฉลี่ย (cm)	ความยาวที่ เพิ่มขึ้น (cm/ fish)
สาหร่าย 0%	0.05±0.01	0.29±0.01 ^a	0.23±0.02 ^a	2.51±0.03	2.88±0.03 ^{ab}	0.37±0.00
สาหร่าย 5%	0.06±0.01	0.26±0.02 ^{ab}	0.19±0.01 ^a _b	2.53±0.07	2.90±0.03 ^a	0.37±0.09
สาหร่าย 10%	0.05±0.00	0.27±0.02 ^{ab}	0.21±0.03 ^a _b	2.53±0.21	2.91±0.05 ^a	0.35±0.22
สาหร่าย 15%	0.06±0.01	0.27±0.04 ^{ab}	0.21±0.04 ^a _b	2.45±0.08	2.89±0.06 ^a	0.44±0.08
สาหร่าย 20%	0.07±0.01	0.24±0.02 ^b	0.16±0.01 ^b	2.37±0.16	2.76±0.06 ^b	0.35±0.09
แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg	0.05±0.00	0.29±0.02 ^a	0.24±0.03 ^a	2.60±0.06	2.86±0.10 ^{ab}	0.32±0.08

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± SD (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 5 ปริมาณอาหารที่ปลากิน อัตราการแลกเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดของปลาชิวชังขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *Chara zeylanica* ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ปริมาณอาหารที่ ปลากิน (g/fish)	อัตราการ แลกเนื้อ	อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ (%/day)	อัตราการรอด (%)
สาหร่าย 0%	0.33±0.02 ^a	1.46±0.12 ^{ab}	1.10±0.17 ^a	71.11±5.09
สาหร่าย 5%	0.28±0.03 ^{ab}	1.43±0.17 ^{ab}	0.86±0.07 ^{ab}	75.55±8.38
สาหร่าย 10%	0.27±0.01 ^b	1.25±0.15 ^a	1.00±0.21 ^{ab}	74.44±3.85
สาหร่าย 15%	0.29±0.03 ^{ab}	1.36±0.22 ^a	0.98±0.35 ^{ab}	73.33±3.33
สาหร่าย 20%	0.28±0.01 ^{ab}	1.69±0.13 ^b	0.59±0.12 ^b	67.77±12.62
แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg	0.32±0.04 ^{ab}	1.34±0.11 ^a	1.16±0.21 ^a	76.66±11.54

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± SD (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2. สีผิวของปลาชิวข้างขวานเล็ก

ค่าสีผิวบนตัวปลา จากการสุ่มปลามาวัดค่าสีผิวหนึ่ง ด้วยการถ่ายภาพและใช้โปรแกรม Photoshop วัดค่าสีด้วยระบบ L a b พบว่าสีส้มบริเวณบนรูปขวานของปลาทดลองทั้งเพศผู้และเพศเมียค่าสีแดงและค่าสีเหลืองมีค่าแตกต่างกัน โดยปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าความสว่าง (L), ค่าสีแดง (a) และสีเหลือง (b) มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ค่าความสว่างของปลาชิวข้างขวานเล็กทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% มีค่าเท่ากับ 30.50 ± 2.42 และ 27.31 ± 2.82 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกับปลาเพศผู้ที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 5% (29.33 ± 1.63) (ตารางที่ 5) ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองพบสูงที่สุดในปลาชิวข้างขวานเล็กทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 20% มีค่าเท่ากับ 6.50 ± 3.61 , 4.83 ± 3.48 , 10.66 ± 3.44 และ 8.51 ± 2.40 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ค่าสีส้มบริเวณบนขวานล่างครีบหลังของปลาชิวข้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *Chara zeylanica* ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	เพศผู้			เพศเมีย		
	L	a	b	L	a	b
สาหร่าย 0%	24.50 ± 1.04^d	1.16 ± 1.32^c	4.50 ± 1.22^c	17.53 ± 2.16^d	1.33 ± 3.14^{ab}	4.43 ± 1.78^b
สาหร่าย 5%	29.33 ± 1.63^{ab}	2.50 ± 2.58^{bc}	4.33 ± 2.50^c	24.52 ± 1.97^b	0.83 ± 1.60^b	3.52 ± 1.67^b
สาหร่าย 10%	30.50 ± 2.42^a	4.00 ± 2.19^{abc}	5.66 ± 3.93^{bc}	27.31 ± 2.82^a	1.50 ± 2.50^b	3.66 ± 2.50^b
สาหร่าย 15%	27.66 ± 1.03^{bc}	4.66 ± 1.21^{ab}	8.16 ± 2.22^{ab}	22.16 ± 1.16^c	4.16 ± 1.32^{ab}	5.50 ± 2.73^{ab}
สาหร่าย 20%	24.58 ± 2.27^d	6.50 ± 3.61^a	10.66 ± 3.44^a	22.11 ± 0.89^c	4.83 ± 3.48^a	8.51 ± 2.40^a
แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg	22.66 ± 1.21^c	3.50 ± 1.87^{bc}	4.33 ± 2.50^c	21.33 ± 1.36^c	1.16 ± 2.63^b	3.43 ± 1.67^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยตัวอักษรที่กำกับต่างกันแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในปลา

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 20% มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาสูงที่สุด ($11.01 \pm 1.62 \mu\text{g/g}$) ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 15% (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในปลาของปลาช้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *Chara zeylanica* ระดับแตกต่างกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	แคโรทีนอยด์รวมในปลา ($\mu\text{g/g}$)
สาหร่าย 0 %	8.49 ± 0.84^{ab}
สาหร่าย 5%	7.96 ± 1.03^b
สาหร่าย 10%	8.22 ± 0.68^b
สาหร่าย 15%	9.05 ± 1.46^{ab}
สาหร่าย 20%	11.01 ± 1.62^a
แคโรทีนอยด์ 4 mg/kg	10.50 ± 2.32^{ab}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) โดยตัวอักษรที่กำกับต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การอภิปรายผล

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาช้างขวานเล็ก

ผลการเจริญเติบโตของปลาช้างขวานเล็กทางด้านน้ำหนัก พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาช้างขวานเล็กที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 4 mg/kg มีน้ำหนักปลาสุดท้ายมีค่าสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณอาหารที่ปลากินโดนมีระดับโปรตีน 35.93 % อาจเป็นเพราะว่าปลาช้างขวานเล็กไม่ชอบอาหารทดลองที่มีสาหร่ายเป็นส่วนผสมเนื่องจากปลามีพฤติกรรมกินเนื้อมากกว่าพืชดังรายงานว่ปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติมีแมลงน้ำในกระเพาะอาหารมากที่สุด [14]

การเจริญเติบโตทางด้านความยาวพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 15% มีความยาวที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ความยาวเริ่มต้นของปลาทดลองมีค่าระหว่าง 2.37 ± 0.16 - 2.60 ± 0.06 cm ซึ่งขนาดความยาวนี้เป็นปลาที่อยู่ในช่วงเต็มวัย [11] จึงส่งผลให้ความยาวของปลาเพิ่มขึ้นค่อนข้างน้อย และเมื่อพิจารณาความยาวที่เพิ่มขึ้นพบว่ากับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 0, 5, 10, 20% และปลาที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์ 4 mg/kg มีค่าความยาวที่เพิ่มขึ้นไม่ต่างกัน โดยมีค่าระหว่าง 0.32-0.37 cm ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นไม่ได้สอดคล้องกับปริมาณของอาหารที่ปลา กินและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และจากการสังเกตพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับ 5, 10 และ 15% มีรูปร่างผอมเรียวยาว ซึ่งตรงกับลักษณะของเพศผู้ [11] ทำให้ปลาความยาวของปลาทดลองที่ไม่แตกต่างกัน

ปริมาณอาหารที่ปลา กิน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าปริมาณอาหารที่ปลา กินสูงสุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับสาหร่ายทุกระดับและอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.28 ± 0.01 - 0.33 ± 0.02 g/fish ยกเว้นปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% มีค่าปริมาณอาหารที่ปลา กินต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.27 ± 0.01 g/fish ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาที่ชอบกินเนื้อมากกว่าพืช ส่งผลให้อาหารทดลองที่มีสาหร่ายผสมปริมาณมากมีผลให้ปริมาณอาหารที่ปลา กินน้อยลง รวมถึงสอดคล้องกับด้านน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นที่มีค่าลดลงตามระดับสาหร่ายที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณอาหารที่ปลา กินที่แตกต่างกันนี้อาจมีผลสืบมาเนื่องจากปริมาณของสารพิษทุกชนิดกลุ่มแทนนินที่พบได้ในพืชและสาหร่ายซึ่งมีรสฝาดหรือขม แต่ในสาหร่าย *C. zeylanica* ยังไม่มีรายงานปริมาณแทนนิน

ซึ่งในการศึกษาครั้งต่อไปการใช้สาหร่ายเป็นวัตถุดิบอาหารปลาจึงควรมีการมีวิเคราะห์ปริมาณแทนนินด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากขึ้น

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด มีค่าเท่ากับ 1.16 ± 0.21 %/day ซึ่งสอดคล้องกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและปริมาณอาหารที่ปลากิน เนื่องจากปลามีพฤติกรรมกินเนื้อมากกว่าพืช สอดคล้องกับการศึกษาของ Chumdum et al. [14] ที่พบว่าในกระเพาะอาหารของปลาชิวข้างขวานเล็กในแหล่งน้ำธรรมชาติมีกลุ่มแมลงน้ำมากที่สุด

อัตราการแลกเนื้อ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% มีค่าดีที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับและอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย ซึ่งอาจมีผลมาจากระสชาติและกลิ่นของอาหารไม่เป็นที่ยอมรับของปลาซึ่งมีผลต่อการกระตุ้นการกิน และการยอมรับอาหารได้ [15] ซึ่งพฤติกรรมการกินอาหารที่ชอบกินเนื้อมากกว่าพืชของปลาชิวข้างขวานเล็ก นอกจากนั้นการมีสัดส่วนของระดับสาหร่ายไฟที่สูงอาจมีผลต่อความสามารถในการย่อยได้ของสาหร่ายที่ต่ำลง สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าในการเลี้ยงปลาหมอศรีอยุธยา ซึ่งพบว่า การใช้สาหร่ายที่ระดับ 30, 20 และ 10% มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 2.55, 2.45 และ 1.67 ตามลำดับ [15] จากผลการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มว่าการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ใส่ในอาหารทดลองน่าจะมีประสิทธิภาพต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลาทดลองได้ดีกว่าการใช้สาหร่ายในรูปแบบที่เป็นผงแห้งผสมในอาหารปลาเมื่อพิจารณาจากค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะซึ่งมีค่าสูงสุด เนื่องจากอาหารในชุดการทดลองนี้ไม่มีสาหร่ายส่งผลกระทบต่อกลิ่นของอาหารที่ไม่ดี กลิ่นของสาหร่ายกระตุ้นให้ปลากินอาหารได้มากกว่าชุดการทดลองที่มีสาหร่ายเป็นส่วนผสม

อัตราการรอด เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมทุกระดับมีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งแสดงว่าอาหารทุกชุดการทดลองไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของปลาเช่นเดียวกับรายงานการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีแดงน้ำจืด *Caloglossa beccarii* ในการเร่งสีปลาทอง [16] และการใช้แทนนินในอาหารของปลาทอง [17]

2. สีผิวของปลาชิวข้างขวานเล็ก

ค่าสีผิวบนตัวปลา จากการสุ่มปลามาวัดค่าสีผิวหนึ่ง ด้วยการถ่ายภาพและใช้โปรแกรม Photoshop วัดค่าสีด้วยระบบ L a b พบว่าสีสัมบูรณ์บนรูปขาวของปลาทดลองทั้งเพศผู้และเพศเมียค่าสีแดงและค่าสีเหลืองมีค่าแตกต่างกัน ส่วนค่าความสว่างของปลาชิวข้างขวานเล็กทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 10% ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในตัวปลาสูงที่สุด เช่นเดียวกัน มีค่าเท่ากับ 11.01 ± 1.62 $\mu\text{g/g}$ เนื่องจากอาหารทดลองที่ผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้นนั้นจะส่งผลให้ปริมาณ แคโรทีนอยด์รวมในอาหารเพิ่มมากขึ้นด้วย จึงทำให้ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น [15] ซึ่งความเข้มของสีที่ปรากฏบนผิวหนังปลานั้นขึ้นอยู่กับปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้รับจากอาหารเนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เองได้จำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ผลการศึกษาครั้งนี้จึงมีแนวโน้มว่าการเพิ่มระดับสาหร่าย 20% ทำให้ปลามีสีส้มดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดควบคุมซึ่งมีค่าสีแดงต่ำ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ในอาหาร (ชุดการทดลองที่ 6) ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในอาหารเท่ากับ 0.86 ± 0.25 $\text{mg}/100 \text{ g}$ ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ผสมสาหร่ายและส่งผลให้ค่าสีแดงและสีเหลืองมีค่าต่ำทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมีย อย่างไรก็ตามหากมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดแคโรทีนอยด์ลงในอาหารก็มีแนวโน้มว่าจะทำให้ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองของปลา มีค่าสูงขึ้นได้ เช่นเดียวกับการใช้สาหร่ายผงผสมในอาหาร

3.ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในปลา

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 20% มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับระดับของสาหร่ายที่ผสมในอาหาร ตามตารางที่ 3 และผลการศึกษาค้นคว้านี้เป็นไปในทำนองเดียวกับการศึกษาในปลากระดี่นางฟ้า (*Trichogaster trichopterus*) ซึ่งเลี้ยงปลาด้วยอาหารที่ผสมดอกดาวเรืองผง 3 ระดับ คือ 0.5%, 1.5% และ 2.5% พบว่าปลาที่มีการสะสมแคโรทีนอยด์รวมในกล้ามเนื้อและผิวหนังสูงสุดที่ระดับ 2.5% นอกจากนี้ในสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้ยังมีรงควัตถุอีก 2 ชนิด คือ ซีแซนทีน (zeaxanthin) และเบต้าแคโรทีน มีค่าเท่ากับ 998 และ 9.8 µg/g น้ำหนักแห้ง ซึ่งรงควัตถุสองชนิดนี้มีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากเมื่อปลาได้อาหารที่มีแคโรทีนอยด์ตรงกับแคโรทีนอยด์ชนิดหลักที่สะสมในตัวตามธรรมชาติก็จะมีประสิทธิภาพการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวสูงขึ้น เพราะไม่ต้องนำแคโรทีนอยด์ในอาหารไปผ่านกระบวนการดัดแปลงโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ที่ปลาต้องการ[18]

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองเลี้ยงปลาช้างขวานเล็กด้วยอาหารผสมผงสาหร่าย *C. zeylanica* ที่ระดับต่างกัน 0, 5, 10, 15, 20% และอาหารผสมสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย *C. zeylanica* ระดับ 4 mg/kg พบว่าการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและปริมาณอาหารที่ปลากินของปลาทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนค่าความยาวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการรอดไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ค่าสีผิวหนังของปลาทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมสาหร่ายไฟที่ระดับ 20% ช่วยเพิ่มสีของปลาช้างขวานเล็กได้ดีที่สุดคือมีค่าสีแดงค่าสีเหลืองได้ดีที่สุดทั้งในปลาเพศผู้และเพศเมีย รวมถึงปลาที่มีการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวมากที่สุดและสูงกว่าปลาในชุดควบคุม

References

- [1] Seanjundaeng, P. (2014). *The encyclopedia of freshwater fishes of Thailand*. Khon Kaen: Klungnana Vitthaya Press. (in Thai)
- [2] Anuchart, P., et al. (2008). Effect of carotenoids from unicellular algae on pigmentation in gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Fisheries Technology Research*, 2(2): 55-67. (in Thai)
- [3] Samranrat, N., et al. (2013). *Metabolism of Carotenoid in Clownfish Species; False Percula Clownfish, (Amphiprion ocellaris Cuvie, 1830) Spine-check Anemonefish, Premnas biaculeatus (Bloch, 1790) Clark's Anemonefish, Amphiprion clarkii (Bennett, 1830) Spine-check Anemonefish, Premnas biaculeatus (Bloch, 1790) and Tomato Anemonefish, (Amphiprion frenatus Brevoort, 1856) (Research reports)*. Bangkok: Department of Fisheries. (in Thai)
- [4] Peerapompisal, Y. (2003). *Phycology*. Chiang Mai: Faculty of Science, Chiang Mai University. (in Thai)
- [5] Chankaew, W., et al. (2017). *Diversity of edible freshwater macroalgae and potential of red and green algae in Upper East Coast, Southern of Thailand for nutraceutical product (research report)* Nakhon Si Thammarat: Rajamangala University of Technology Srivijaya. (in Thai)

- [6] John, D. M., et al. (2002). *The freshwater algae flora of British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge: Cambridge University Press.
- [7] Sitwipoosiri, A. (2015). *Diversity of algae (Family Characeae) in the central region of the country*. (Master thesis, Kasetsart University). (in Thai)
- [8] AOAC. (1990). *Official Method of Analysis*. 15th ed. Alington, Virginia: AOAC.
- [9] KMUTT. (2001). *Laboratory instruction: a workshop on mass cultivation of Spirulina*. Bangkok: King Monkut's University of Technology. (in Thai)
- [10] Sae-Tan, K., et al. (2007). Comparative of analytical methods of carotenoid content of *Euglena sanguinea* Ehrenberg. In *The 45th Kasetsart University Annual Conference* (p. 705-711). 30 January – 2 February, 2007, Bangkok, Thailand. (in Thai)
- [11] Kraiurasre, S., et al. (2013). *Effect of vitamin E on ovarian development and growth of Trigonostigma espei (Kottelat & Witte, 1990)* (Research reports). Bangkok: Department of Fisheries. (in Thai)
- [12] National Research Council. (1993). *Nutrient requirement of fish*. Washington D.C.: National Academy Press.
- [13] Girolami, A. et al. (2013). Measurement of meat color using a computer vision system. *Meat Science*, 93(1), 111-118.
- [14] Chundum, S., et al. (2006). Habitat use by Lambchop Rasbosa (*Trigonostigma espei*) in the stream of Klung district, Chantaburi province, Thailand. *RMUTSV research journal*, 8(2), 289-298. (in Thai)
- [15] Rodloy, A., et al. (2018). *The effect of Spirulina platensis and astaxanthin on color and growth of Crossbreed Cichlid (Cichlasoma sp.)* (Research reports). Bangkok: Department of Fisheries. (in Thai)
- [16] Wattanakul, W., et al. (2019). *Application of freshwater red Alga, Caloglossa beccarii DeToni on color enhancement in Goldfish, Carassius auratus Linnaeus* (Research reports). Trang: Rajamangala University of Technology Srivijaya. (in Thai)
- [17] Puycha, K., (2016). Effect of Azolla (*Azolla pinnata* R. Br.) supplementation in diet on skin pigmentation of Goldfish (*Carassius auratus* Linn.). *Rajabhat Agriculture Journal*, 15(2), 9-16. (in Thai)
- [18] Phromkunthong, W. and Pipattanawattanakul, A. (2005). Effects of *Spirulina* sp. on growth performance and antibody levels in hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus* (Burchell). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27(Suppl.1), 115-132. (in Thai)