



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj>



ผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อสี สมรรถนะการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยา ในปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน

Effects of astaxanthin supplementation on color, growth performance and hematology values in red tilapia (*Oreochromis* sp.) grown in a recirculating water system

สุขสันต์ ขำคง¹, นิชนันท์ ชูเกิด¹, ณัฐนันท์ ศรีสกุลเตียว² และ พุทธพร พุ่มโรจน์^{1*}

Suksan Kumkhong¹, Nitchanan Chukerd¹, Nattanan Srisakultiew² and Phutthaphorn Phumrojana^{1*}

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง เลขที่ 46 หมู่ 3 ตำบล จอมบึง อำเภอบึง จังหวัด ราชบุรี 70150

¹ Department of Animal Science, Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajabhat University, 46 Moo 3, Chombueng Subdistrict, Chombueng District, Ratchaburi 70150, Thailand

² สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลขที่ 111 ตำบล สุรนารี อำเภอมือง จังหวัด นครราชสีมา 30000

² School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Muang, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระดับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารปลานิลแดงระยะวัยรุ่นที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 7.53 ± 0.56 g โดยผสมแอสต้าแซนธินในอาหาร ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 150, 300 และ 450 mg/kg ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ในถังเลี้ยงขนาดความจุ 100 L ความหนาแน่น 15 ตัว/บ่อ ในระบบน้ำหมุนเวียนที่มีการติดตั้งเครื่องให้อาหารอัตโนมัติและระบบเติมน้ำตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง เก็บผลการศึกษาที่ระยะเวลา 30 วัน (Sampling-I) และ 45 วัน (Sampling-II) ผลการศึกษาที่ระยะเวลา 30 วัน พบว่าอาหารผสมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 150-450 mg/kg ส่งผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา (Hematocrit) ค่าเคมีในเลือด (Total protein) ค่าสีเนื้อ (L*-Lightness และ a*-Redness) และค่าสีเกล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (a*-Redness และ b*-Yellowness) ($P < 0.05$) โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ ($P > 0.05$) ของปลานิลแดง ผลการศึกษาที่ระยะเวลา 45 วัน พบว่าอาหารผสมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 150-450 mg/kg ส่งผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา (Hemoglobin และ Hematocrit) ค่าเคมีในเลือด (Total protein) ค่าสีเนื้อและค่าสีเกล็ด (L*; a* และ b*) ($P < 0.05$) รวมถึงการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ (Total bacteria; *Bifidobacteria* spp. และ *Vibrio* spp.) ของปลานิลแดง ($P < 0.05$) โดยสรุปเมื่อสิ้นสุดการทดลองการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้นระดับ 300 mg/kg เป็นระดับที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการเลี้ยงปลานิลแดงระยะวัยรุ่นแบบระบบน้ำหมุนเวียน

คำสำคัญ: ปลานิลแดง; แอสต้าแซนธิน; ระบบน้ำหมุนเวียน

* Corresponding author: putthapompum@mcru.ac.th

Received: date; April 19, 2024 Revised: date; September 23, 2024

Accepted: date; September 24, 2024 Published: date; April 2, 2025

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the effect of supplemented astaxanthin in the feed of juvenile red tilapia with an average weight of 7.53 ± 0.56 g, supplemented with astaxanthin at concentrations of 0 (control), 150, 300, and 450 mg/kg, in triplicate. The fish were kept in plastic tanks containing 100 L of water at a density of 15 fish/tank in a recirculating water system, equipped with an automatic feeder and a water replenishment system to maintain water levels throughout the culture period. The study was conducted over two periods: 30 days (Sampling I) and 45 days (Sampling II). The results for 30 days, supplementation with astaxanthin at concentrations of 150-450 mg/kg affected growth performance, feed efficiency, hematology (hematocrit) blood chemistry, (total protein), muscle color (L^* -lightness and a^* -Redness) and scale color (a^* -Redness and b^* -Yellowness) ($P < 0.05$). However, it did not significantly affect intestinal microbiota populations ($P > 0.05$) in red tilapia. The results for 45 days, the feed supplemented with astaxanthin at concentrations of 150-450 mg/kg affected growth performance ($P < 0.05$), feed efficiency, hematology (hemoglobin and hematocrit), blood chemistry (total protein), muscle and scale color (L^* ; a^* and b^*) ($P < 0.05$), as well as intestinal microbiota (Total bacteria; *Bifidobacteria* spp. and *Vibrio* spp.) of red tilapia ($P < 0.05$). In conclusion, astaxanthin supplementation at a concentration of 300 mg/kg is the most suitable and effective level for juvenile red tilapia culture in a recirculating water system.

Keywords: red tilapia; Astaxanthin; recirculating water system

บทนำ

ปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) เป็นปลาในกลุ่มเดียวกับปลานิลที่ได้รับการยอมรับในการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว สามารถปรับตัวเข้ากับสภาวะการเลี้ยงได้ดี มีมูลค่าทางการตลาดสูง มีจุดเด่นเรื่องสีที่ดึงดูดความสนใจของผู้บริโภค (Arous et al., 2014) อย่างไรก็ตามรูปแบบการเลี้ยงและอนุบาลปลานิลแดงโดยเฉพาะช่วงอนุบาลปลานิลแดงที่มีขนาดตั้งแต่ 2-3 เซนติเมตร (cm) ที่ได้รับความนิยมนำมาเลี้ยงขุนด้วยอาหารทางการค้าเพื่อให้ได้น้ำหนักประมาณ 30-50 กรัม (g) ก่อนนำไปเลี้ยงเพื่อจำหน่ายเป็นปลาเนื้อในรูปแบบการเพาะเลี้ยงแบบเข้มข้นในระบบโรงเพาะฟักขนาดใหญ่รวมถึงรูปแบบกระชังลอยน้ำหรือบ่อดิน ยังคงประสบปัญหาเรื่องสีของตัวปลาซึ่งจะมีผลทำให้ราคาของปลานิลแดงลดต่ำลง สาเหตุหลักเกิดจากการขาดสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) โดยเฉพาะแอสต้าแซนธิน (Astaxanthin; AS) ที่สามารถพบได้บริเวณผิวหนังและเนื้อของปลานิลแดง (Galasso et al., 2017) ซึ่งปลาไม่สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยตนเอง (*de novo*) จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร เพื่อเสริมสร้างการเกิดสีบนตัวปลาให้มีสีสดตรงตามความต้องการของตลาด (Rahman et al., 2016) จากปัญหาดังกล่าวผู้เพาะเลี้ยงสามารถแก้ไขได้โดยการเติมสารสีผสมในอาหารเพื่อลดปัญหาการเกิดสีของปลาทั้งสารสีที่ได้จากธรรมชาติและสารสีสังเคราะห์ผสมในอาหารเพื่อแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าว (Choubert et al., 2006, 2010; Tejera et al., 2007)

แอสต้าแซนธินเป็นรงควัตถุในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่ได้รับการนิยมนำไปใช้เป็นส่วนเสริมเนื่องจากมีคุณสมบัติหลากหลาย เช่น เป็นสารเสริมอาหารเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีในกล้ามเนื้อ การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน การต้านทานเชื้อก่อโรค ลดความเครียดในปลา ส่งผลให้เนื้อปลามีคุณภาพดี (Elbahnaswy and Elshopakey, 2022) ซึ่งสามารถพบได้ตามธรรมชาติในสาหร่ายสีแดง (*Haematococcus Pluvialis*) กลุ่มสัตว์ทะเลจำพวกกุ้งและปู (Higuera-Ciapara et al., 2006) หรือได้จากการสังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมใช้เป็นส่วนเสริมเพื่อเพิ่มการเกิดสี และยังมีคุณสมบัติในการเป็นส่วนเสริมเพิ่มภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ ที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Guerin et al., 2003; Lorenz and Cysewski, 2000) โดยเฉพาะสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน (crustaceans) และปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น กลุ่มปลาแซลมอน (*Salmo salar*) ปลาเทราต์ (*Oncorhynchus mykiss*) รวมถึงกลุ่มปลาซวยงาม (Song et al., 2017; Wade et al., 2015, 2017) ที่ส่วนใหญ่เลี้ยงในรูปแบบการเพาะเลี้ยงแบบเข้มข้น เน้นการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารทางการค้าเป็นแหล่งอาหารเพื่อเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและได้ปริมาณผลผลิตสูงสุดต่อรอบของการเลี้ยง

จากการตรวจสอบเอกสารการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการศึกษาการเสริมแอสต้าแซนธิน ในปลาปักเป้า (*Takifugu obscurus*) น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 8 g ที่ระดับการเสริม 80-320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) มีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต การเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ (Cheng et al., 2015) ขณะที่การศึกษาของ Cheng et al. (2019) ที่ทำการศึกษาในปลากะพงขาว (*Lates Calcarifer*) การเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับ 50-150 mg/kg ของปลาช่วงน้ำหนักเฉลี่ย 25.08 g มีผลต่อการ

เพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและซีรั่มโกรทฮอร์โมน (serum growth hormone) อีกทั้งการเสริมแอสต้าแซนธินในปลาคาร์พ (Cyprinus carpio) ปลาช่วงน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 26.3 g ที่ระดับการเสริมแอสต้าแซนธิน 50 และ 100 mg/kg มีผลต่อการเสริมสร้างการเจริญเติบโต และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* (Jagruthi et al., 2014) มากว่านั้นการใช้แอสต้าแซนธินเป็นสารเสริมในอาหาร สามารถเพิ่มระดับค่าสีแดงในเนื้อปลา หนังปลาและตัวปลา ที่สามารถสร้างความน่าสนใจและมูลค่าของสัตว์น้ำให้สูงขึ้นจากการเพาะเลี้ยง (Harith et al., 2022; Wade et al., 2015, 2017; Rahman et al., 2016) อย่างไรก็ตามระดับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่เกินกว่าความต้องการอาจมีผลกระทบต่ออัตราการรอดของปลาที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระหว่างการเพาะเลี้ยง โดยการศึกษาในปลานิลแดง (*Oreochromis sp.*) ที่น้ำหนักเฉลี่ย 10.00 g จากรายงานการศึกษาของ Harith et al. (2022) การเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับ 4% และ 12% ในอาหารส่งผลต่อการลดลงของอัตราการรอดเช่นเดียวกับในปลาปอมปาดัวร์ (*Symphysodon spp.*) ที่น้ำหนักเฉลี่ย 10.30 g ที่ได้รับการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับ 300 และ 400 mg/kg ในอาหาร โดยระดับการเสริมแอสต้าแซนธินที่เพิ่มสูงขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงมีผลต่อการลดลงของอัตราการรอดของปลาเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมแอสต้าแซนธินในระดับที่ต่ำกว่าโดยเฉพาะช่วงปลาเล็ก (Fingerling) ที่มีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ต่ำกว่าช่วงระยะวัยรุ่น (Juvenile) (Song et al., 2017) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความแตกต่างของระดับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารปลานิลแดงที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี สมรรถนะการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา และปริมาณการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ โดยองค์ความรู้ที่ได้จะนำไปสู่รูปแบบการปรับเปลี่ยนการอนุบาลปลานิลแดงช่วงระยะวัยรุ่น รวมถึงปลาเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ ในรูปแบบการเพาะเลี้ยงและอนุบาลปลาเชิงพาณิชย์เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลผลิตเชิงการค้า

วิธีการศึกษา

การศึกษามูลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อสี สมรรถนะการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาในปลานิลแดง (*Oreochromis sp.*) ที่น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 7.53 ± 0.56 g ที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนถูกออกแบบให้มีความเหมาะสมตามหลักจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองเพื่องานวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง เลขที่ AS6611010 ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ประกอบด้วยกลุ่มสูตรอาหารที่มีระดับการเสริมแอสต้าแซนธิน (Astaxanthin; AS) ที่ระดับแตกต่างกัน 4 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 ไม่มีการเสริมแอสต้าแซนธิน (กลุ่มควบคุม; Control) กลุ่มที่ 2 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 150 mg/kg (AS-150) กลุ่มที่ 3 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 300 mg/kg (AS-300) กลุ่มที่ 4 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 450 mg/kg (AS-450) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (12 บ่อเลี้ยง) ผสมแอสต้าแซนธินกับอาหารผสมสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำสำหรับปลาทัตมิกกลาง (โปรตีน 30%, ไขมัน 3%) ให้อาหารวันละ 2 ครั้งแบบตั้งเวลา (เวลา 09.00 น. และ 16.00 น.) ด้วยเครื่องให้อาหารอัตโนมัติที่ระดับการให้อาหาร 5% ของน้ำหนักตัว/มื้ออาหาร เลี้ยงปลาในระบบน้ำหมุนเวียนที่มีการเติมอากาศและเติมน้ำในแต่ละชุดบ่อเลี้ยง ที่มีการรักษาระดับน้ำในระบบการเลี้ยง

การเตรียมปลาทดลอง

ปลานิลแดง (*Oreochromis spp.*) จากฟาร์มปลาเอกชนเชิงพาณิชย์ในท้องถิ่นปรับสภาพปลาในบ่อขนาดความจุ้น้ำ 2,000 ลิตร (L) มีเครื่องเติมอากาศและใช้ระบบหมุนเวียนน้ำแบบมีถังกรองตะกอนเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์เพื่อปรับสภาพปลานิลแดงให้คุ้นชินกับสภาพแวดล้อมของการเลี้ยง ก่อนสุมน้ำหนักปลา (whole body weight) เข้าการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 15 ตัว/บ่อ (ปริมาตรน้ำในถังเลี้ยง 100 L) น้ำหนักตัวปลาเริ่มต้นเฉลี่ย 7.53 ± 0.56 g รวมใช้ปลาทดลองทั้งหมดจำนวน 180 ตัว ทำการชั่งน้ำหนักปลารวมในแต่ละหน่วยทดลองเพื่อคำนวณน้ำหนักอาหารสำหรับปลา

การเตรียมบ่อทดลองและระบบน้ำหมุนเวียน

เตรียมถังเลี้ยงขนาดความจุ 100 L จำนวน 12 ถัง โดยติดตั้งปั๊มลมและเดินสายอากาศลงในถังเลี้ยงปลาเพื่อเพิ่มออกซิเจน ติดตั้งปั๊มน้ำแบบจุ่มและเดินท่อน้ำเพื่อเติมน้ำในถังเลี้ยงปลา (อัตราการไหล 1 ลิตร/นาท) ติดตั้งจุดเติมน้ำ (ถังพักน้ำ 2,000 L) เพื่อรักษาระดับน้ำในระบบโดยติดตั้งทุ่นรักษาระดับ ติดตั้งจุดน้ำล้นและพันตาข่ายอวนมุ้งไนลอนสีฟ้าขนาด 16 ตา/นิ้ว ขนาดกว้าง 10 cm บุบริเวณจุดน้ำล้นเพื่อป้องกันอาหารออกนอกถังเลี้ยง ระบบน้ำล้นมีการรวมน้ำล้นจากถังเลี้ยงเพื่อกรองกับระบบชุดกรองน้ำที่ประกอบด้วยถังพักตะกอนและถังกรองชีวภาพก่อนเวียนน้ำเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยง

เก็บข้อมูลคุณสมบัติของน้ำในระบบการเลี้ยงแบบน้ำหมุนเวียน ได้แก่อุณหภูมิ น้ำ อุณหภูมิอากาศ ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ทุกวันตลอดการเลี้ยงโดยใช้เครื่องตรวจวัดคุณภาพน้ำ (Hanna HI98194) และวิเคราะห์ แอมโมเนีย (NH_3/NH_4) ไนไตรท์ (NO_2^-) ในน้ำแบบรายสัปดาห์ โดยค่าอุณหภูมิน้ำอยู่ระหว่าง 26.50–29.20 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) อุณหภูมิอากาศ อยู่ระหว่าง 30.20–36.50 $^{\circ}\text{C}$ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำอยู่ระหว่าง 3.24–3.93 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 8.06–8.35z แอมโมเนียอยู่ระหว่าง 0.00–0.25 mg/L และไนไตรท์อยู่ระหว่าง 0.00–0.25 mg/L ตามลำดับ โดยตลอดช่วงระยะเวลาการเลี้ยงค่าคุณภาพน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสมที่ไม่จัดว่าเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ

การเตรียมอาหารทดลอง

ทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารปลาทางการค้า (32% โปรตีน และ 4% ไขมัน) เพื่อตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของอาหารปลานิลแดงได้แก่ การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง โปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ และเถ้า โดยอ้างอิงวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน AOAC (AOAC, 2010) ดังแสดงใน Table 1 ทำการผสมอาหารกับแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัันดังนี้ กลุ่มที่ 1 ไม่มีการเสริมแอสต้าแซนธิน (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 150 mg/kg กลุ่มที่ 3 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 300 mg/kg กลุ่มที่ 4 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 450 mg/kg โดยการละลายแอสต้าแซนธินในน้ำที่ปราศจากไอออนปริมาณ 200 mg/kg ทำการฉีดพ่นผสมให้ทั่วอาหารจนสังเกตเป็นสีเนื้อเดียวกันอย่างทั่วถึงในกล่องพลาสติก และนำไปอบให้แห้งในเตาอบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เก็บอาหารที่อบแห้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}\text{C}$ เพื่อใช้เลี้ยงปลาทดลองต่อไป

การจัดการการทดลอง

เลี้ยงปลานิลแดงเป็นระยะเวลา 45 วัน ให้อาหารปลาทุกวันโดยการใช้เครื่องให้อาหารแบบตั้งเวลาการให้อาหาร ทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และจำนวนปลาในแต่ละกระชังทุกวัน สุ่มชั่งน้ำหนักปลาทุกสัปดาห์เพื่อปรับปริมาณอาหารและเมื่อถึงระยะเวลา 30 วัน (Sampling-I) และ 45 วัน (Sampling-II) ของการเลี้ยง ทำการสุ่มชั่งน้ำหนักของปลาในแต่บ่อการทดลองจำนวน 5 ตัว/บ่อ ทำการสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู (10% clove oil) ที่ระดับความเข้มข้น 40 mL/L (Kumkhong et al., 2021) เพื่อเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักตัวปลา (body weight; BW) เพื่อนำข้อมูลมาคำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวและอัตราการรอด (Kumkhong et al., 2020a, 2020b) ดังสมการ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (g) (Weight gain; WG) = (final body weight (g) - initial body weight (g))

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (g/d) (Average daily gain; ADG) = (final body weight (g) - initial body weight (g)) / experimental days

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/d) (Specific growth rate; SGR) = $100 \times [(\ln \text{ final body weight} - \ln \text{ initial body weight}) / \text{experimental days}]$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed conversion ratio; FCR) = dry feed fed (g) / wet weight gain (g)

อัตราการรอด (%) (Survival rate; SR) = (Number of fish at the end of rearing / Number of initial fish stocked) $\times$ 100

แบ่งปลาจำนวน 2 ตัว/บ่อ เพื่อเก็บตัวอย่างเลือด (Caudal vein) โดยใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (K_2EDTA) เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดง (red blood cell) ระดับฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัด

แน่น (hematocrit) ค่าเคมีในพลาสมาได้แก่ ระดับกลูโคส (glucose) ระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ระดับคอเรสเตอรอล (total cholesterol) และระดับโปรตีนรวม (total protein) ทำการการุณยฆาต (euthanasia) ด้วยด้วยน้ำมันกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 100 mg/L (Martins et al., 2019) เพื่อทำการเก็บตัวอย่างลำไส้รวมของปลาเพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ ด้วยอาหารที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อจุลินทรีย์และเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อบริเวณด้านบน (Epaxial Muscle Mass) และทำการลอกหนังเพื่อวัดสีเกล็ดด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab รุ่น Mini Scan EZ 45/0 (LAV))

วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองใช้วิธีของ AOAC (2010) ดังนี้ การวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาล์ (Kjeldahl method), ปริมาณไขมันโดยวิธี ether-extraction, ปริมาณความชื้นโดยวิธี oven-drying, ปริมาณเถ้าโดยวิธี muffle furnace combustion ปริมาณเยื่อใยโดยวิธี acid-alkali digestion และวิเคราะห์ค่าพลังงาน (Gross energy) ในอาหารด้วยเครื่องวิเคราะห์ค่าพลังงาน (Bomb Calorimeter)

การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดทำการวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดง (red blood cell) โดยวิธี Neubauer hemocytometer โดยการเจือจางตัวอย่างเลือดกับน้ำยาที่ช่วยป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว (Grower's solution, (Voigt, 2000)) เจือจางเลือดตัวอย่างกับน้ำยาในอัตราส่วน 1:200 (dilution factor) นับจำนวนเม็ดเลือดแดงและคำนวณจากสูตรการคำนวณเม็ดเลือดแดง จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC (cell $\times 10^{12}/L$)) = (จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ (cell) $\times$ dilution factor (200)) / ปริมาตรที่ใช้นับ

ค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) ทำการดูดเลือดเข้าไป 3/4 ของความยาวหลอด capillary tube ปิดปลายข้างหนึ่งด้วยดินน้ำมัน ทำการปั่นหลอดบรรจุเลือดด้วยเครื่องปั่น (microhematocrit centrifuge) ด้วยอัตราเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลานาน 5 นาที และทำการคำนวณจากสูตรการคำนวณปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit (%)) = ((ความสูงของชั้นเม็ดเลือดแดง (mm) / ความสูงของหลอดทั้งหมด (mm)) $\times$ 100)

การหาของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ตามวิธีการของ photometrical cyanohemoglobin method ด้วยวิธีเทียบสี (Colorimetric method) โดยการใส่น้ำยา Drabkin's ลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร (ml) ดูดตัวอย่างเลือด 4 ไมโครลิตร (μ L) ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,000 g เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนนิวเคลียสของเม็ดเลือดแดงและเศษของเซลล์และนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (O.D.) โดยใช้เครื่อง spectrophotometer วัดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (nm) โดยใช้ น้ำยา Drabkin's เป็น blank แล้วอ่านค่าฮีโมโกลบิน จากกราฟแสดง standard calibration curve จากการวัดเทียบกับ standard hemoglobin (g/dL) (Pal, 2006)

การตรวจวิเคราะห์ค่าเคมีในพลาสมาเพื่อตรวจสอบผลการเสริมแอสตาแซนธิน ต่อสุขภาพของปลาและสถานะทางโภชนาการ โดยการนำตัวอย่างเลือดมาทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกพลาสมาโดยการปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงอัตราเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 5 นาที และเก็บตัวอย่างพลาสมาโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C ก่อนการนำไปวิเคราะห์ค่าเคมีในพลาสมาที่ประกอบด้วย ระดับกลูโคสโดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้วิธีของ Trinder's method (Trinder, 1969) ประเมินปริมาณไตรกลีเซอไรด์โดยใช้วิธีการ glycerol-3 phosphate oxidase-sodium N-ethyl-N-(3-sulfopropyl) *m*-anisidine method ที่อธิบายโดย Bucolo and David, 1973 การตรวจวัดระดับโคเลสเตอรอลในเชิงปริมาณโดยใช้วิธี cholesterol oxidase-phenol + aminophenazone (CHOD-PAP) อธิบายโดย Flegg, 1973 และการตรวจวัดหาปริมาณโปรตีนในพลาสมาโดยใช้วิธีการ Biuret method (Gornall et al., 1949)

การวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลแดง หลังจากการทดลองเป็นระยะเวลา 30 และ 45 วัน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างลำไส้ปลานิลแดงครั้งละ 2 ตัว/บ่อ โดยใช้กรรไกรผ่าตัดที่ปลอดเชื้อตัดบริเวณบริเวณช่องท้องจนเห็นทางเดินอาหารแล้วทำการตัดแยกส่วนที่เป็นลำไส้ออกมา (Wu et al., 2021) นำลำไส้ปลามาบดให้ละเอียดในโถงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำมาเจือจางด้วยสารละลาย 0.85% sodium chloride ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 และ 1 : 100 (ten folded dilutions) จากนั้นทำการตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี viable plate count ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะต่อจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total bacteria count) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด plate count agar (PCA) แบคทีเรียในสกุล *Vibrio* (*Vibrio* spp.) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ thiosulphate citrate bile salt sucrose (TCBS) และจุลินทรีย์จำพวกเชื้อรา (Yeast and fungi) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ sabouraud dextrose agar ทำการบ่มเชื้อ

ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นระยะเวลาเวลา 18-24 ชั่วโมง และแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก (lactic acid bacteria) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ lactobacillus agar (MRS) บิฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria spp.) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ bifidobacterium agar ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C เป็นระยะเวลาเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตจากจำนวนโคโลนีที่ได้จากการบ่มเชื้อที่มีจำนวน 30-300 โคโลนี (Colony) คำนวณจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่นับได้ทั้งหมดต่อกรัมและรายงานผลเป็น colony forming unit (CFU)/gram (Rawling et al., 2009) จากสูตร colony forming unit/gram = จำนวนโคโลนี x ส่วนกลับของระดับความเจือจาง

การวัดค่าสีในเนื้อและกล้ามเนื้อปลาทำการเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อปลานิลแดงบริเวณด้านบน (Epaxial Muscle Mass) หลังจากการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 45 วัน ทำการสับตัวอย่างปลานิลแดงโดยใช้มีดผ่าตัดที่ปราศจากเชื้อตัดบริเวณกล้ามเนื้อและทำการลอกหนังเพื่อวัดสีเนื้อและสีกล้ามเนื้อด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab รุ่น Mini Scan EZ 45/0 (LAV) เพื่อเก็บข้อมูลค่าสีเนื้อและค่าสีกล้ามเนื้อที่เปลี่ยนแปลงได้แก่ค่า L* (lightness) ค่าความสว่าง a* (redness) ค่าสีแดง และ b* (yellowness) ค่าสีเหลือง (Wade et al., 2012)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างและผลการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความแตกต่างของข้อมูลโดยการวิเคราะห์ หากค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (Analysis of Variance, one-way ANOVA) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ Post-hoc เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Tukey's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม RStudio R version 4.3.2 (2023-10-31ucrt)

Table 1 Nutrients compositions of commercial feed (g/kg as dry basis)

Components	g/kg (dry matter basis)
Dry matter	956.31
Crude protein	333.38
Crude lipid	37.58
Crude fiber	57.40
Ash	108.99
Gross energy (kJ/g)	17.88

ผลการศึกษา

การศึกษาผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับคือ กลุ่มที่ 1 ไม่มีการเสริมแอสต้าแซนธิน (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 150 mg/kg กลุ่มที่ 3 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 300 mg/kg กลุ่มที่ 4 มีการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 450 mg/kg ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน ผลจากการศึกษาพบว่า การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารมีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลแดงที่เลี้ยงในระบบน้ำแบบหมุนเวียน ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของค่าน้ำหนักตัวปลา (BW) น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (WG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) โดยมีผลตั้งแต่ระดับการเสริมที่ 150-450 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริม ($P<0.05$) การเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ($P<0.05$) โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการรอดชีวิตที่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ทั้งที่ระยะการศึกษาที่ 30 วัน และ 45 วัน หลังจากกินอาหารที่มีการเสริมแอสต้าแซนธิน ดังแสดงใน Table 2

ค่าองค์ประกอบเลือดที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 30 วัน การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ระดับการเสริมที่ 150-450 mg/kg ($P<0.05$) โดยที่ระดับการเสริม 300 และ 450 mg/kg มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงและค่าของฮีโมโกลบิน ($P>0.05$) ขณะที่

ระยะเวลาการศึกษาที่ 45 วัน การเสริมแอสต้าแซนธิน มีผลต่อการเพิ่มฮีโมโกลบินและค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในกลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมแอสต้าแซนธินตั้งแต่ระดับ 150-450 mg/kg ($P<0.05$) โดยเฉพาะช่วงการเสริมที่ 300-450 mg/kg มีผลต่อการเพิ่มระดับสูงสุด ($P<0.05$) และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดแดง ($P>0.05$) เช่นเดียวกับที่ระยะการศึกษาที่ 30 วัน (Table 3)

Table 4 แสดงผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเคมีในเลือดได้แก่ ระดับกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลและระดับโปรตีนรวม การศึกษาพบว่า การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนรวมในปลาสมาย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งที่ระยะการศึกษาที่ 30 และ 45 วัน โดยเฉพาะช่วงระดับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 300 และ 450 mg/kg ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนรวมในปลาสมาย่างมีนัยสำคัญที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอล ($P>0.05$) ทั้งที่ระยะเวลา 30 วัน และ 45 วันของการทดลอง ($P>0.05$)

ผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิลแดงที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน ระยะเวลาการศึกษาที่ 30 วัน การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารไม่พบความแตกต่างของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ ($P>0.05$) (แบคทีเรียทั้งหมด; Total bacteria count, แบคทีเรียในสกุลวibriโอ; *Vibrio* spp., จุลินทรีย์จำพวกเชื้อรา; Yeast and fungi, แบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก; lactobacillus และบิฟิโดแบคทีเรีย; *Bifidobacteria* spp. ในขณะที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 45 วัน พบว่าการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารสามารถปรับปรุงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลานิลแดง โดยสามารถเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacteria) เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacteria* spp.) และลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคกลุ่มวibriโอ (*Vibrio* spp.) โดยเฉพาะที่ระดับการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับความเข้มข้น 300-450 mg/kg ที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 45 วัน ($P<0.05$) (Table 5)

ผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อการเพิ่มค่าสีเนื้อ (Table 6) และค่าสีเกล็ด (Table 7) ของปลานิลแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าการเสริมแอสต้าแซนธินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อและค่าสีเกล็ดของปลานิลแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกลุ่มที่ได้รับเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 150-450 mg/kg มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อ ($P<0.05$) ค่าความสว่าง L^* (Lightness) และค่าสีแดง a^* (Redness) ในระยะเวลาการศึกษาที่ 30 วัน โดยที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 45 วัน กลุ่มที่ได้รับเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 150-450 mg/kg ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีเนื้อทั้งหมด (ค่าความสว่าง L^* (Lightness) ค่าสีแดง a^* (Redness) และค่าสีเหลือง b^* (Yellowness)) ($P<0.05$) โดยกลุ่มที่ได้รับเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 300 และ 450 mg/kg แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ (Table 6) เช่นกันกับผลของผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อค่าสีเกล็ดของปลานิลแดงที่ระดับ 150-450 mg/kg ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีเกล็ด (ค่าสีแดง a^* (Redness) และค่าสีเหลือง b^* (Yellowness)) ($P<0.05$) ที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 30 วัน ขณะที่ระยะเวลาการศึกษาที่ 45 วัน การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อค่าสีเกล็ดของปลานิลแดงที่ระดับ 150-450 mg/kg ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีเกล็ดทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าความสว่าง L^* (Lightness) ค่าสีแดง a^* (Redness) และค่าสีเหลือง b^* (Yellowness)) ($P<0.05$) โดยเฉพาะที่ระดับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 300 และ 450 mg/kg แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าสีเกล็ดของปลานิลแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 7

Table 2 Growth performance of red tilapia after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹
(mean $\pm$ SD)

Treatment	INI ² (g)	BW ³ (g)	WG ⁴ (g)	ADG ⁵ (g/d)	SGR ⁶ (%/d)	FCR ⁷	SR ⁸ (%)
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>							
Control	7.57 $\pm$ 0.74	24.87 $\pm$ 1.03 ^b	17.29 $\pm$ 0.47 ^c	0.62 $\pm$ 0.02 ^c	4.26 $\pm$ 0.23 ^b	1.74 $\pm$ 0.05 ^a	100.00 $\pm$ 0.00
AS-150	7.50 $\pm$ 0.33	28.33 $\pm$ 2.08 ^b	20.83 $\pm$ 1.97 ^b	0.74 $\pm$ 0.07 ^b	4.74 $\pm$ 0.24 ^{ab}	1.45 $\pm$ 0.14 ^b	100.00 $\pm$ 0.00
AS-300	7.38 $\pm$ 0.80	32.33 $\pm$ 1.15 ^a	24.95 $\pm$ 1.95 ^a	0.89 $\pm$ 0.07 ^a	5.29 $\pm$ 0.50 ^a	1.21 $\pm$ 0.10 ^c	100.00 $\pm$ 0.00
AS-450	7.67 $\pm$ 0.58	31.67 $\pm$ 0.58 ^a	24.00 $\pm$ 0.32 ^{ab}	0.86 $\pm$ 0.01 ^{ab}	5.07 $\pm$ 0.22 ^a	1.25 $\pm$ 0.02 ^c	97.22 $\pm$ 4.81
SEM	0.060	1.717	1.732	0.062	0.225	0.120	0.694
<i>P-Value</i>	0.954	<0.001	0.001	0.001	0.020	<0.001	0.441
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>							
Control		44.69 $\pm$ 0.46 ^c	37.12 $\pm$ 1.19 ^c	0.82 $\pm$ 0.03 ^c	3.95 $\pm$ 0.24 ^b	2.23 $\pm$ 0.07 ^a	93.33 $\pm$ 5.77
AS-150		48.53 $\pm$ 0.48 ^b	41.03 $\pm$ 0.47 ^b	0.91 $\pm$ 0.01 ^b	4.15 $\pm$ 0.09 ^{ab}	2.02 $\pm$ 0.02 ^b	96.67 $\pm$ 5.77
AS-300		55.2 $\pm$ 2.37 ^a	47.82 $\pm$ 2.06 ^a	1.06 $\pm$ 0.05 ^a	4.48 $\pm$ 0.2 ^{ab}	1.73 $\pm$ 0.08 ^c	93.33 $\pm$ 5.77
AS-450		53.46 $\pm$ 0.92 ^a	45.79 $\pm$ 1.06 ^a	1.02 $\pm$ 0.02 ^a	4.32 $\pm$ 0.17 ^a	1.81 $\pm$ 0.04 ^c	96.67 $\pm$ 5.77
SEM		2.388	2.406	0.053	0.113	0.112	0.962
<i>P-Value</i>		<0.001	<0.001	<0.001	0.039	<0.001	0.802

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05). ²INI (Initial weight); ³BW (Body weight); ⁴WG (Weight gain); ⁵ADG (Average daily gain); ⁶SGR (Specific growth rate); ⁷FCR (Feed conversion ratio); ⁸SR (Survival rate); SEM = Standard error of the means

Table 3 Hematological parameters of red tilapia after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹ (mean ± SD)

Treatment	RBC ² (cell x 10 ¹² /L)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>			
Control-3	1.70±0.03	48.26±4.11	22.89±1.22 ^b
AS-150	1.69±0.09	58.33±5.71	24.29±0.81 ^b
AS-300	1.79±0.06	51.24±3.02	27.40±0.19 ^a
AS-450	1.77±0.08	48.26±4.11	28.41±0.32 ^a
SEM	0.025	2.376	1.295
<i>P-Value</i>	0.261	0.066	<0.001
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>			
Control-3	1.82±0.05	50.37±4.48 ^b	27.08±0.18 ^b
AS-150	1.83±0.07	51.99±1.14 ^{ab}	29.76±1.45 ^a
AS-300	1.88±0.12	58.96±5.60 ^{ab}	30.50±0.53 ^a
AS-450	1.83±0.05	62.19±4.42 ^a	30.39±0.93 ^a
SEM	0.015	2.809	0.802
<i>P-Value</i>	0.738	0.027	0.005

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05). ²RBC = red blood cell count.

SEM = Standard error of the means

Table 4 Plasma metabolites parameters of red tilapia after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹ (mean ± SD)

Treatment	Glucose (mM)	Triglyceride (mM)	Cholesterol (mM)	Total protein (g/L)
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>				
Control	3.37±0.27	1.75±0.10	1.68±0.16	29.58±0.91 ^b
AS-150	3.50±0.76	1.96±0.09	1.71±0.17	32.74±0.85 ^a
AS-300	3.43±1.01	1.90±0.48	1.62±0.10	32.13±0.58 ^a
AS-450	3.40±0.91	1.88±0.16	1.69±0.13	33.40±0.51 ^a
SEM	0.195	0.068	0.036	0.472
<i>P-Value</i>	0.998	0.792	0.892	0.001
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>				
Control	4.39±0.85	2.48±0.33	1.92±0.34	32.46±0.29 ^c
AS-150	4.42±0.56	2.81±0.23	1.85±0.09	32.68±0.42 ^c
AS-300	4.36±0.65	2.96±0.37	1.89±0.03	34.84±0.97 ^b
AS-450	4.51±0.33	2.54±0.19	1.83±0.06	36.89±0.82 ^a
SEM	0.156	0.093	0.046	0.569
<i>P-Value</i>	0.991	0.210	0.929	<0.001

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05).

SEM = Standard error of the means

Table 5 Intestinal microbiota of red tilapia (log CFU/g) after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹

Treatment	Total bacteria	Lactic acid bacteria	<i>Bifidobacteria</i> spp.	<i>Vibrio</i> spp.	Yeast and fungi
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>					
Control	5.63±0.02	3.58±0.03	5.57±0.03	3.54±0.06	3.39±0.09
AS-150	5.66±0.03	3.50±0.04	5.60±0.02	3.56±0.03	3.47±0.34
AS-300	5.70±0.01	3.47±0.07	5.63±0.06	3.45±0.08	3.45±0.08
AS-450	5.65±0.07	3.54±0.06	5.62±0.06	3.54±0.00	3.47±0.07
SEM	0.012	0.018	0.013	0.019	0.047
<i>P-Value</i>	0.318	0.144	0.398	0.113	0.939
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>					
Control	5.59±0.03 ^c	3.60±0.05	5.59±0.03 ^b	3.60±0.05 ^a	3.47±0.07
AS-150	5.67±0.02 ^b	3.59±0.11	5.64±0.00 ^b	3.48±0.00 ^b	3.67±0.14
AS-300	5.74±0.02 ^a	3.50±0.04	5.73±0.03 ^a	3.40±0.00 ^b	3.62±0.08
AS-450	5.71±0.02 ^{ab}	3.44±0.13	5.71±0.02 ^a	3.45±0.05 ^b	3.58±0.03
SEM	0.018	0.030	0.018	0.024	0.031
<i>P-Value</i>	<0.001	0.168	<0.001	0.001	0.127

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05).

SEM = Standard error of the means

Table 6 Muscular color of red tilapia after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹

Treatment	L* (Lightness)	a* (Redness)	b* (Yellowness)
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>			
Control	44.97±2.72 ^b	1.43±0.32 ^b	8.00±0.34
AS-150	37.73±1.13 ^b	3.06±0.46 ^a	8.42±0.72
AS-300	38.68±2.11 ^b	3.15±0.18 ^a	8.49±1.97
AS-450	35.34±1.63 ^a	3.66±0.58 ^a	8.78±0.87
SEM	1.179	0.272	0.294
<i>P-Value</i>	0.002	0.001	0.866
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>			
Control	40.98±0.50 ^a	1.77±0.38 ^b	8.50±0.67 ^b
AS-150	38.62±1.00 ^{ab}	3.36±0.22 ^a	9.70±0.23 ^b
AS-300	38.26±1.30 ^{ab}	4.42±0.75 ^a	13.87±0.93 ^a
AS-450	35.32±2.41 ^b	4.17±0.94 ^a	14.34±0.60 ^a
SEM	0.708	0.349	0.784
<i>P-Value</i>	0.011	0.004	<0.001

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05).

SEM = Standard error of the means

Table 7 Scale color of red tilapia after fed diets supplementation with astaxanthin for 30 and 45 days¹

Treatment	L* (Lightness)	a* (Redness)	b* (Yellowness)
<i>Period-I (sampling at 30 days)</i>			
Control	52.93±0.93	-1.69±0.35 ^c	4.20±0.59 ^b
AS-150	52.93±0.93	2.53±0.14 ^b	4.86±0.58 ^{ab}
AS-300	52.38±0.44	4.91±0.49 ^a	5.15±0.30 ^{ab}
AS-450	53.89±2.96	4.35±0.97 ^a	5.73±0.34 ^a
SEM	0.425	0.793	0.203
<i>P-Value</i>	0.812	<0.001	0.024
<i>Period-II (sampling at 45 days)</i>			
Control	51.18±1.98 ^a	3.50±0.22 ^b	6.50±0.50 ^b
AS-150	48.84±3.56 ^a	6.55±0.79 ^a	10.69±1.67 ^a
AS-300	42.71±0.94 ^b	7.56±1.02 ^a	10.85±0.21 ^a
AS-450	42.66±0.59 ^b	7.68±0.77 ^a	11.63±0.64 ^a
SEM	1.245	0.541	0.647
<i>P-Value</i>	0.002	<0.001	0.001

¹Means with different superscripts in each column differ significantly from each other (P<0.05).

SEM = Standard error of the means

วิจารณ์

การศึกษาค้นคว้าของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อสี สมรรถนะการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาในปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนมีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลแดงโดยมีผลตั้งแต่ระดับการเสริมที่ 150-450 mg/Kg เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริม และเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ทั้งที่ระยะการศึกษาที่ 30 วัน และ 45 วัน หลังจากกินอาหารที่มีการเสริมแอสต้าแซนธิน เช่นเดียวกับการศึกษาค้นคว้าของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ระดับ 28.6-44.3 mg/kg (Hu et al., 2006), ปลาคู้แดง (*Piaractus mesopotamicus*) ที่ระดับการเสริมแอสต้าแซนธิน 105.1 g/kg (Bacchetta et al., 2019) ปลาคาร์ฟ (*Cyprinus carpio*) ที่ระดับ 50 และ 100 mg/kg (Jagruthi et al., 2014) และกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่ระดับการเสริม 105.1 g/kg (Niu et al., 2014) อาจเป็นเพราะแอสต้าแซนธินมีผลต่อการควบคุมการเผาผลาญอาหารของสัตว์น้ำผ่านกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารมีผลต่อการส่งเสริมการย่อยอาหาร การดูดซึมและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่ปลาได้รับ (Baron et al., 2008; Zhang et al., 2013) ส่งผลให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของปลานิลแดงเพิ่มขึ้น โดยเมื่อสิ้นสุดการศึกษาไม่พบความแตกต่างของอัตราการรอดตายของปลานิลแดงทุกระดับของการเสริมแอสต้าแซนธิน (150–450 mg/Kg) สอดคล้องกับรายงานวิจัยการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่ระดับ 50, 100 และ 150 mg/Kg และปลาคาร์ฟ (*Cyprinus carpio*) ที่ระดับ 50 และ 100 mg/Kg การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการรอดของปลาที่แตกต่างกันตลอดการทดลอง (Lim et al., 2019; Jagruthi et al., 2014) ขณะที่ปลาลำเจียกให้ผลตรงกันข้าม เช่นในปลาลำเจียก (*Symphysodon* spp.) ที่เสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับ 300 และ 400 mg/Kg มีผลต่ออัตราการรอดที่ลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง รวมถึงในปลาแซลมอนแอตแลนติก (*Salmo salar*) การเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับการเสริม 317.3 mg/Kg มีผลต่อการลดลงของอัตราการรอดของปลา (Song et al., 2024; Christianse et al., 1995) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงระดับความเข้มข้นของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารปลาแต่ละชนิดมีระดับความเข้มข้น

เหมาะสมที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิด สิ่งแวดล้อม และรูปแบบการเลี้ยงที่มีผลต่ออัตราการรอดของปลาตลอดระยะเวลาของการเลี้ยง (Pham et al., 2014)

การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดเพื่อประเมินผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงสุขภาพของปลาหลังจากที่ได้รับการเสริมแอสต้าแซนธิน ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือดของปลานิลแดงแสดงให้เห็นผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต ที่ระดับการเสริม 150-450 mg/Kg โดยเฉพาะที่ระดับการเสริมที่ 300 และ 450 mg/Kg ค่าเคมีในเลือดของปลานิลแดงแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในพลาสมา (Total protein) ที่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นที่ระดับการเสริมที่ 300 และ 450 mg/Kg ขณะที่ค่าระดับกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ และไม่มี ความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาในปลาแคร์ฟ (*Cyprinus carpio*) การเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับ 50 และ 100 mg/Kg มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับ จำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริตและระดับโปรตีนรวมในพลาสมา ที่มีผลต่อการฟื้นฟูระบบโลหิตวิทยาและปรับระบบภูมิคุ้มกัน ในปลาแคร์ฟที่มีการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (Jagruthi et al., 2014) เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้แอสตาแซนธินที่มีผลต่อสรีรวิทยาการลอกคราบของกุ้ง โดยการเพิ่มระดับของอีโมลิฟ (haemolymph ecdysteroid) ในเลือดซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา (Chang, 1997) เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาในปลานิลแดงที่ได้รับการเสริมแอสต้าแซนธินในอาหาร

การเสริมแอสต้าแซนธินทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในลำไส้ของสัตว์น้ำที่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร เพื่อการเสริมสร้างสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา (Elbahnasy and Elshopakey, 2022; Sivieri et al., 2017) การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมแอสต้าแซนธินพบว่า การเสริมแอสต้าแซนธินมีผลต่อการเพิ่มของจำนวนประชากรจุลินทรีย์รวม (Total bacteria) และจุลินทรีย์กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacteria* spp.) และมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) โดยเฉพาะที่ระดับการเสริม 300 และ 450 mg/Kg เช่นเดียวกับรายงานผลของการศึกษาของ Vasudevan et al. (2006) ที่พบว่าการเสริมแอสต้าแซนธินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลาสดหางดาบ (*Xiphophorus helleri israeli*) รวมถึงการเปลี่ยนแปลงต่อการเพิ่มประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) (Song et al., 2024) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาผลของการเสริมแอสต้าแซนธินในปลาแคร์ฟที่ระดับ 50 และ 100 mg/Kg มีผลต่อต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (Jagruthi et al., 2014) และการศึกษาของ Wang et al. (2015) ที่แสดงผลของการเสริมแอสต้าแซนธินที่ระดับ 80 mg/Kg ในอาหารกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการยับยั้งการตายจากโรคจุดขาวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Chthyophthirius multifiliis* กล่าวโดยสรุปผลการศึกษาในปลานิลแดงแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการเสริมแอสต้าแซนธินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยสามารถเพิ่มกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และลดจำนวนกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ก่อโรคส่งต่อการเสริมสร้างสุขภาพและระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลานิลแดง

ในการศึกษานี้การเสริมแอสต้าแซนธิน 150 - 450 mg/Kg มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของเนื้อปลาและสีเกล็ดปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่าแอสต้าแซนธินส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง (L^* lightness) และค่าสีแดง (a^* Redness) และค่าสีเหลือง (b^* Yellowness) เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ระดับ 300 และ 450 mg/Kg มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีที่สูงที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Harith et al. (2022) ที่แสดงให้เห็นถึงผลของการเสริมแอสตาแซนธินในอาหารปลานิลแดง (*Oreochromis* sp) ที่ระดับ 4% - 12% ในอาหารมีผลต่อการเพิ่มค่าสีแดงของหนังปลา (a^* Redness) เช่นเดียวกับปลาเรนโบว์เทราท์ (*Oncorhynchus mykiss*) สามารถช่วยเพิ่มการสร้างเม็ดสีของกล้ามเนื้อ (50 - 100 mg/Kg) โดยการเสริมแอสต้าแซนธินส่งผลให้ค่าความสว่างลดลง (L^* lightness) ค่าสีแดง (a^* Redness) และค่าสีเหลือง (b^* Yellowness) เพิ่มขึ้น โดยที่ระดับการเสริมที่ 75 mg/Kg มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ การศึกษาในปลาปอมปาดัวร์ (*Symphysodon* spp.) แอสต้าแซนธินช่วยเพิ่มการสร้างเม็ดสีในร่างกายมีผลให้ค่าความสว่างลดลง (L^* lightness) และมีค่าสีแดง (a^* Redness) และค่าสีเหลือง (b^* Yellowness) ที่ระดับการเสริม 300 mg/Kg ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ และที่ระดับการเสริม 50 mg/Kg ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ (Song et al., 2017) รวมถึงการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่การเสริมแอสต้าแซนธิน 50 และ 100 mg/Kg มีผลต่อการเพิ่ม

ค่าสีแดงเปลือกกุ้ง (Tume et al., 2009; Wade et al., 2017) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของการเสริมแอสต้าแซนธินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเกิดสีในเนื้อปลาและสีของเกล็ดปลาที่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณการเสริมแอสต้าแซนธินโดยเฉพาะค่าการเกิดค่าสีแดง (a* Redness) และค่าสีเหลือง (b* Yellowness) ที่สอดคล้องกับปริมาณความเข้มข้นของสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ ที่แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของค่าสีแดง (a* Redness) ค่าสีเหลือง (b* Yellowness) และการลดลงของค่าความสว่าง (L* lightness) (Rahman et al., 2016)

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเลี้ยงปลานิลแดงระยะวัยรุ่นในระบบน้ำหมุนเวียนด้วยอาหารผสมแอสต้าแซนธินต่อสี สมรรถนะการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาในปลานิลแดง ผลการศึกษาพบว่า การเสริมแอสต้าแซนธินในอาหารที่ระดับความเข้มข้น 300 mg/Kg เป็นระดับที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการใช้เป็นสารเสริมสำหรับการเพาะเลี้ยงปลานิลแดงเพื่อเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต สุขภาพ การเพิ่มความเข้มข้นของการสร้างเม็ดสีของเนื้อและเม็ดสีของเกล็ด รวมถึงปริมาณกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเชิงลึกเพิ่มเติม ถึงผลของการเสริมแอสต้าแซนธินต่อคุณภาพเนื้อและผลต่อการกระตุ้นการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของปลานิลแดง เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางสาวกาญจนา สุราภา นักวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง ที่ให้คำแนะนำในการรายงานผลการศึกษาด้านประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาและช่วยเหลือในการดำเนินการทดลองจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Arous, W. H., N. M. El-bermawi, O. E. Shaltout, and M. A. E. Essa. 2014. Effect of adding different carotenoid sources on growth performance, pigmentation, stress response and quality in red Tilapia (*Oreochromis spp.*). Middle East Journal of Applied Sciences. 4: 988–999.
- AOAC. 2010. Official Methods of Analysis. 18th Edition, Revision 3. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Bacchetta, C., A. S. Rossi, R. E. Cian, S. R. Drago, and J. Cazenave. 2019. Dietary β -carotene improves growth performance and antioxidant status of juvenile *Piaractus mesopotamicus*. Aquaculture Nutrition. 25: 761–769.
- Baron, M., S. Davies, L. Alexander, D. Snellgrove, and K. Sloman. 2008. The effect of dietary pigments on the coloration and behaviour of fame-red dwarf gourami, *Colisa lalia*. Animal Behaviour. 75: 1041–1051.
- Bucolo, G., and H. David. 1973. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. Clinical Chemistry. 19: 476–482.
- Chang, E. S. 1997. Chemistry of crustacean hormones that regulate growth and reproduction. P. 163–178. In: M. Fingerman, R. Nagabhushanam, and M.-F. Thompson. Recent Advances in Marine Biotechnology Science. Publishers Enfield. NH. USA.

- Cheng, J. H., D. W. Sun, X. A. Zeng, and D. Liu. 2015. Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55: 1012-1025.
- Cheng, C. H., Z. X. Guo, C. X. Ye, and A. L. Wang. 2018. Effect of dietary astaxanthin on the growth performance, non-specific immunity, and antioxidant capacity of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under high temperature stress. *Fish Physiology and Biochemistry*. 44: 209-218.
- Christiansen, R., O. Lie, and O. J. Torrissen. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different dietary levels of astaxanthin. First-feeding fry. *Aquaculture Nutrition*. 1: 189-198.
- Choubert, G., M. M. Mendes-Pinto, and R. Morais. 2006. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. *Aquaculture*. 257: 429-436.
- Choubert, G. 2010. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to varying dietary astaxanthin/canthaxanthin ratio: colour and carotenoid retention of the muscle. *Aquaculture Nutrition*. 16: 528-535.
- Elbahnaswy, S., and G. E. Elshopakey. 2022. Recent progress in practical applications of a potential carotenoid astaxanthin in aquaculture industry: a review. *Fish Physiology and Biochemistry*. 50: 97-126.
- Flegg, H. M. 1973. Ames award lecture 1972. An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. *Annals of Clinical Biochemistry*. 10: 79-84.
- Galasso, C., C. Corinaldesi, and C. Sansone. 2017. Carotenoids from marine organisms: Biological functions and industrial applications. *Antioxidants*. 6: 1-33.
- Gornall, A. G., C. J. Bardawill, and M. M. David. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*. 177: 751-766.
- Guerin, M., M. Huntley, and M. Olaizola. 2003. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*. 21: 210-216.
- Harith, Z. T., S. M. Sukri, N. F. S. Remlee, F. N. M. Sabir, and N. N. A. Zakaria. 2022. Effects of dietary astaxanthin enrichment on enhancing the colour and growth of red tilapia, *Oreochromis* sp. *Aquaculture and Fisheries*. 9: 52-56.
- Higuera-Ciapara, I., L. Felix-Valenzuela, and F. Goycoolea. 2006. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46: 185-196.
- Hu, C. J., S. M. Chen, C. H. Pan, and C. H. Huang. 2006. Effects of dietary vitamin A or β -carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*. *Aquaculture*. 253: 602-607.
- Jagruthi, C., G. Yogeshwari, S. M. Anbazahan, L. S. S. Mari, J. Arockiaraj, P. Mariappan, G. R. L. Sudhakar, C. Balasundaram, and R. Hari Krishnan. 2014. Effect of dietary astaxanthin against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish and Shellfish Immunology*. 41: 674-680.
- Kumkhong, S., L. Marandel, E. Plagnes-Juan, V. Veron, S. Boonanuntanasarn, and S. Panserat. 2020a. Glucose injection into yolk positively modulates intermediary metabolism and growth performance in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Frontiers in Physiology*. 11: 1-15.

- Kumkhong, S., L. Marandel, E. Plagnes-Juan, V. Veron, S. Panserat, and S. Boonanuntanasarn. 2020b. Early feeding with hyperglucidic diet during fry stage exerts long-term positive effects on nutrient metabolism and growth performance in adult tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Nutritional Science*. 9: 1-14.
- Kumkhong, S., L. Marandel, E. Plagnes-Juan, V. Veron, S. Panserat, and S. Boonanuntanasarn. 2021. Glucose injection into the yolk influences intermediary metabolism in adult Nile tilapia fed with high levels of carbohydrates. *Animal*. 15: 1-11.
- Lim, K. C., F. M. D. Yusoff, M. Shariff, and M. S. Kamarudin. 2019. Dietary administration of astaxanthin improves feed utilization, growth performance and survival of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Aquaculture Nutrition*. 00: 1–12.
- Lorenz, R., and G. Cysewski. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnology*. 18: 160-167.
- Martins, T. A. Valentim, N. Pereira, and L. M. Antunes. 2019. Anaesthetics and analgesics used in adult fish for research: A review. *Laboratory Animals*. 0: 1–17.
- Niu, J., H. Wen, C. H. Li, Y. J. Liu, L. X. Tian, X. Chen, Z. Huang, and H. Z. Lin. 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and β -carotene in the presence and absence of cholesterol supplementation on growth performance, antioxidant capacity and gene expression of *Penaeus monodon* under normoxia and hypoxia condition. *Aquaculture*. 422: 8–17.
- Pal, G. K. 2006. *Textbook Of Practical Physiology-2Nd Edn*. Orient Blackswan.
- Rahman, M., S. Khosravi, K. H. Chang, and S. M. Lee. 2016. Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth Muscle Pigmentation and Antioxidant Capacity of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Preventive Nutrition and Food Science*. 21: 281–288.
- Rawling, M., D. L. Merrifield, and S. J. Davies. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture*. 294: 118-122.
- Pham, M. A., H. Byun, K. Kim, and S. Lee. 2014. Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 431: 65–72.
- Sekirov, I., S. L. Russell, L. C. M. Antunes, and B. B. Finlay. 2010. Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*. 90: 859–904.
- Song, G., Y. Zhao, J. Lu, Z. Liu, J. Quan, and L. Zhu. 2024. Effects of astaxanthin on growth performance, gut structure, and intestinal microorganisms of *Penaeus vannamei* under Microcystin-LR stress. *Animals*. 14: 1-14.
- Song, X., L. Wang, X. Li, Z. Chen, G. Liang, and X. Leng. 2017. Dietary astaxanthin improved the body pigmentation and antioxidant function, but not the growth of discus fish (*Symphysodon* spp.). *Aquaculture Research*. 48: 1359–1367.
- Sivieri, K., J. Bassan, G. Peixoto, and R. Monti. 2017. Gut microbiota and antimicrobial peptides. *Current Opinion in Food Science*. 13: 56–62.

- Trinder, P. 1969. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology*. 22: 158–161.
- Tejera, N., J. R. Cejas, C. Rodríguez, B. Bjerkeng, S. Jerez, A. Bolaños, and A. Lorenzo. 2007. Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Aquaculture*. 270: 218-230.
- Tume, R., A. Sikes, S. Tabrett, and D. Smith. 2009. Effect of background colour on the distribution of astaxanthin in black tiger prawn (*Penaeus monodon*): effective method for improvement of cooked colour. *Aquaculture*. 296: 129–135.
- Vasudevan, I., R. Thangarathinam, K. Sampath, and R. James. 2006. Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail *Xiphophorus Hellei Israeli*. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*. 58: 97-104.
- Voigt, G. L. 2000. *Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians*. Iowa State University Digital Press. USA.
- Wade, N. M., M. Anderson, M. J. Sellars, R. K. Tume, N. P. Preston, and B. D. Glencross. 2012. Mechanisms of colour adaptation in the prawn *Penaeus monodon*. *The Journal of Experimental Biology*. 215: 343–350.
- Wade, N. M., A. Budd, S. Irvin, and B. D. Glencross. 2015. The combined effects of diet, environment and genetics on pigmentation in the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 449: 78–86.
- Wade, N. M., S. Cheers, N. Bourne, S. Irvin, D. Blyth, and B. D. Glencross. 2017. Dietary astaxanthin levels affect colour, growth, carotenoid digestibility and the accumulation of specific carotenoid esters in the Giant Tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*. 48: 395–406.
- Wu, Z., Q. Zhang, Y. Lin, J. Hao, S. Wang, J. Zhang, and A. Li. 2021. Taxonomic and functional characteristics of the gill and gastrointestinal microbiota and its correlation with intestinal metabolites in NEW GIFT strain of farmed adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Microorganisms*. 9: 1-24.
- Zhang, J., Y. J. Liu, L. X. Tian, H. J. Yang, G. Y. Liang, Y. R. Yue, and D. H. Xu. 2013. Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*. 19: 917–927.