ผลของอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina* Willdenow) ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการป้องกันภาวะออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell)

Effect of Kam Kung Alga (*Chara corallina* Willdenow) on the Growth Performance, Total Carotenoid and Oxidative Defense of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell)

วรรณิณี จันทร์แก้ว[1*] วัฒนา วัฒนกุล[2] มนต์สรวง ยางทอง[3] สุริยะ จันทร์แก้ว[4] และ มณี ศรีชะนันท์[1]

Wanninee Chankaew[1*], Wattana Wattanakul[2], Monsuang Yangthong[3], Suriya Chankaew[4] and Manee Srichanan[1]

Received: 10 February 2022, Revised: 20 August 2022, Accepted: 10 March 2023

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเสริมในอาหารปลาดุกรัสเซียต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์และการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยมีการผสมสาหร่ายก้ามกุ้งผงละเอียดแบบแห้งในอาหารที่ระดับ 0, 2, 4, 6 และ 8 % ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน ใช้ปลาที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 11.24±0.01 กรัมต่อตัว ผลการศึกษาพบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2 % มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับสูตรควบคุม ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ 8 % มีค่าสูงกว่าสูตรควบคุม และ 2% ($p<0.05$) ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาและปริมาณกลูตาไธโอนในตับของปลาดุกรัสเซียมีแนวโน้มว่า มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของสาหร่ายในสูตรอาหารมีมากขึ้น การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียที่ระดับ 4 % มีแนวโน้มเป็นระดับที่เหมาะสมในการลดระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในตับของปลาที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าควรเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารที่ระดับไม่เกิน 2 %

---

[1] คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

[1] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thongsong, Nakhon Si Thammarat, 80110, Thailand.

[2] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

[2] Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

[3] สาขาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร 86160

[3] Disciplines of Technology Agriculture, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Pathio, Chumphon 86160, Thailand.

[4] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80000

[4] Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Muang, Nakhon Si Thammarat 80000, Thailand.

[*] ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): wanninee.c@rmutsv.ac.th

และสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซียได้

คำสำคัญ: สาหร่ายก้ามกุ้ง, ปลาดุกรัสเซีย, การเติบโตของปลา, การป้องกันภาวะออกซิเดชัน

ABSTRACT

A feeding trial was conducted to study the effects of diets supplemented with Kam Kung alga (*Chara corallina*) on growth performance, total carotenoid and oxidative defense of African Sharptooth catfish*, Clarias gariepinus* Burchell. Dried powdered of *C. corallina* was added to the basal diet at 0% (control), 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 % and fed to the catfish for 60 days. The initial size of the catfish was 11.24±0.01 g/fish. The results found that the mean daily growth, weight gain, average daily growth and specific growth rate of the fish fed with alga supplemented feed (2.0 %) were significantly different from the control diet ($p<0.05$). Flesh of African Sharptooth catfish fed a diet supplement with *C. corallina* at 8.0 % was higher than the control group and the 2.0% group ($p<0.05$). The total carotenoid in flesh and glutathione in liver of catfish were related to the level of alga in the diet. The fish fed with 4% algal supplemented feed tended towards an optimal feed level for decreasing lipid peroxidation in the liver when evaluated at the 2nd month**.** These findings indicated that alga supplemented should not exceed 2 % in the African Sharptooth catfish diet, and that *C. corallina* led to reduced oxidative stress in the African Sharptooth catfish.

Key words: Kam Kung, African Sharptooth catfish, fish growth, oxidative defense

บทนำ

ปลาดุกที่เลี้ยงเพื่อการค้าในประเทศไทยมีหลายชนิด เช่น ปลาดุกด้าน ปลาดุกอุย ปลาดุกบิ๊กอุย แต่ปลาเหล่านี้มักประสบปัญหาเรื่องการเจริญเติบโตช้า ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ปัจจุบันเกษตรกรได้หันมาเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย (ปลาดุกอุยเทศ) มากขึ้น โดยปลาดุกรัสเซียจัดเป็นปลาน้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีรสชาติดี เนื้อนุ่ม เป็นที่ต้องการของตลาด โดยเฉพาะทางเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ (Promya and Chimanat, 2011) สำหรับการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เพื่อการเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีการเจริญเติบโตดี ส่งเสริมสุขภาพ และเพิ่มสีให้กับสัตว์น้ำนั้นได้มีการศึกษาและใช้กันเป็นเวลานานในสาหร่ายหลายชนิด เช่น สาหร่ายฮีมาโต-คอคคัสในการเพิ่มสีเนื้อของปลาเทราท์ (Sommer *et al*., 1992) สาหร่ายสไปรูไลน่า เพื่อศึกษาความเจริญเติบโต ความสมบูรณ์เพศ และระบบภูมิคุ้มกันในปลาแฟนซีคาร์ฟ (Promya *et al*., 2012) การใช้สาหร่ายไก (*Cladophora glomerata*) เลี้ยงปลานิล (Ruangsomboon and Choochote, 2004) และการใช้สาหร่ายไก (*Cladophora* spp.) เลี้ยงปลาหนังลูกผสม (Amornlerdpison *et al*., 2015) ซึ่งสาหร่ายดังกล่าวมีผลให้สัตว์น้ำมีสุขภาพที่ดี มีผลต่อการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาในปลาดุกรัสเซียนั้นได้มีการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าและสาหร่ายไกเพื่อ

ศึกษาการเจริญเติบโต คุณภาพของเนื้อและการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งพบว่าสาหร่ายสไปรูไลน่าระดับ 5 % เหมาะสมในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีรวมทั้งเพิ่มระดับแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาได้ (Promya and Chimanat, 2011) ในส่วนของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*) นั้นเป็นสาหร่ายน้ำจืดกินได้ชนิดแรกของสาหร่ายไฟที่สามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้ (Chankaew *et al*., 2018) และยังไม่มีการรายงานการนำมาใช้ในการเลี้ยงปลากินเนื้อ ซึ่งสาหร่ายก้ามกุ้งมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีเช่นเดียวกับสาหร่ายน้ำจืดทั่วไป โดยมีค่าโปรตีนที่สูง (17.08±0.32 - 23.35±0.24 %) มีรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น ลูทีน ซีแซนทิน และเบต้า-แคโรทีน รวมถึงมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการ เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Chankaew *et al*., 2020)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นกลุ่มของเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ (Yangthong *et al*., 2009) และการศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชันทำได้โดยการวัดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระโดยการวัดจากปริมาณสารชีวโมเลกุลที่เปลี่ยนไปหรือถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ โดยสารชีวโมเลกุลที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระคือ ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ซึ่งไขมันถือเป็นสารชีวโมเลกุลที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ การที่ไขมันถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระมีผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่ามาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจากลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation, LPO) (Marcogliese *et al*., 2005; Rueda-Jasso *et al*., 2004) สืบเนื่องจากผลการศึกษาที่ผ่านมาที่มีรายงานว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีสารสำคัญที่ดีต่อสุขภาพ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง ซึ่งได้ใช้สาหร่ายที่มีลักษณะทางกายภาพที่ไม่เหมาะต่อการบริโภคและเป็นส่วนเหลือจากการบริโภคสด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสาหร่ายก้ามกุ้ง

นำสาหร่ายก้ามกุ้งมาล้างทำความสะอาดและผึ่งลมแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนกว่าสาหร่ายแห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด นำสาหร่ายไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้ง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (2000) ซึ่งสาหร่ายก้ามกุ้งมีประมาณของโปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 17.08, 0.17, 12.28, 25.54 และ 44.93 % ตามลำดับ

2. การวางแผนการทดลอง การเตรียมวัตถุดิบอาหารปลา และการประกอบสูตรอาหารทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ที่มี 6 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ซึ่งมีการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 % และ อาหารเชิงพาณิชย์ โดยคำนวณสูตรอาหารจากวัตถุดิบให้มีโปรตีนรวมและไขมัน 30 % และ 6 % ตามลำดับ โดยมีส่วนผสมของวัตถุดิบของอาหารดังตารางที่ 1 ผลิตอาหารอัดเม็ดลอยน้ำ เมื่อผสมส่วนประกอบวัตถุดิบที่มีลักษณะแห้งผสมเข้าด้วยกันแล้วจึงเทลงเครื่องผสมอาหาร นาน 10 นาที เติมน้ำมันพืชแล้วผสมให้ส่วนผสมเข้ากันดี แล้วจึงเติมน้ำสะอาด 30-35 % จากนั้นทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องอัดอาหารเม็ดลอยน้ำ อัดอาหารและปล่อยอาหารออกจากเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยปล่อยด้วยความเร็ว 83.08 รอบ/วินาที และ ตัดด้วยความเร็ว 59.17 รอบ/วินาที

นำอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6-8 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการร่อนเพื่อกำจัดเศษอาหารผงออกไป บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้ที่ตู้เย็นในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัตถุดิบในสูตรอาหารของอาหารทดลองที่ใช้เลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายในสูตรอาหาร				
	0%	2%	4%	6%	8%
วัตถุดิบ					
ปลาป่น	20	20	20	20	20
กากเนื้อในปาล์ม	15	15	15	15	15
กากถั่วเหลือง	34.55	33.8	33.04	32.27	31.52
รำข้าว	15	15	15	15	15
สาหร่าย	0	2	4	6	8
ปลายข้าว	12.63	11.37	10.12	8.89	7.63
แป้งมันสำปะหลัง	2	2	2	2	2
น้ำมันพืช	0.32	0.33	0.34	0.34	0.35
เกลือ	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
วิตามินผสม	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
แร่ธาตุผสม	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
รวม	100	100	100	100	100
องค์ประกอบทางเคมี					
โปรตีน	29.90±0.27^{b}	28.99±0.21^{c}	29.21±0.10^{c}	30.44±0.17^{a}	29.94±0.11^{b}
ไขมัน	6.25±0.07^{a}	5.66±0.22^{a}	5.10±0.05^{a}	5.61±0.16^{a}	5.48±0.18^{a}
ความชื้น	9.44±0.08^{a}	9.56±0.08^{a}	9.30±0.10^{a}	6.77±0.18^{b}	5.87±0.00^{c}
เถ้า	11.34±0.15^{d}	12.52±0.17^{c}	12.53±0.16^{c}	13.45±0.06^{b}	14.93±0.33^{a}
เยื่อใย	6.50±0.97^{a}	6.18±0.97^{a}	6.70±0.20^{a}	7.74±0.32^{a}	8.74±0.74^{a}

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. การเตรียมสัตว์ทดลองและระบบการเลี้ยง

นำพันธุ์ปลาดุกรัสเซีย มาอนุบาลโดยใช้อาหารเชิงพาณิชย์ วันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุ่มคัดขนาดของปลาใส่ถังทดลอง จำนวน 30 ตัว/ถัง เป็นระยะเวลา 5 วัน เพื่อปรับสภาพปลาให้เข้ากับหน่วยทดลอง เมื่อครบเวลาคัดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันใส่ถังทดลองที่มีขนาด 200 ลิตรที่ได้เติมน้ำปริมาตร 100 ลิตร ซึ่งมีความหนาแน่น 200 ตัว/ลูกบาศก์เมตร (Kari *et al*., 2021) บันทึกข้อมูลน้ำหนักเริ่มต้น และหาค่าเฉลี่ยเริ่มต้นของปลาที่ทดลอง โดยปลาได้น้ำหนักเฉลี่ย 11.24±0.01 กรัม/ตัว ในระหว่างการทดลองให้อาหาร

โดยให้กินจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เวลา 08.30 น. และ 17.30 น. เปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดถังทดลองสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในช่วงบ่ายก่อนการให้อาหาร ระหว่างการทดลองมีการตรวจสอบพฤติกรรม ลักษณะอาการของปลา เช่น พฤติกรรมการกินอาหารของปลาและลักษณะผิดปกติภายนอกที่อาจเกิดขึ้น และตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซียหลังจากที่ปลาได้รับอาหารทุก 15 วัน โดยชั่งน้ำหนักปลา บันทึกจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณค่าอัตราการรอดตาย น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และบันทึกปริมาณการกินอาหารของปลาตลอดการทดลองเพื่อคำนวณการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา โดยมีสูตรในการคำนวณดังนี้

(1) อัตราการรอดตาย (survival rate: %)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$$

(2) น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain: กรัม /ตัว)

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

(3) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR %/วัน)

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

(4) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily growth: ADG)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

(5) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio: FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)}}$$

(6) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio: PER)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กินไป (กรัม)}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมจากเนื้อปลาหลังสิ้นสุดการทดลองโดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงจาก de Quiros and Costa (2006) โดยทำการแล่เนื้อปลาแล้วสุ่มเนื้อปลาน้ำหนัก 3 กรัม (น้ำหนักเปียก) ใส่ในโกร่งบดเติมผงโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 9 กรัม บดจนแห้งเป็นผงละเอียด เติมเอทานอล 95 % ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 60 % ปริมาณ 2 มิลลิลิตร บดตัวอย่างเนื้อปลาจนสารละลายที่ได้เป็นสีใส (ทำซ้ำ 3-4 ครั้ง) เก็บสารละลายส่วนใสไว้ในขวดสีชา และเทใส่กระบอกตวงเพื่อวัดปริมาณส่วนใสที่ได้ หลังจากนั้นนำตัวอย่างใส่ในกรวยแยกสารเติมไดเอทิลอีเทอร์ในอัตรา 1:1 เติมโซเดียมคลอไรด์ 9 % ลงไป เขย่า

แล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นแล้วปล่อยชั้นสีขาวขุ่นส่วนชั้นล่างทิ้งไปเก็บชั้นใสของแคโรทีนอยด์ไว้ เติมโซเดียมคลอไรด์ 9 % แล้วเขย่าและวางทิ้งให้แยกชั้นสีใสและสีเหลืองปล่อยชั้นสีใสทิ้ง แล้วเก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ไว้ วัดปริมาตรสารสกัดแคโรทีนอยด์ หลังจากนั้นนำสารสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ดังสมการ ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม /กรัมของน้ำหนักเปียก)} = \frac{A_{450} \text{ X ปริมาตรสารสกัด X } 1{,}000}{260 \text{ X มิลลิกรัมของเนื้อปลาสด}}$$

5. การศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชัน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิดกลูตาไธโอนรวม

ทำการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาดุกที่ได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 60 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างตับ เพื่อวัด lipid peroxides หรือวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ และวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิด กลูตาไธโอนรวม (Glutathione ที่อยู่ในรูป GSSG และ GSH) โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปมีรายละเอียด ดังนี้

1) การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit (Sigma-Aldrich; MAK 085) โดยสกัดจากเนื้อเยื่อตับของปลาทดลองชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ ใช้ตับปลาน้ำหนัก 20 มิลลิกรัม เติม MDA lysis buffer ปริมาณ 600 ไมโครลิตร และ สาร BHT (100x) 6 ไมโครลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่อง hand homogenizer และหมุนเหวี่ยงภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเร็ว 13,000 *xg* เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตรผสมกับสาร thiobarbituric acid (TBA) ที่ละลายในกรดอะซิติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที (ป้องกันตัวอย่างจากแสงภายนอก) ตั้งสารละลายให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Biochrom, EZ Read 2000) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของ MDA โดยคำนวณค่าความความเข้มข้นของ MDA จากสมการ

$$\text{ความเข้มข้นของ MDA สำหรับตัวอย่าง (นาโนโมล / มิลลิลิตร)} = (S_a / S_v) \times D$$

เมื่อ S_a = ปริมาณ MDA ของตัวอย่างเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานของ MDA (นาโนโมล)
S_v = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)
D = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

2) การวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวม ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Glutathione Assay Kit (Sigma-Aldrich; CS 0260) โดยวิเคราะห์จากตัวอย่างตับปลาหลังทดลอง ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ สลบปลาด้วย

น้ำมันกานพลู และผ่าตัดตับปลาและล้างด้วย PBS buffer ชั่งเนื้อเยื่อตับน้ำหนัก 30 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Microtube และแช่ตัวอย่างในอ่างน้ำแข็งแห้งทันที แล้วบดด้วยสารละลาย 5 % Sulfosalicylic acid (SSA) ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง และบ่มตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำตัวอย่างหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสที่ได้เจือจางความเข้มข้นตามความเหมาะสม และวัดปริมาณกลูตาไธโอน โดยใช้ตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับกับชุดน้ำยาสำเร็จรูป (cocktail, working mixture) 150 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย buffer, co-factor mixture, enzyme mixture, DTNB (dithiobis 2-nitrobenzoic acid) บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม NADPH solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร แบบ kinetic reaction วัดค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 30 วินาที นาน 4 นาที คำนวณค่า total glutathione (GSH) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ GSH standard stock solution นำตัวอย่างที่ได้วัดปริมาณโปรตีนโดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างตามวิธี Lowry *et al*. (1951) คำนวณปริมาณกลูตาไธโอนรวม จากสมการ

$$\text{ปริมาณกลูตาไธโอนรวม (นาโนโมลของ GSH / มิลลิลิตรของตัวอย่าง)} = \frac{\Delta A_{412}/\text{min (sample)} \times \text{dilution}}{\Delta A_{412}/\text{min (1 nmole)} \times \text{vol}}$$

เมื่อ Δ412/min (sample) = ความชันกราฟของตัวอย่าง a

Δ412/min (1 nmole) = ความชันกราฟของสารมาตรฐาน GSH standard stock solution

dil = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

vol = ปริมาตรของตัวอย่างในปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้การเปรียบเทียบตามวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20.0

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา

จากการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับที่แตกต่างกันเป็นเวลา 60 วัน พบว่าระดับของสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา คือค่าน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน โดยปลาที่ได้รับสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 2% มีค่าการเจริญเติบโตสูงที่สุด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายระดับ 4% แต่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p<0.05$) ด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2% มีค่า 2.83±0.22 %/วัน โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่ายระดับ 4% และสูตรควบคุม แต่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6

และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีค่าต่ำที่สุด (1.93±0.26 % /วัน) (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาค่าต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของปลาพบว่าที่ระดับ 2.0 % มีผลให้ปลามีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ มีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการนำสาหร่ายก้ามกุ้งมาผสมในสูตรอาหาร เนื่องจากให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรควบคุม สูตรผสมสาหร่าย 4.0 % และอาหารเชิงพาณิชย์ แต่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย 6.0 และ 8.0 % รวมทั้งพบว่าเมื่อระดับของสาหร่ายที่ผสมในอาหารสูงขึ้นตั้งแต่ 6.0 และ 8.0 % มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงขึ้น อาจมีผลมาจากปริมาณเยื่อใยในสูตรอาหารที่มีปริมาณมากขึ้นเมื่อผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยในอาหารทดลอง เนื่องจากปลาดุกรัสเซียเป็นปลากินเนื้อ จึงมีผลให้สูตรอาหารที่ผสมสาหร่ายในระดับ 6.0 และ 8.0 % มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของปลามีค่าต่ำกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ โดยมีความสอดคล้องกับการใช้สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisherii*) ที่ระดับ 30 % ในอาหารปลานิลแปลงเพศที่ส่งผลให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่าสูตรควบคุม (Phromkerd, 2014) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถผสมสาหร่ายก้ามกุ้งลงในอาหารเลี้ยงปลาดุกรัสเซียได้ที่ระดับ 2.0 % โดยไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของปลา ผลการศึกษาครั้งนี้ได้ผลการศึกษาในทำนองเดียวกับการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลาบึกซึ่งพบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ให้อาหารผสมสาหร่ายสไปรูไลน่า 5 และ 10 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Tongsiri *et al*., 2012)

อย่างไรก็ตามเนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มนั้นมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน รวมถึงระดับการผสมสาหร่ายในอาหารปลาแต่ละชนิดมีระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาแต่ละชนิดแตกต่างกัน จึงส่งให้ระดับที่เหมาะสมในการนำสาหร่ายไปผสมในสูตรอาหารมีความต่างกันออกไปเช่นการใช้สาหร่ายไปรูไลน่าสดที่ระดับ 0, 5, 10 และ 100 % ในสูตรอาหารปลาบึก มีผลให้ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลามีความแตกต่างกันที่ระดับ 5 และ 10 % ของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาดีที่สุด (Tongsiri *et al*., 2012) ส่วนการใช้สาหร่ายไก (*C. glomerata*) เป็นอาหารเลี้ยงปลานิล 4 ระดับ ได้แก่ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 % พบว่าทุกระดับให้ผลการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (Ruangsomboon and Choochote, 2004)

อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับสาหร่ายทุกระดับโดยมีค่าอยู่ในช่วง 53.33±15.28 - 75.00±5.00 % ยกเว้นปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (ตารางที่ 2) มีแนวโน้มว่าในสาหร่ายก้ามกุ้งมีสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะสารพฤกษเคมีกลุ่มสำคัญหลายชนิด (Chankaew *et al*., 2020) และปริมาณรงควัตถุ 2 กลุ่ม คือ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ รวมถึงมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาด้วย (ตารางที่ 2) และปริมาณกลูตาไธโอนในปลา (ตารางที่ 3) ที่เพิ่มขึ้นตามระดับของสาหร่ายในอาหาร จึงมีความเป็นไปได้ว่าสาหร่ายในอาหารทดลองมีผลให้สุขภาพของปลาโดยสามารถลดความเครียดทำให้ปลาสุขภาพดีเช่นเดียวกับการใช้

สาหร่ายเตา (*Spirogyra* spp.) มาเสริมในอาหารเลี้ยงปลานิลซึ่งสามารถเพิ่มอัตราการรอดได้ดี (Teerawat *et al*., 2002)

ปริมาณอาหารที่ปลากินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง 40.67±12.17 - 57.47±11.18 กรัม/ตัว แต่ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับสาหร่ายผสมอาหารระดับ 2% มีค่าดีที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย 4% และอาหารสูตรควบคุม รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ (ตารางที่ 2) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายระดับสูงขึ้นคือ 6 และ 8% มีค่าอัตราการเปลี่ยนเป็นเนื้อสูงสุดโดยมีค่า 1.79±0.27 และ 1.81±0.35 ตามลำดับ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาทดลองมีความแตกต่างกันในปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับที่แตกต่างกันคือปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 2% มีค่าสูงที่สุด (3.22±0.51) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายระดับ 4% (2.76±0.41) แต่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายระดับสูงขึ้นคือ 6 และ 8% มีค่าต่ำที่สุดมีค่า 1.87±0.31 และ 1.89±0.33 ตามลำดับ

2. ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารทดลองตลอดระยะเวลา 60 วัน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 8.0 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงกว่าสูตรอาหารควบคุม สูตรผสมสาหร่ายที่ระดับ 2.0 % และสูตรอาหารเชิงพาณิชย์ ($p<0.05$) และสูตรอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 4.0%, 6.0% และ 8.0 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาปริมาณของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่าย 8.0 % มีค่าเท่ากับ 0.569±0.30 มก./ก. ตัวอย่าง โดยเมื่อปลาได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีค่าเพิ่มขึ้นจากสูตรควบคุมประมาณ 3.69 เท่า ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายไก (*C. glomerata*) ในอาหารปลานิลที่พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีค่าสูงและมีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรควบคุม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่าย 7.5 % มีค่ามากกว่าสูตรควบคุม 4 -13 เท่า (Ruangsomboon and Choochote, 2004) นอกจากนี้ยังเป็นไปทำนองเดียวกับการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าและสาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเป็นเวลา 60 วัน ซึ่งมีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรผสมสาหร่ายไก 5 % เท่ากับ 2.37±0.15 ไมโครกรัมต่อกรัมของเนื้อปลา ซึ่งมากกว่าสูตรผสมสาหร่ายสไปรูไลน่า 5, 3 และ 0 % ตามลำดับ (Promya *et al* ., 2009) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าสดผสมในอาหารสำเร็จรูปในการเลี้ยงปลานิลแดง ที่ส่งผลให้มีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามระดับของสาหร่ายที่ผสมในอาหาร (Promya *et al*., 2007) จะเห็นได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีแนวโน้มว่ามีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาดุกรัสเซียได้ ซึ่งในเนื้อปลาที่มีการสะสมสารแคโรทีนอยด์ก็จะมีผลให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคมากขึ้น รวมทั้งสามารถเพิ่มมูลค่าของปลาและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้นด้วย (Qiufen *et al*., 2012) นอกจากนี้ ผู้ผลิตอาหารสัตว์น้ำนิยมใช้สาหร่ายผสมในอาหารปลาสวยงามเนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เองได้ (Li *et al*., 2016; Sathyaruban *et al*., 2021) อย่างไรก็ตาม การสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวปลานั้นมีการสะสมใน

หลายอวัยวะเช่น ผิวหนัง ไข่ ตับปลา และระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากขึ้นจึงควรมีการศึกษาในอวัยวะดังกล่าวร่วมด้วย

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต อัตรารอด ปริมาณอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 60 วัน

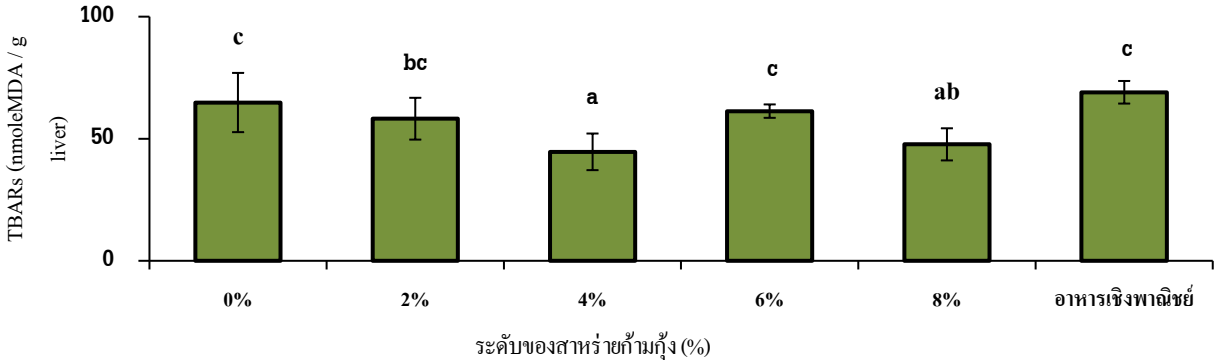
พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง					
	1 (0%)	2 (2.0 %)	3 (4.0 %)	4 (6.0%)	5 (8.0%)	อาหารเชิงพาณิชย์
น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (ก./ตัว)	44.30±4.15^{bc}	61.92±7.95^{a}	57.76±12.54^{ab}	36.04±5.80^{c}	39.88±4.64^{c}	40.79±13.81^{c}
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (ก./ตัว)	33.06±4.15^{bc}	50.67±7.95^{a}	46.52±12.54^{ab}	24.80±5.80^{c}	28.64±4.64^{c}	29.55±13.81^{c}
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ก./ตัว)	0.55±0.07^{bc}	0.84±0.13^{a}	0.78±0.21^{ab}	0.41±0.10^{c}	0.48±0.08^{c}	0.49±0.23^{c}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% / วัน)	2.28±0.16^{abc}	2.83±0.22^{a}	2.70±0.37^{ab}	1.93±0.26^{c}	2.10±0.20^{bc}	2.08±0.56^{bc}
อัตราการรอดตาย (%)	66.67±7.64^{b}	53.33±10.41^{b}	53.33±15.28^{b}	98.33±2.89^{a}	75.00±5.00^{b}	63.33±22.55^{b}
ปริมาณอาหารที่ปลากิน (ก./ตัว)	48.46±7.83^{a}	54.38±5.19^{a}	57.47±11.18^{a}	43.24±3.15^{a}	50.73±0.73^{a}	40.67±12.17^{a}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.47±0.17^{ab}	1.09±0.16^{a}	1.26±0.17^{a}	1.79±0.27^{b}	1.81±0.35^{b}	1.31±0.35^{ab}
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	2.30±0.26^{bc}	3.22±0.51^{a}	2.76±0.41^{ab}	1.87±0.31^{c}	1.89±0.33^{c}	2.35±0.49^{bc}
แคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัม./กน้ำหนักเปียก)	0.154±0.01^{b}	0.262±0.07^{b}	0.429±0.23^{ab}	0.459±0.05^{ab}	0.569±0.30^{a}	0.173±0.04^{b}

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. ภาวการณ์ป้องกันภาวะออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซีย **3.1 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์**

จากการทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียเป็นระยะเวลา 60 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันโดยวัดระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เป็นผลผลิตของการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation, LPO)ในตัวอย่างตับของปลาดุกรัสเซีย พบว่าการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารมีผลให้ลดปริมาณการเกิด LPO ในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายที่ระดับในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายที่ระดับ 4 และ 8% ซึ่งมีค่าการเกิด LPO ที่ต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ โดยมีค่า 44.63±7.50 และ 47.69±6.57 nmol MDA / g liver ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ แต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีค่า 61.31±2.75 nmol MDA / g liver ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรควบคุม สูตรที่เสริมสาหร่ายที่ระดับ 2% และอาหารเชิงพาณิชย์ ($p>0.05$) (ภาพที่ 1) การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียส่งผลต่อระดับการเกิด LPO โดยการเสริมสาหร่ายที่ระดับ 4 และ 8% มีผลลดการเกิด LPO ซึ่งเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์ ซึ่งเป็นผลดีต่อตัวสัตว์น้ำในการเป็นเกราะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชัน ผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาในปลาน้ำจืดบางชนิด เช่น ในปลาหนังลูกผสม (*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*) ที่พบว่าการเสริมสาหร่ายไก (*Cladophora* spp.) ในอาหารที่ระดับ 5-10% มีผลให้ลดระดับการเกิด LPOในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 (Amornlerdpison *et al*., 2015) และการใช้สาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) ผสมในอาหารที่ระดับเดียวกันคือ 5-10% เป็นระยะเวลา 4 เดือน มีผลในการลดระดับการเกิด LPOในไตและตับของปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Teerawat *et al*., 2002)

ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อเยื่อตับปลาดุกรัสเซียกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ4 และ 8 % มีแนวโน้มต่ำกว่าปลาในสูตรควบคุม สูตรเสริมสาหร่ายที่ระดับ 2 และ 6 % และอาหารเชิงพาณิชย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งมีผลให้ลดการเกิด LPO ซึ่งคือภาวะเครียดออกซิเดชันที่มีสาเหตุมาจากไขมัน โดยเมื่อไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์เมมเบรนถูกอนุมูลอิสระ เข้าทำลายจะเกิดขบวนการ LPO ซึ่งเป็นตัวหลักที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์และทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Hermes-Lima *et al*., 1998) จากข้อมูลการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียต่อภาวะเครียดออกซิเดชันมีแนวโน้มว่าการเสริมสาหร่ายสามารถลดระดับการเกิด LPO ได้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้ให้ผลการลดปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อเยื่อตับปลาที่ไม่ชัดเจน อาจสืบเนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงปลาเพียง 60 วัน เท่านั้น ซึ่งต่างจากรายงานของการเลี้ยงปลาหนังลูกผสมโดยใช้สาหร่ายไก (Amornlerdpison *et al*., 2015) และการเลี้ยงปลานิลโดยใช้สาหร่ายเตา (Teerawat *et al*., 2002) ซึ่งใช้เวลาในการเลี้ยงปลาเป็นเวลาอย่างน้อย 4 เดือน นอกจากนี้เพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น อาจจะต้องมีการทดลองเฉพาะด้านการป้องกันภาวะออกซิเดชันและควรให้ปลาทดลองอยู่ในสภาวะที่ได้รับความเครียด (stress) ก่อนได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่าย ดังเช่นการศึกษาในสารสกัดด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *Sargassum* sp. ในการเลี้ยงปลากะพงขาว (Yangthong *et al*., 2012)



ภาพที่ 1 ระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับแตกต่างกัน

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.2 ปริมาณกลูตาไธโอนรวม

จากการศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนรวม (GSH)ในปลาดุกรัสเซียหลังจากได้รับอาหารทดลองที่เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าระดับของสาหร่ายส่งผลต่อปริมาณกลูตาไธโอนรวม โดยพบว่ามีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเสริมสาหร่ายในอาหารที่ระดับ 6 และ 8 % ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ไม่ได้รับการผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง (สูตรควบคุม) มีค่า 171.00±23.90 nmol GSH/mL sample และ 184.77±12.52 nmol GSH/mL sample ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แต่การเสริมในระดับที่ต่ำกว่าคือ 2 และ 4 % ให้ค่า GSH ที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ มีค่า 130.90±3.13 nmol GSH/mL sample และ 135.08±9.83 nmol GSH/mL sample ตามลำดับ ($p>005$) การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ GSH ในตัวอย่างตับของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยปลาดุกที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับสูงคือ 6 และ 8 % มีระดับ GSH สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับต่ำคือ 2 % และ 4% ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาในปลาหนังลูกผสมที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกระดับ 2.5-10.0 % ที่ไม่มีผลต่อระดับ GSH ในเม็ดเลือดแดง (Amornlerdpison *et al*., 2015) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากอวัยวะที่ใช้ในการวัดที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาโดย Rodriguez-Ariza *et al*. (1994) ที่รายงานว่าตับเป็นอวัยวะที่ตอบสนองต่อระดับ GSH ในปลา โดยกลูตาไธโอนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย เป็นตัวช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายของคนหรือสัตว์

ปริมาณ GSH ในเนื้อเยื่อตับปลาดุกรัสเซียกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับสาหร่ายก้ามกุ้งที่เสริมในสูตรอาหาร (ตารางที่ 3) ซึ่ง GSH คือไตรเปบไทด์ (tripeptide) ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดกลูตามิก ซิสเตอีน และไกลซีน จับกับหมู่ซัลเฟอร์ด้วยพันธะโควาเลนท์ (Struznka *et al*., 2005) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เป็นเอนไซม์ แต่เป็นสารร่วม (co-enzyme) ของเอนไซม์ GPx โดย GSH มีบทบาทในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิด LPO (Pinho *et al*., 2005) โดยจะทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิด LPO ภายในเซลล์สิ้นสุดลง (Storey, 1996)

ตารางที่ 3 ปริมาณกลูตาไธโอนรวมในปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งระดับแตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณกลูตาไธโอน (nmol GSH/mL sample)
1. 0% (ควบคุม)	133.12±4.17^{c}
2. 2%	130.90±3.13^{c}
3. 4%	135.08±9.83^{c}
4. 6%	171.00±23.90^{ab}
5. 8%	184.77±12.52^{a}
6. อาหารเชิงพาณิชย์	143.94±11.27^{bc}

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ระดับของสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาทดลองพบว่าระดับที่ 2% มีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมดีที่สุด ในด้านการเจริญเติบโตเนื่องจากมีอัตราการแลกเนื้อต่ำแต่มีอัตราการรอดต่ำ ไม่สามารถลดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน รวมทั้งไม่สามารถเพิ่มระดับกลูตาไธโอนได้ ในขณะที่เมื่อระดับสาหร่ายมีเพิ่มขึ้นเป็นระดับ 6% ส่งผลให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและปริมาณแคโรทีนอยด์สูงขึ้น มีอัตรารอดตายเพิ่มขึ้น ซึ่งแนวโน้มว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายในสูตรอาหารจะส่งผลดีขึ้นในการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาเพิ่มขึ้นเนื่องจากปลาได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่ออาหารมีสาหร่ายเป็นส่วนผสมมากขึ้นส่งผลให้ค่าอัตราการแลกเนื้อมีค่าสูง อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยของปลาดุกรัสเซียซึ่งเป็นปลากินเนื้อรวมทั้งผนังเซลล์ของสาหร่ายก้ามกุ้งเป็นสารเซลลูโลส (Peerapornpisal, 2006) ทำให้การประสิทธิภาพในการย่อยเยื่อใยลดลง ดังนั้น แนวทางในการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งมาเป็นอาหารให้ได้ประสิทธิภาพมากขึ้นโดยสามารถเพิ่มระดับของสาหร่ายในสูตรอาหาร สามารถใช้วิธีการสกัดสาหร่ายที่เหมาะสมเพื่อนำสารสำคัญมาผสมในสูตรอาหารหรือการใช้วิธีการหมักสาหร่ายด้วยวิธีการต่าง ๆ ก่อนจะนำมาผสมในสูตรอาหาร คาดว่าจะส่งผลให้ปลาโตดีขึ้น ค่าอัตราการแลกเปลี่ยนเป็นเนื้อต่ำลง มีภาวะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันดีขึ้นและการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงขึ้น อย่างไรก็ตามควรให้สัดส่วนของไขมันในสูตรอาหารด้วยเนื่องจากปริมาณไขมันที่น้อยเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำลง ซึ่งในสูตรอาหารของการทดลองนี้มีแนวโน้มว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายในสูตรอาหารทำให้ปริมาณไขมันในสูตรอาหารลดลง

สรุป

การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งเป็นวัตถุดิบอาหารปลาดุกรัสเซียเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2 % มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับสูตรควบคุม และมีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการนำสาหร่ายก้ามกุ้งมาผสมในสูตรอาหารปลาดุกรัสเซีย การเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6 % มีค่าอัตรารอดตายที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับสูตรควบคุม ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของสาหร่ายในอาหารมากขึ้น การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลา

ดุกรัสเซียที่ 4 และ 8 % สามารถลดระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในตับของปลาได้ ในขณะที่การเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8 % ส่งผลให้เพิ่มปริมาณ กลูตาไธโอนรวมในปลาดุกรัสเซียได้ ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซียได้และควรเสริมในอาหารปลารัสเซียที่ระดับไม่เกิน 2 %

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว) ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยในแผนบูรณาการวิจัย งบประมาณประจำปี 2563 ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

Amornlerdpison, D., Ngernjan, M., Mengumphan, K. and Junthip, R. 2015. Active compounds and oxidative defense of *Cladophora* spp. in hybrid catfish. **KMUTT Research and Development Journal** 33(4): 393-405. (in Thai)

AOAC. 2000. **Official methods of association of official analytical chemists.** Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Chankaew, W., Amornlerdpison, D., Mahae, N., Na Nakorn, W. and Amornwiriyachai, V. 2018. *Chara corallina* Klein ex Willdenow (Charales), A new report of edible freshwater alga in southern Thailand, p.16. *In* **The 7th International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development.** Bali, Indonesia.

Chankaew, W., Yangtong, M. and Sangkaew, J. 2020. Evaluation of antioxidant activity and phytochemical from KamKung (*Chara corallina* Klein ex C.L.Willdenow). **Princess of Naradhiwas University Journal** 12(3): 296-314. (in Thai)

de Quiros, A.R. and Costa, H.S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma sample: a review. **Journal of Food Composition and Analysis** 19: 97-111.

Hermes-Lima, M., Storey, J.M. and Storey, K.B. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. **Comparative Biochemistry Physiology** 120: 437-448.

Kari, Z.A., Kabir, M.A., Mat, K., Rusli, N.D., Razab, M.K.A., Ariff, N.N.A., Edinur, H.A., Rahim, M.Z.A., Pati, S., Dawood, M.A.O. and Wei, L.S. 2021. The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture Reports** 21(1): 100815.

Li, T., He, C., Ma, Z., Xing, W., Jiang, N., Li, W., Sun, X. and Luo, L. 2016. Effect of different carotenoids on pigmentation of blood parrot (*Cichlasoma syspilum* x *Cichlasoma citrinellum*). **Journal of Aquaculture Research & Development** 7(3): 1000414.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement

with folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry** 193(1): 256-275.

Marcogliese, D.J., Brambilla, L.G., Gagné, F. and Gendron, A.D. 2005. Joint effects of parasitism and pollution on oxidative stress biomarkers in Yellow perch (*Perca flavescens*). **Diseases of Aquatic Organisms** 63(1): 77-84.

Peerapornpisal, Y. 2006. **Phycology.** 2nd ed. ChiangMai University, ChiangMai. (in Thai)

Phromkerd, W. 2014. Utilization from *Gracilaria fisheri* for feed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Wicha Journal** 33(1): 52-64. (in Thai)

Pinho, G.L.L., Rosa, M.D., Maciel, F.E., Bianchini, A., Yunes, J.S., Proenca, L.A.O. and Monserrat, J.M. 2005. Antioxidant responses and oxidative stress after microcystin exposure in the hepatopancreas of an estuarine crab species. **Ecotoxicology Environmental Safety** 61(3): 353-360.

Promya, J., Ungsethaphan, T. and Srinuansom, K. 2007. Effect of raw *Spirulina* on growth performance, nutrition values and carotenoid in red Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Journal of Fisheries Technology Research** 1(1): 30-41. (in Thai)

Promya, J., Srinuansom, K. and Chitmanat, C. 2009. Effect of *Spirulina platensis* and *Cladophora* on growth performance, meat quality and immunity stimulation capacity of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). **Journal of Fisheries Technology Research** 62(6): 511-518. (in Thai)

Promya, J. and Chimanat, C. 2011. The effect of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African Catfish (*Clarias gariepinus*). **International Journal of Agriculture and Biology** 13: 77-82.

Promya, J., Thongmee, B. and Srinuansom, K. 2012. The effect of *Spirulina platensis* feeding on growth performance, gonadosomatic index and immunity stimulating capacity of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). **Journal of Fisheries Technology Research** 6(1): 11-22. (in Thai)

Qiufen, D., Yong, Y. and Shi, S. 2012. Nutrition and changes in fish body colouration in catfish. **AQUA Culture Asia Pacific Magazine** 8(1): 26-28.

Rodriguez-Ariza, A., Toribio, F. and Lopez-Barea, J. 1994. Rapid determination of glutathione status in fish liver using high-performance lipid chromatography and electrochemical detection. **Journal Chromatography B: Biomedical Sciences Applications** 656 (2): 311-318.

Ruangsomboon, R. and Choochote, S. 2004. Chemical composition and growth performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets supplemented with green alga, *Cladophora glomerata*. **King Mongkut's Agricultural Journal** 32(2): 1-8. (in Thai)

Rueda-Jasso, R., Conceicao, L.E.C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Roes, J.F., Soares, F., Dinis, M.T. and Sorgeloos, P. 2004. Effect dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole

(*Solea senegalensis*) juvenile. **Aquaculture** 231: 417-433.

Sathyaruban, S., Ulawnduge, D.I., Yohi, S. and Kuganathan, S. 2021. Potential natural carotenoid sources for the colouration of ornamental fish: a review. **Aquaculture International** 29: 1507-1528.

Sommer, T.R., D'Souza, F.M.L. and Morrissy, N.M. 1992. Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga, *Haematococcus pluvialis*. **Aquaculture** 106(1): 63-74.

Storey, K.B. 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 29(12): 1715-1733.

Struznka, L., Chalimoniuk, M. and Sulkowski, G. 2005. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. **Toxicology** 212(2-3): 185-194.

Teerawat, R., Kriangsak, M., Chutima, S., Rattanapon, J. and Amornlerdpison, D. 2002. Antioxidant activity of *Spirogyra* sp. and effect of its supplementation on growth performance of Tilapia in cage culture. **Journal of Fisheries Technology Research** 6(2): 23-34. (in Thai)

Tongsiri, S., Mengumphan, K. and Peerapornpisal, Y. 2012. A study on the growth and carotenoid content in the flesh of Makong Giant Catfish fed with *Spirulina*. **KKU Science Journal** 40(1): 198-207. (in Thai)

Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W. 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. **Plant Foods Human Nutrient** 64(3): 218-223.

Yangthong, M., Thawonsuwan, J., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W. 2012. Effects of hot-water from *Sargassum* sp. on antibacterial activity, non-specific immunity and TBARs production on Asian Seabass (*Lates calcarifer*, Bloch). **Kasetsart University Fisheries Research Bulletin** 36(3): 30-42.