โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*)

Effect of *Acanthophora spicifera* in pigmentation of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus)* (Brevoort, 1856)

ชื่อนิสิต นางสาวครองขวัญ วรางค์รัตน์ **เลขประจำตัว** 5832805323

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

ผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ต่อการเพิ่มสีใน ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*)

นางสาวครองขวัญ วรางค์รัตน์

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561

Effects of *Acanthophora spicifera* in pigmentation of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus*) (Brevoort, 1856)

Krongkwan Varangrat

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2561

หัวข้อโครงงาน	ผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *(Amphiprion frenatus)*
โดย	นางสาวครองขวัญ วรางค์รัตน์
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	นายวีรกิจ จรเกตุ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงงานวิทยาศาสตร์

.....หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิยกาญจน์)

คณะกรรมการสอบโครงงาน

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(นายวีรกิจ จรเกตุ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมฤดี จิตประไพ)

Project Title	Effect of *Acanthophora spicifera* in pigmentation of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus)* (Brevoort, 1856)
By	Miss Krongkwan Varangrat
Field of Study	Marine Science
Project Advisor	Asst. Prof. Kornrawee Aiemsomboon, Ph. D.
Project Co-advisor	Mr. Weerakit Joerakate

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Bachelor's Degree.

..... Head of Marine Science Department
(Assoc. Prof. Voranop Viyakarn, Ph. D.)

PROJECT COMMITTEE

..... Project Advisor
(Asst. Prof. Kornrawee Aiemsomboon. Ph. D.)

..... Project Co-advisor
(Mr. Weerakit Joerakate)

..... Member
(Asst. Prof. Penjai Sompongchaiyakul, Ph. D.)

Somrudee Jitpraphai
..... Member
(Asst. Prof. Somrudee Jitpraphai, Ph. D.)

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*)
ชื่อนิสิต นางสาวครองขวัญ วรางค์รัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม นายวีรกิจ จรเกตุ
ปีการศึกษา 2561
ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*) ทดลองในตู้กระจกขนาด 22x25.5x52.5 เซนติเมตร แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 3 ซ้ำ ให้อาหารทดลองที่ไม่มีส่วนผสมของสาหร่ายมงกุฎหนาม (สูตรควบคุม) และอาหารทดลองที่มีส่วนผสมของสาหร่ายมงกุฎหนามในปริมาณ 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และอาหารทดลองที่เสริมแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลา 7 วัน วัดการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่องวัดสี (Spectroradiometer, Konika Minota color reader CS-2000) โดยวัดสีส้มบริเวณกลางลำตัว อ่านค่าในระบบ CIE L*a*b* (CIELAB) พบว่าในช่วง 7 วัน ปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามในปริมาณ 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของสีแดง (a*) มากกว่าปลาการ์ตูนมะเขือเทศกลุ่มควบคุม จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าสามารถใช้สาหร่ายมงกุฎหนามเพิ่มความเข้มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศโดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา

คำสำคัญ: ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ, สาหร่ายมงกุฎหนาม, การเพิ่มสี

Project Title Effects of *Acanthophora spicifera* in pigmentation of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus*) (Brevoort, 1856)
Name Krongkwan Varangrat
Advisor Asst. Prof. Kornrawee Aiemsomboon, Ph. D.
Co-advisor Mr. Weerakit Joerakate
Academic Year 2561
Department Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

---

Abstract

Study on the effect of *Acanthophora spicifera* on pigmentation of tomato clownfish (*Amphiprion frenatus*) were raised in 22x25.5x52.5 cm glass aquaria for 7 days. The experiment had 4 treatments (diet 1-4) with 3 replication. These were the control diet that *A. spicifera* (red algae) was not added and the diets that contained *A. spicifera* at 2 and 4 percent, and diet contained astaxanthin at 0.05 percent. Color of fish was monitored directly on orange color part of fish body by spectroradiometer (Konika Minota color reader CS-2000). Color reading system using in this experiment was CIE system, L*a*b (CIELAB). From CIE color monitoring system, fish were fed with diet contain *A. spicifera* at 2 and 4 percent diet showed increasing of red color (a*value) than fish fed diet 1. From this experiment, it can be concluded that feeding tomato clownfish with 2-4% of *A. spicifera* was improve fish color without any impact on growth.

Key words: *Amphiprion frenatus*, *Acanthophora spicifera*, Pigmentation

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขปัญหา และให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน รวมทั้งให้กำลังใจและเป็นแรงผลักดันตลอดการทำโครงการนี้

ขอขอบพระคุณ คุณวีรกิจ จรเกตุ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตู้ทดลองสำหรับทำการทดลอง รวมทั้งให้ความรู้ คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อโครงการนี้

ขอบคุณสถานีวิจัยและพัฒนาประมงทะเลสมุทรสงคราม ที่ให้ความอนุเคราะห์สาหร่ายมงกุฎหนามสำหรับเป็นวัตถุดิบในการทำอาหารทดลอง และบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบในการผลิตอาหารปลาการ์ตูน

ขอขอบพระคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ ผู้ให้คำแนะนำ และเทคนิคต่างๆที่ได้เรียนรู้จากการลงมือปฏิบัติ รวมถึงการดูแลแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลอง และขอขอบคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือในการทดลอง

ขอขอบคุณ คุณอนุกูล ริดสำโรง ภาควิชาเทคโนโลยีทางภาพและการพิมพ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์เครื่องมือในการวัดค่าสีสำหรับการทดลองครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่าน ที่คอยอบรมสั่งสอน ให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆ และขอขอบพระคุณบุคลากร เจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกตลอดการทำโครงการนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทั้งจากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล และทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และคอยให้กำลังใจระหว่างการทดลอง

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2561 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำโครงการนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณพ่อ แม่ ครอบครัว ของผู้ศึกษา ที่ให้ความรัก ความห่วงใย และเป็นกำลังใจในยามที่ท้อแท้ คอยสนับสนุนและให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน รวมทั้งเป็นแรงผลักดันและเป็นผู้อยู่เบื้องหลังความสำเร็จครั้งนี้

ครองขวัญ วรางค์รัตน์

พฤษภาคม 2562

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก

Abstract .....ข

กิตติกรรมประกาศ.....ค

สารบัญ .....ง

สารบัญรูป.....ฉ

สารบัญตาราง .....ช

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ.....2

1.3 ขอบเขตการศึกษา 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ 3

2.2 สาหร่ายมงกุฎหนาม 4

2.3 รงควัตถุแคโรทีนอยด์และสารสีแอสตาแซนทิน 4

2.4 การใช้สาหร่ายทะเลในงานเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....6

2.5 งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้สาหร่ายทะเลเป็นแหล่งสารสีในอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม.....7

บทที่ 3 วิธีการศึกษา.....9

3.1 วางแผนการทดลอง 9

3.2 การเตรียมตู้ทดลอง และน้ำในการทดลอง.....10

3.3 เตรียมผลิตอาหารสำเร็จรูป 11

3.4 วิเคราะห์อาหารสำเร็จรูป 12

3.5 ดำเนินการทดลอง.....14

3.6 การควบคุมคุณภาพน้ำ 15

3.7 การเก็บข้อมูล 15
3.8 การวัดค่าสี 16
3.9 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 18
บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล 19
4.1 ความเข้มสีบนลำตัวปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *A. frenatus* 19
4.2 การเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *A. frenatus* 21
4.3 คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลอง 25
4.4 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูป 26
บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ 27
5.1 สรุปผลการศึกษา 27
5.2 ข้อเสนอแนะ 27
เอกสารอ้างอิง 28

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *Amphiprion frenatus* (Brevoort, 1856)	3
2	สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen)	4
3	โครงสร้างของเบตาแคโรทีนและแอสตาแซนทิน	6
4	แผนผังรูปแบบการทดลอง	9
5	ตู้กระจกทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ	10
6	สาหร่ายมงกุฎหนามบดละเอียด	11
7	อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ	12
8	เครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง	14
9	ปลาการ์ตูนมะเขือเทศอายุ 1 เดือน	15
10	เครื่อง Spectroradiometer ยี่ห้อ Konika Minota รุ่น CS2000	17
11	สีในระบบ CIE Lab ในระนาบ 2 มิติ แสดงค่าเฉดสีและความเข้มสี	17
12	ไดอะแกรม CIE Lab color space	18
13	ไดอะแกรม CIE Lab แสดงค่าดัชนี a* และ b* ของสีปลาการ์ตูนมะเขือเทศ	19
14	ค่าความแตกต่างของสีปลาการ์ตูนมะเขือเทศจากชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3	20
15	ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ หลังการทดลองเลี้ยง 7 วัน นำไปวัดความเข้มสีบนลำตัวปลา	21
16	น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศก่อนการทดลองและหลังการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	24
17	ความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศก่อนการทดลองและหลังการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	24

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	วัตถุดิบในอาหารทดลอง	13
2	ค่าดัชนีความเข้มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศในแต่ละชุดการทดลอง	20
3	น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) และอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus* ในการทดลอง	23
4	ความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus* ในการทดลอง	23
5	ค่าคุณภาพน้ำในการทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus*	25
6	คุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ	26

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *Amphiprion frenatus* (Brevoort, 1856) มีชื่อสามัญว่า Tomato clownfish เป็นปลาทะเลสวยงามชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีลำตัวสีดำอมส้ม ปลาตัวเต็มวัยลำตัวมีสีดำอมแดง ครีบทุกครีบมีสีแดง มีแถบสีขาว 1 แถบ พาดขวางบริเวณหลังตา ส่วนปลาขนาดเล็กจะมีลำตัวและครีบเป็นสีแดง มีแถบขาวพาดขวางลำตัว 3 แถบ บริเวณหลังตา ตอนกลางของลำตัวและโคนหาง และแถบสีขาวที่โคนหางจะหายในปลาวัยรุ่น สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้ง่าย ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพน้ำได้ดีมากกว่าปลาการ์ตูนชนิดอื่น (วรวุฒิ เกิดปราง, 2549) ปัจจุบันกรมประมงประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนได้ถึง 9 ชนิด 10 สายพันธุ์ (ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และคณะ, 2547) ทำให้ธุรกิจการเพาะพันธุ์ปลาการ์ตูนในประเทศไทยขยายเพิ่มมากขึ้น เทคโนโลยีด้านการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนสามารถผลิตปลาจำนวนมากได้อย่างสม่ำเสมอ (สามารถ เดชสถิต และคณะ, 2556) แต่ปัญหาสำคัญของการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูนคือ ปลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมักมีสีซีด มีสีสันไม่ตรงความต้องการของตลาด ส่งผลทำให้มูลค่าลดลง เนื่องด้วยสีของปลาเป็นปัจจัยหนึ่งในการกำหนดราคาของปลา (Golandaj *et al*., 2014) ทั้งนี้ปัญหาของการควบคุมสีบนลำตัวปลาสวยงาม ได้แก่ การขาดสารสีแคโรทีนอยด์ในอาหาร ซึ่งสารสีแคโรทีนอยด์เป็นสารสำคัญในการเกิดสี ทำให้สิ่งมีชีวิตมีสีลำตัวแตกต่างกัน เนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้เองจำเป็นต้องได้รับจากอาหารโดยตรง (Goodwin, 1951; Latscha, 1991) ดังนั้น การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารปลาการ์ตูนจะเป็นการปรับปรุงสีของปลาการ์ตูนและปลาสวยงามและช่วยเพิ่มมูลค่าของปลาสวยงามได้มากขึ้น

สาหร่ายทะเลกลุ่มสาหร่ายสีแดง ได้แก่ สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) สาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri*) สาหร่ายโพรง (*Solieria robusta*) และสาหร่ายฮาลิมิเนีย (*Halymenia sp.*) มีรงควัตถุแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และรงควัตถุไฟโคบิลิน (Phycobilin) ซึ่งจะมีไฟโคเออริธริน (Phycoerythrin) เป็นรงควัตถุสีแดงที่มีอยู่ในสาหร่ายสีแดง (ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี, 2558) สอดคล้องกับ การใช้สาหร่ายสีแดง *Gracilaria corticata* และสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum wightii* เสริมในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว *Amphiprion ocellaris* พบว่า *G. corticata* จะทำให้เกิดสีในปลาการ์ตูนส้มขาวได้ดีกว่า *S. wightii* (Nanthini devi *et al*., 2016) จากการนำสาหร่ายมงกุฎหนาม (*A. spicifera*) ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะทำให้ได้ปริมาณสารสีไฟโคอิริทรินสูงที่สุด มี

ปริมาณสารสีมากกว่าสารสีที่สกัดได้จากสาหร่ายผมนาง (*G. fisheri*) และสาหร่ายโพรง (*S. robusta*) ตามลำดับ (รรรรรร ใจกล้า, 2560)

การนำสาหร่ายทะเลกลุ่มสาหร่ายสีแดง มาใช้เป็นสารเร่งสีทดแทนแคโรทีนอยด์ที่มีราคาแพงในอาหารปลาการ์ตูนมะเขือเทศ จะช่วยลดปริมาณการใช้แอสตาแซนทินที่เป็นสารแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่ต้องมีการนำเข้าและมีราคาแพง ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรและผู้ประกอบธุรกิจปลาสวยงามนำไปใช้เพื่อ ลดต้นทุนการผลิตอาหาร ทั้งนี้ สาหร่ายทะเลยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า-3 คือ EPA; Eicosopentaenoic และ DHA; Docosahexaenoic ซึ่งกรดไขมันจำเป็นมีส่วนสำคัญในการสร้างฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ และโปรตีนที่สร้างภูมิต้านทานโรค มีผลต่อผนังเซลล์ การยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ มีผลต่อการลอกคราบของกุ้งและปู (อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และคณะ, 2551) ซึ่งมีรายงาน การนำสาหร่ายมงกุฎหนาม (*A. spicifera*) มาเสริมในอาหารเลี้ยงหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina*) สามารถทำให้หอยเป๋าฮื้อมีการเติบโตที่ดี (มนทกานติ ท้ามติ้น, 2551)

การวิจัยนี้ ดำเนินการเพื่อให้ทราบถึงแนวโน้มของการใช้สาหร่ายมงกุฎหนามที่นำมาใช้เป็นแหล่งของสารสีในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ เพื่อทดแทนการใช้แอสตาแซนทินและเปรียบเทียบความเข้มสีที่เกิดขึ้น และทราบคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเม็ดสำเร็จรูป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการผลิตอาหารเพื่อเพิ่มสีในปลาทะเลสวยงามต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

ทราบปริมาณสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ที่เหมาะสมในอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*) ที่มีผลต่อความเข้มสีในตัวปลา

1.3 ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาผลของปริมาณสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ที่เสริมในอาหารสำเร็จรูปแล้วมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบปริมาณของสาหร่ายมงกุฎหนามที่เหมาะสมที่เสริมในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ที่มีผลต่อความเข้มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ

บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ

ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *Amphiprion frenatus* (Brevoort, 1856) มีชื่อสามัญว่า Tomato clownfish เป็นปลาทะเลสวยงามที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ลักษณะเด่น คือลำตัวแบนเป็นรูปวงรี เหมือนไข่ไก่ ลำตัวมีสีดำอมแดง ครีบทุกครีบมีสีแดง มีแถบสีขาว 1 แถบ พาดขวางบริเวณหลังตา ส่วนปลาขนาดเล็กจะมีลำตัวและครีบเป็นสีแดง มีแถบขาวพาดขวางลำตัว 3 แถบ บริเวณหลังตา ตอนกลางของลำตัวและโคนหาง และแถบสีขาวที่โคนหางจะหายในปลาวัยรุ่น ซึ่งสีลำตัวสีดำจะขยายแผ่ออกจากกลางลำตัวมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม (ยุทธนา ทองเลี่ยม, 2551) ปลาโตเต็มวัยมีขนาดประมาณ 12 เซนติเมตร (รูปที่ 1) ปลาการ์ตูนมะเขือเทศสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้ง่าย ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพน้ำได้ดีมากกว่าปลาการ์ตูนชนิดอื่น (วรวุฒิ เกิดปราง, 2549)

ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ พบแพร่กระจายในบริเวณน่านน้ำมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตกตั้งแต่หมู่เกาะริวกิว ญี่ปุ่น ไปจนถึงมาเลเซียและอินโดนีเซีย ในธรรมชาติจะหาอาหารตามแนวปะการัง มักอาศัยอยู่กับดอกไม้ทะเลชนิดที่ปลายหนวดมีลักษณะเป็นตุ่ม (Bubble tip Anemone, *Entacmaea quadricolor*) เมื่อโตเต็มวัยอาจมีพฤติกรรมก้าวร้าวและปกป้องอาณาเขต โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับปลาการ์ตูนชนิดอื่น (พัฒน์ พิชาน, 2554) สำหรับปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่มีการซื้อขายในตลาดประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นปลาที่นำเข้ามาจากประเทศอินโดนีเซีย ทั้งนี้ กรมประมง โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต ๒ (สมุทรสาคร) ได้เพาะปลาการ์ตูนมะเขือเทศสำเร็จแล้ว

รูปที่ 1 ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *Amphiprion frenatus* (Brevoort, 1856)
(ที่มา: https://goo.gl/images/G4zZDx)

2.2 สาหร่ายมงกุฎหนาม

สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen) มีลักษณะทัลลัสอวบน้ำ แตกแขนงเป็นพุ่ม สูงประมาณ 15 เซนติเมตร รากยึดเกาะขนาดเล็กรูปถ้วย แขนงรูปทรงกระบอก แตกออกจากแกนกลางแบบไม่สม่ำเสมอ ส่วนปลายค่อนข้างเรียวแหลม ทิศทางการแตกแขนงเป็นแบบก้นหอย (สถาบันวิจัยและเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา, 2555: ออนไลน์) ปลายสุดของแขนงย่อยมีลักษณะเป็นแฉกเรียวแหลมประมาณ 3-5 อัน (รูปที่ 2) แพร่กระจายอยู่ทั่วไป โดยความหนาแน่นในการเรียงตัวขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ทัลลัสมีสีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลเข้ม หากอยู่ในที่แสงแดดจัดจะมีสีเหลือง แสงแดดน้อยหรือมีร่มเงาจะมีสีชมพู พบได้ทั่วไปในทุกสภาวะ ตั้งแต่พื้นโคลน พื้นทราย และพื้นหิน ในบริเวณเขตน้ำขึ้นน้ำลงและเขตต่ำกว่าระดับน้ำลงต่ำสุด ตามแนวชายฝั่งที่มีคลื่นสงบถึงปานกลาง เป็นสาหร่ายที่พบได้ทั่วไปในอ่าวไทย เป็นอาหารตามธรรมชาติของปลากินพืช เม่นทะเล และปู (Kilar and McLachlan, 1986)

รูปที่ 2 สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen) จากสถานีวิจัยและพัฒนาประมงทะเลสมุทรสงคราม

2.3 รงควัตถุแคโรทีนอยด์และสารสีแอสตาแซนทิน

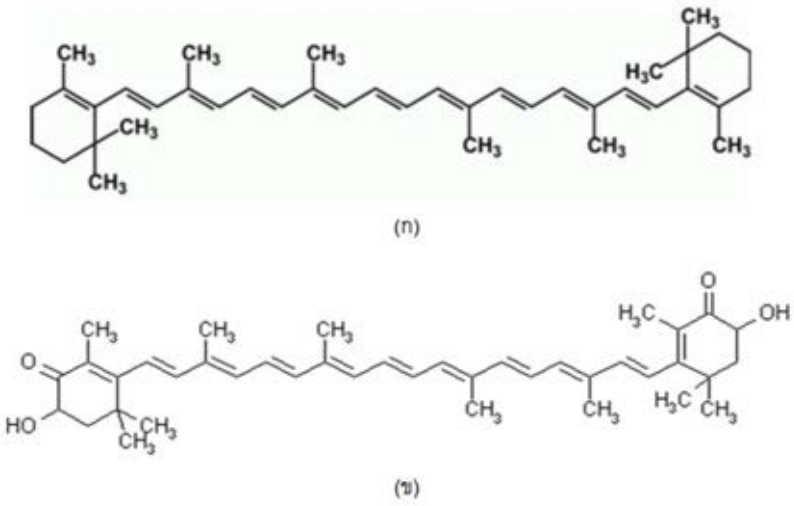
แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุที่มีอยู่ในธรรมชาติ ส่วนใหญ่มีสีส้มและแดง ประกอบด้วย แคโรทีน (Carotenes) และแซนโทรฟิลล์ (Xanthophylls) (Fox and Vevers, 1960) ซึ่งมีสารสีจำพวก เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) ซีแซนทิน (zeaxanthin) ลูทีน (lutein) แอสตาแซนทิน (astaxanthin) และ แคนตาแซนทีน (cantaxanthin) เป็นต้น (วีระศักดิ์ สามี, 2548) ซึ่งความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในอาหารจะมีผลต่อการเร่งสีในปลา (อรพินธ์ จินตสภาพร และคณะ, 2548) โดยปลาจะสะสม

เม็ดสีแคโรทีนอยด์ในชั้นผิวหนัง ทำให้เกิดสีในชั้นผิวหนังของปลา (สมโภชน์ วีระกุล, 2549) ซึ่งปลาอาจเปลี่ยนเม็ดสีที่บริเวณผิวหนังให้เป็นแคโรทีนอยด์รูปอื่นได้ (Fox, 1957) และปลาสามารถเก็บเม็ดสีที่ได้รับจากอาหารไว้ภายในตัวหรือเปลี่ยนเป็นแคโรทีนอยด์ในรูปสีอื่นๆ ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในตัวของปลาชนิดนั้นๆ

การเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารจึงเป็นแนวทางสำคัญที่ช่วยให้ปลาการ์ตูนมีสีสันตรงกับความต้องการของตลาดโดยเฉพาะสีเหลือง สีส้ม และสีแดง อย่างไรก็ตาม แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการใช้งานในสัตว์น้ำ (bioavailability) แตกต่างกัน (Yeum & Russell, 2002) แคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญต่อขบวนการเมทาบอลิซึมของปลา เนื่องจากสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากสารอาหารและอาจส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาเพิ่มสูงขึ้น (Amar *et al*., 2001) และมีความสำคัญต่อระบบการสืบพันธุ์ด้วย (Miki, 1991)

แอสตาแซนทิน (3,3'-dihydroxy-β-β'-carotene -4-4'-dione) จัดอยู่ในกลุ่มของแซนโธฟิลล์ที่ให้สีชมพูถึงสีแดง หรืออาจเรียกว่า คีโตแคโรทีนอยด์ (Ketocarotenoid) เนื่องจากมีโครงสร้างอยู่ในลักษณะที่อยู่ในรูปของเบตา-แคโรทีน ที่ถูกเติมออกซิเจน โดยโครงสร้างหลักประกอบไปด้วยแกนไฮโดรคาร์บอนระหว่างคาร์บอนอะตอมจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ ที่เรียกว่า polyene โดยปลายทั้งสองข้างเป็นวงแหวนแบบปิด (Ionone rings) ของไฮโดรคาร์บอนตรงปลายวงแหวนจะมีหมู่ของไฮดรอกซิลและออกซิเจน (รูปที่ 3) (วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ และ มารุจ ลิมปะวัฒนะ, 2553)

แอสตาแซนทินนสังเคราะห์ถูกนำไปใช้เป็นประโยชน์มากในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในรูปของอาหารสัตว์ โดยแอสตาแซนทินที่ได้รับจากอาหารนั้นจะไปสะสมตามส่วนต่างๆ เช่น หนัง กล้ามเนื้อ โครงกระดูกตลอดจนอวัยวะสืบพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่าแอสตาแซนทินช่วยเพิ่มความต้านทานต่อความเครียดจากการเพิ่มลดความเค็มได้สูง และเสริมภูมิคุ้มกันแก่กุ้งกุลาดำต่อโรคตัวแดงดวงขาว (WSSV) ทำให้ตัวอ่อนมีการเจริญเติบโตและอยู่รอดมากขึ้น (กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ, 2548)



รูปที่ 3 โครงสร้างของ (ก) เบตาแคโรทีน (ข) แอสตาแซนทิน

ที่มา: วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ และ มารุจ ลิมปะวัฒนะ (2553)

2.4 การใช้สาหร่ายทะเลในงานเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายทะเลที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติอย่างแพร่หลาย ทั้งเป็นอาหารผลิตปุ๋ย การบำบัดน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากสาหร่ายทะเลมีศักยภาพในการบำบัดน้ำให้มีคุณภาพดีขึ้น และสารอาหารในน้ำทิ้งยังส่งผลให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีขึ้น (นิสราภรณ์ เพ็ชร์สุทธิ์, 2562: ออนไลน์) มีรายงานการใช้ สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa macrophysa)* บำบัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vanamei)* พบว่ากลุ่มทดลองที่มีสาหร่ายพวงองุ่น 400, 800 และ 1200 กรัม สามารถลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนและออร์โธฟอสเฟตในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ (แก้วตา ลิ้มเฮง และคณะ, 2557) นอกจากนี้ยังมีการนำสาหร่ายมงกุฎหนามมาใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงอนุบาลสัตว์น้ำ (ธวัช ศรีวีระชัย และคณะ, 2548)

สาหร่ายทะเลมีการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำ เช่น หอยเป๋าฮื้อ จากการศึกษาผลของสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria fisheri)* และสาหร่ายหนาม (*Acanthophora spicifera)* ต่อการเติบโตและอัตราการรอดของหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina,* Linne) พบว่าหอยเป๋าฮื้อที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายหนาม *(A. spicifera)* มีอัตราการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เนื่องจากคุณค่าทางอาหารที่สูงกว่าสาหร่ายผมนาง (*G. fisheri)* และยังพบว่าสาหร่ายหนามประกอบด้วยกลุ่มของกรดอะมิโนจำเป็นและกรดไขมันชนิด n-3 HUFA ซึ่งไม่พบในสาหร่ายผมนาง (สุพิศ ทองรอด และคณะ, 2545) นอกจากนี้ยังมีการใช้สาหร่ายผมนาง (*G. fisheri)* เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและสารเหนียวในอาหารกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii)* พบว่า

สามารถใช้สาหร่ายผมนางเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและสารเหนียวในอาหารกุ้งก้ามกรามได้ 0-15 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ อัตรารอด รวมถึงองค์ประกอบทางเคมีของกุ้งก้ามกราม (หับเส๊าะ หมัดเหม และคณะ, 2553) เช่นเดียวกับการใช้สาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) เป็นวัตถุดิบในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายผักกาดทะเลมีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (มนทกานติ ท้ามติ้น และคณะ, 2559)

สำหรับสาหร่ายมงกุฎหนาม (*A. spicifera*) มีการนำมาใช้ในการบำบัดคุณภาพน้ำและน้ำทิ้งจากโรงเพาะอนุบาลสัตว์น้ำ (ธวัช ศรีวีระชัย และคณะ, 2548) และใช้บำบัดน้ำทิ้งจาก การเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา (ทิพย์วรรณ เชาวลิต, 2553) แต่ยังไม่มีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมงกุฎหนามในเชิงพาณิชย์ และยังไม่พบข้อมูลของการนำสาหร่ายมงกุฎหนามมาเป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์น้ำเพื่อการเร่งสี

2.5 งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้สาหร่ายทะเลเป็นแหล่งสารสีในอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม

อาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำสวยงามได้แก่ ปลาสวยงาม กุ้งและปูสวยงาม ต้องคำนึงถึงวัตถุดิบที่นำมาทำอาหารและการเสริมสารสีในอาหารเพื่อเพิ่มสีสันบนลำตัวของปลาซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ในธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม เนื่องจากปลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมักจะมีสีสันไม่ชัดเจนเหมือนในธรรมชาติ ส่งผลต่อการกำหนดราคาของปลา ปัจจุบันจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงคุณภาพสีในปลาสวยงามในด้านการใช้อาหารเร่งสี จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า สารแอสตาแซนทินที่ผสมในอาหารมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีในปลาการ์ตูนส้มขาว (ฤทัย โลทะกะ, 2551; เศรษฐศักดิ์ ติวะนันทกร, 2552) สอดคล้องกับ นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ (2555) เสริมสารแอสตาแซนทินในอาหารของปลาการ์ตูนส้มขาว พบว่าที่ระดับของแอสตาแซนทิน 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (ppm) ปลาการ์ตูนส้มขาวจะมีการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของสีแดง และพบซีแซนทีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นบริเวณผิวหนัง เนื่องจากปลาการ์ตูนสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินในอาหารอยู่ในรูปซีแซนทีนสะสมบริเวณผิวหนังได้ และ นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และ สมถวิล จริตควร (2561) ได้ทำการศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ที่เสริมในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง (*Premnas biaculeatus* Bloch, 1790) โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ชนิดของแคโรทีนอยด์ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แคนทาแซนทิน แอสตาแซนทิน ลูทีน และซีแซนทีน และระยะเวลาในการเสริมแคโรทีนอยด์ ในเวลา 1, 2 และ 3 เดือน พบว่า ปลาการ์ตูนแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ เป็นเวลา 2 เดือน มีการเพิ่มของสีแดงบริเวณผิวหนังปลามากที่สุด แต่การใช้สารสีสังเคราะห์จะทำให้ต้นทุนในการผลิตอาหารนั้นสูงขึ้น เช่นเดียวกับ การเสริมสารแอสตาแซนทินที่มีความเข้มข้นต่างๆ จะสัมพันธ์กับการเพิ่มสีในปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์, 2541) ทั้งนี้เมื่อปลาได้รับ

แคโรทีนอยด์จะเปลี่ยนให้กลายเป็นแคนตาแซนทิน และแอสตาแซนทิน (สมโภชน์ วีระกุล, 2549) แต่แคโรทีนอยด์สังเคราะห์ที่มีการใช้ในการเลี้ยงปลาสวยงามจะเป็นการนำเข้ามาจากต่างประเทศและมีราคาแพง ทำให้ต้นทุนการผลิตอาหารเลี้ยงปลาสวยงามสูงขึ้น

การนำสารแคโรทีนอยด์จากธรรมชาติทั้งในพืชและสัตว์มาใช้เสริมในอาหารปลาสวยงาม เช่น เปลือกผลแก้วมังกรจะให้สารสกัดเบต้าเลนปรับปรุงสีปลาสอดแดง (พัชรี มงคลวัย และคณะ, 2556) และนำมะละกอสุกผสมอาหารเพื่อเร่งสีผิวปลาทอง (*Carassius auratus*) โดยใช้อาหารเร่งสีที่ผสมมะละกอสุกเปรียบเทียบกับอาหารเร่งสีจากท้องตลาด พบว่าระดับของมะละกอสุกในอาหารส่งผลให้สีผิวปลามีความสว่างเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ภัทรียา พลซา และคณะ, 2561) นอกจากนี้ การใช้ไรน้ำนางฟ้าเสริมในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งไรน้ำนางฟ้ามีสารสีแคโรทีนอยด์จะไปสะสมที่ผิวหนังของปลาทองทำให้มีความเข้มสีผิวเพิ่มขึ้น (จิตรา สิมาวัน และคณะ, 2559) และมีการใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากธรรมชาตินำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้ พบว่าแอสตาแซนทินยังช่วยเพิ่มความต้านทานต่อความเครียดและเสริมภูมิคุ้มกันกุ้งกุลาดำ ทำให้ตัวอ่อนมีการเติบโตและอยู่รอดมากขึ้น (Chien *et al*., 2003)

นอกจากนี้ มีรายงานการใช้สาหร่าย *Nannochloropsis oculata* และ *Porphyridium cruentum* ซึ่งเป็นสาหร่ายขนาดเล็กเสริมอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *Amphiprion frenatus* ซึ่งจะช่วยให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีสีลำตัวเข้มขึ้น (Hekimoğlu *et al*., 2017) เช่นเดียวกับการเสริม cyanobacteria ในอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม ก็ทำให้ปลาสวยงามมีสีเข้มขึ้น ช่วยในการเติบโต และมีอัตรารอดตายดีขึ้น (Mukherjee *et al*., 2015) และจากการศึกษาปริมาณสาหร่ายสไปรูลิน่าในอาหารที่มีผลต่อความเข้มสีของปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1893) อายุ 60 วัน พบว่าอาหารที่เสริมสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มความเข้มสีของปลาการ์ตูนได้มากกว่าชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เสริมสาหร่ายสไปรูลินา (ชนัดดา เกษมโชติช่วง, 2547).

ดังนั้น การนำสาหร่ายมงกุฎหนามมาใช้เป็นแหล่งของสารสีเสริมลงในอาหารเม็ดสำเร็จรูปในการเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ จะเป็นการนำสารแคโรทีนอยด์จากธรรมชาติมาใช้ทดแทนแคโรทีนอยด์สังเคราะห์เพื่อลดต้นทุนในการผลิตอาหารปลาการ์ตูนมะเขือเทศได้ และข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการในอาหารจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการผลิตอาหารเพื่อเพิ่มสีในปลาทะเลสวยงามต่อไป

บทที่ 3 วิธีการศึกษา

ก. <u>แผนการศึกษา</u>

3.1 วางแผนการทดลอง

ยื่นโครงร่างวิจัยฯ ขอใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ต่อคณะกรรมการ คกส. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

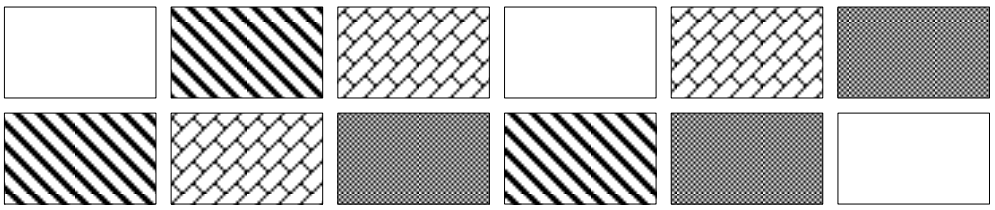
วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Ramdomized Design: CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง แต่ละชุดมี 3 ซ้ำ (รูปที่ 4) โดยนำปลาการ์ตูนมะเขือเทศมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต ๒ (สมุทรสาคร) แต่ละชุดได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบเหมือนกัน ดังนี้

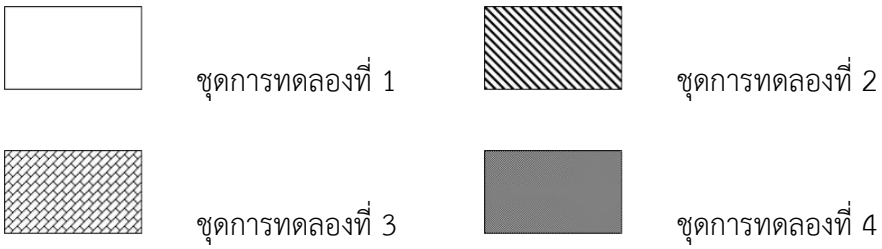
ชุดการทดลองที่ 1 สูตรควบคุม (ไม่เสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง และแอสตาแซนทิน)

ชุดการทดลองที่ 2 เสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 2%

ชุดการทดลองที่ 3 เสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 4%

ชุดการทดลองที่ 4 เสริมแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) 0.05%

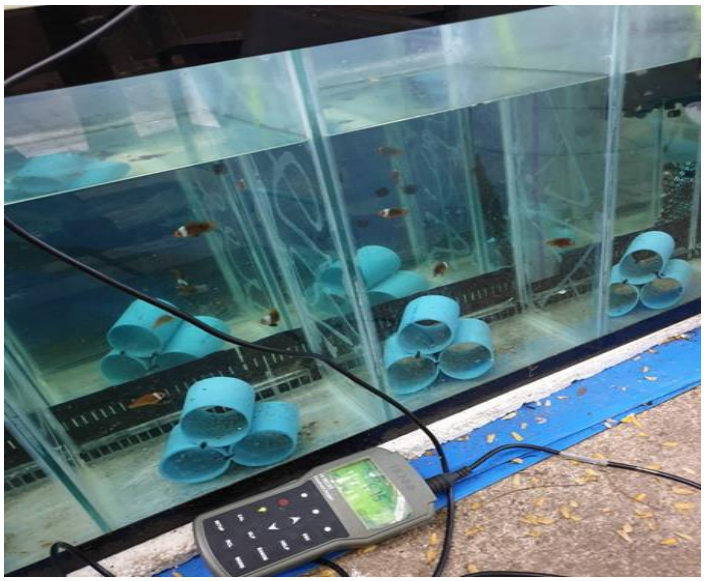




รูปที่ 4 แผนผังรูปแบบการทดลอง

3.2 การเตรียมตู้ทดลอง และน้ำในการทดลอง

เตรียมตู้กระจกขนาดกว้าง 51.5 ซม. ยาว 153 ซม. สูง 52.5 ซม. ภายในตู้กระจกแบ่งพื้นที่เป็น 12 ส่วน (รูปที่ 5) นำน้ำทะเลที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน โดยเตรียมจากน้ำทะเลผง 6 กิโลกรัม ผสมกับน้ำสะอาด 200 ลิตร และพักให้ตกตะกอนแล้วพร้อมทั้งฆ่าเชื้อโดยใส่คลอรีน 20-30 กรัม/ น้ำ 1 ตัน ให้อากาศอย่างน้อย 2-3 วัน แล้วกรองน้ำด้วยถุงกรองน้ำขนาดตา 5 ไมครอน (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) โดยภายในตู้ทดลองจะมีเครื่องกรองน้ำ (Bio-filter) ที่ประกอบด้วยใยสังเคราะห์ เปลือกหอยนางรม และ Bioball จากนั้นนำน้ำที่เตรียมลงใส่ในตู้ทดลองปริมาตร 250 ลิตร โดยสร้างระบบเลี้ยงก่อนการทดลองประมาณ 25-30 วัน เพื่อให้ระบบ Biological filtration ทำงานเป็นปกติ (active) เพื่อป้องกันไม่ให้ไนโตรเจนในระบบเป็นพิษต่อปลาการ์ตูน ซึ่งระบบการเลี้ยงเป็นระบบหมุนเวียน และจะทำการดูดตะกอนของเสียออกจากระบบทุกวัน มีการตรวจวัดคุณภาพน้ำให้คงที่ โดยคุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงปลามีค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28.5-31 องศาเซลเซียส ออกซิเจนละลายน้ำไม่ต่ำกว่า 6.0 mg/l ความเค็ม 29.5-31 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรดเป็นด่าง 7.5-8.0 ความเป็นด่าง 90-140 mg $CaCO_3$/l แอมโมเนีย 0-0.25 mg/l และไนไตรท์ ไม่เกิน 1.0 mg/l มีการเติมน้ำทะเลความเค็มที่เตรียมไว้ลงในตู้กระจกเพื่อรักษาระดับน้ำหมุนเวียนในระบบเลี้ยง โดยทำการทดลองเลี้ยงปลาที่ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 ตู้กระจกทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ

3.3 เตรียมผลิตอาหารสำเร็จรูป

เตรียมวัตถุดิบอาหาร โดยนำสาหร่ายมงกุฎหนาม มาจากสถานีวิจัยและพัฒนาประมงทะเลสมุทรสงคราม โดยนำสาหร่ายมงกุฎหนามมาล้างทำความสะอาดก่อนแล้วนำสาหร่ายมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึก นำสาหร่ายไปแช่ในตู้ทำความเย็น -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำสาหร่ายไปทำให้แห้งโดยใช้ความเย็น (freeze dryer) หลังจากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (ยี่ห้อ Tefal รุ่น BL3091 กำลังไฟ 550 วัตต์) แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาดตา 500 ไมครอน (รูปที่ 6)

สูตรอาหารสำเร็จรูป เตรียมวัตถุดิบในอาหารทดลอง (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ดัดแปลงจากสูตรอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) มีองค์ประกอบดังนี้ ปลาป่น (โปรตีนไม่น้อยกว่า 60%) แป้งสาลี ถั่วเหลืองป่น เคยป่น หวีทกลูเตน เลซิทิน รำ น้ำมันปลาทูน่า แร่ธาตุผสม วิตามินผสม วิตามินซี 97% แอสตาแซนทิน (Astaxanthin) และสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง (ตารางที่ 1) นำวัตถุดิบอาหารมาผสมให้เข้ากันแล้วนำเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร California Pelleting Machine (CPM) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร หลังจากนั้นนำเม็ดอาหารที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และนำมาเข้าตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นออก ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาคัดแยกขนาดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1000, 850 และ 500 ไมครอน (กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์, 2561) จากนั้นนำอาหารเม็ดมาวางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 7) และทดสอบความคงตัวในน้ำ หลังจากนั้น แบ่งอาหารเม็ดเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งบรรจุในภาชนะปิดสนิทเพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางอาหาร อีกส่วนหนึ่งนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ทำการผลิตอาหารที่ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 6 สาหร่ายมงกุฎหนามบดละเอียด

รูปที่ 7 อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ
(จากซ้ายไปขวา) สูตรควบคุม, สูตรเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม 2%, สูตรเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม 4% และสูตรเสริมแอสตาแซนทิน 0.05%

3.4 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูป

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร โดยเป็นการหาค่าองค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลองด้วยวิธี proximate analysis (The Association of Official Analytical Chemists (AOAC) in Animal, 2005) โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl Method, วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (รูปที่ 8) วิเคราะห์ปริมาณไขมันดัดแปลงจากวิธีของ Bligh and Dyer (1959) และปริมาณความชื้น ที่ห้องปฏิบัติการโภชนะศาสตร์อาหารสัตว์น้ำและห้องปฏิบัติการเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 วัตถุดิบในอาหารทดลอง (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) ดัดแปลงจากสูตรอาหารสำเร็จรูปของปลาการ์ตูนส้มขาว (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555)

Ingredient	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4
Fish meal (protein 60%)	36	36	36	36
Soybean (protein 60%)	11.5	11.5	11.5	11.5
Shrimp meal	3	3	3	3
Wheat gluten	5	5	5	5
Wheat powder	15	15	15	15
Rice bran	19	17	15	18.95
Tuna oil	5	5	5	5
Lecithin	2	2	2	2
Mineral premix*	1	1	1	1
Vitamin premix**	2	2	2	2
97% Vitamin C	0.5	0.5	0.5	0.5
Astaxanthin	0	0	0	0.05
Acanthophora spicifera	0	2	4	0
Total	**100**	**100**	**100**	**100**

หมายเหตุ: * Mineral premix contains natural mineral chelate such as Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Se, Cr, P etc.

** Vitamin premix contains Vitamin E 5000 IU, Vitamin C 35.00 g, Vitamin B1 5.50 g, Vitamin B2 5.50 g, Vitamin B6 15.00 g, Vitamin B12 0.10 g, Niacin 10.00 g, Folic acid 0.40 g, Inositol 20.00 g, Glucono Delta Lactone 50.00 g, Feed additives 0.50 g, Preservative 0.50 g, Carrier add to 1 kg

(ก.) (ข.)

(ค.) (ง.)

รูปที่ 8 เครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง ด้วยวิธี proximate analysis

ก. เครื่องวิเคราะห์โปรตีนแบบอัตโนมัติ (Protein Analyzer)

ข. เตาเผาความร้อนสูง รุ่น Thermolyne furnace 48000

ค. ตู้อบ (Dry oven)

ง. เครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)

3.5 ดำเนินการทดลอง

นำปลาการ์ตูนมะเขือเทศ อายุประมาณ 1 เดือน (รูปที่ 9) ขนาดความยาวตัวเฉลี่ย 2.80 เซนติเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.43 กรัม จำนวน 36 ตัว โดยซื้อมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต ๒ (สมุทรสาคร) กรมประมง นำปลามาอนุบาลด้วยอาหารสำเร็จรูปสูตรควบคุม เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาเคยชินกับอาหารทดลอง และมีการปรับสภาพให้เคยชินกับสิ่งแวดล้อมในการทดลองเลี้ยง ก่อนนำปลาลงตู้ทดลองทำการวัดความยาวลำตัว (เซนติเมตร) ชั่งน้ำหนัก (กรัม) และถ่ายรูปสีที่ปรากฏบน

ลำตัวปลาการ์ตูนมะเขือเทศ แล้วนำปลาใส่ตู้ทดลองที่มีการแบ่งส่วนเป็น 12 ส่วน ส่วนละ 3 ตัว ระหว่างการทดลอง ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง เวลา 09.00 12.00 และ 15.00 น. ให้อาหารทีละน้อย รอให้ปลากินหมด โดยให้อาหารประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (เดือนกุมภาพันธ์ 2562)

รูปที่ 9 ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ อายุ 1 เดือน

3.6 การควบคุมคุณภาพน้ำ

ตรวจสอบคุณภาพน้ำระหว่างการทดลอง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้มีค่าคงที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ โดยวัดความเค็มและอุณหภูมิใช้เครื่อง YSI Model 30 Handheld Salinity, Conductivity, & Temperature System, ปริมาณแอลคาลินิตี้ (alkalinity) แอมโมเนีย และไนไตรท์ โดยใช้ชุดตรวจวัดคุณภาพน้ำ (Test Kit) AQUA-VBC ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และใช้ชุดตรวจปริมาณออกซิเจนละลาย (DO), ปริมาณความเป็นกรด-ด่าง (pH), แมกนีเซียม (Mg) ของ PARA TEST

3.7 การเก็บข้อมูล

- การเจริญเติบโต อัตรารอดตาย โดยชั่งน้ำหนัก (กรัม) และวัดความยาว (เซนติเมตร) ก่อนเริ่มต้นทดลองในทุกชุดการทดลอง ทุกซ้ำและทุกตัว เมื่อการทดลองครบ 7 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก วัดความยาวลำตัวปลา บันทึกการรอดตาย และถ่ายรูปสีที่ปรากฏบนลำตัวปลา
- คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน หรือ Average Daily Gain (ADG) ดังสมการ

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน } (\text{มก. ต่อวัน}) = \frac{[(\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น})]}{\text{จำนวนวันในการทดลอง}}$$

3.8 การวัดค่าสี

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำปลามาวัดการเปลี่ยนแปลงของสีด้วยเครื่อง Spectroradiometer ยี่ห้อ Konika Minota รุ่น CS2000 ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางภาพและการพิมพ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (รูปที่ 10) และใช้โปรแกรม 2 degree illuminant : D65 ในการแปลผลข้อมูล โดยวัดค่าสีปลาการ์ตูนทุกตัวในทุกชุดการทดลองและทุกซ้ำของการทดลอง

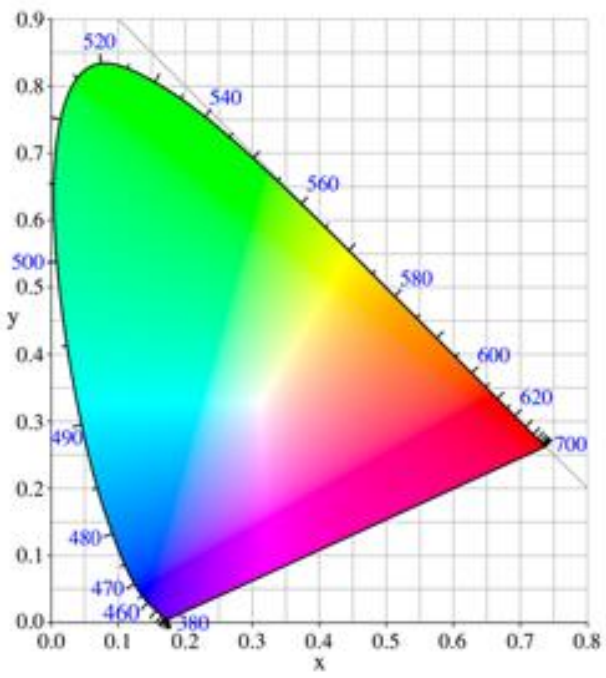
หลักการวิเคราะห์สีของเครื่อง Spectroradiometer คือระบบสี CIE ซึ่งถูกกำหนดโดยองค์กรที่ทำหน้าที่กำหนดมาตรฐานด้านสี หรือ Commission International de l'Eclairage (CIE) ทั้งนี้เนื่องจากการมองภาพของคนเราอาจเกิดความผิดพลาดในเรื่องการประเมินสีที่เห็น ทางองค์กรจึงได้กำหนดค่ามาตรฐานโดยใช้ระบบ CIE Lab scale หรือ L*a*b* เป็นระบบที่วัดค่าสีออกมาเป็นตัวเลขที่สามารถนำไปคำนวณและอ้างอิงได้ (เศรษฐศักดิ์ ติวะนันทกร, 2552) โดยค่า L* หมายถึงความสว่าง (lightness) จากค่า +L* แสดงถึงสีขาว จนไปถึง –L* แสดงถึงสีดำ แกน a* หมายถึงแกนสีจากสีเขียว (-a*) ไปจนถึงสีแดง (+a*) และแกน b* หมายถึงแกนสีจากสีน้ำเงิน (-b*) ไปจนถึงสีเหลือง (+b*) (รูปที่ 11) ซึ่งค่า a* และ b* จะเป็นค่าสัมประสิทธิ์ไดอะแกรมที่บอกทิศทางของสี ซึ่งในการหาค่าความแตกต่างของสีที่เป็นตัวเลขนั้น จะพบว่าจุดๆหนึ่งใน space นั้นเป็น L1*a1*b1* และเมื่อสีมีการเปลี่ยนเฉด จะได้อีกจุดใน space เป็น L2*a2*b2* ซึ่งสองจุดนี้จะมีระยะห่างใน space เท่ากับค่าความแตกต่างของสี ดังสมการ

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

โดยค่า ΔE คือค่าความแตกต่างของสี

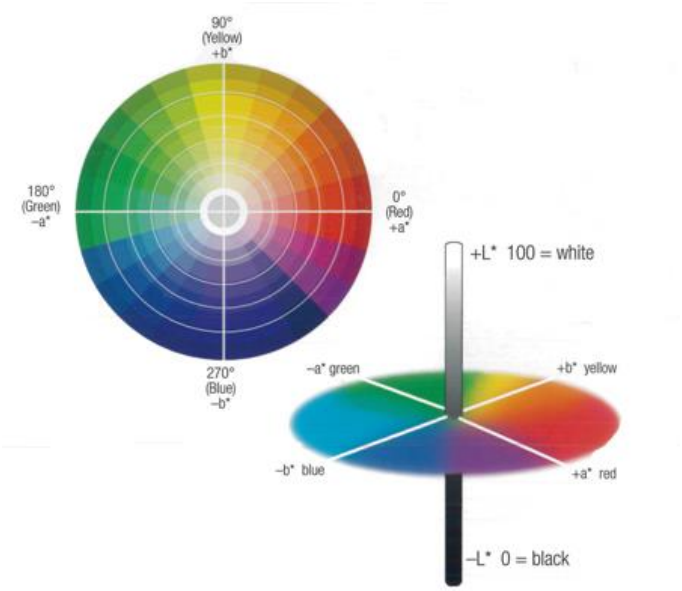
นอกจากนี้ สามารถพิจารณาค่าความเข้มสี (Chroma) ในการหาความแตกต่างของสี ซึ่งค่า Chroma หมายถึงค่าความอิ่มตัวของสี โดยสามารถระบุตำแหน่งไว้บน L*a*b* color space diagram (รูปที่ 12) โดยในกรณีที่วัตถุมีความเข้มสีมากคือมีความอิ่มตัวมาก ค่า Chroma จะสูง ระดับสีจะยื่นออกมาจากแกนกลางมาก ในทางตรงกันข้ามหากวัตถุมีความเข้มสีน้อยคือมีความอิ่มตัวน้อย ค่า Chroma จะต่ำ ระดับสีจะยื่นออกมาจากแกนกลางน้อย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลำดับของแต่ละสีด้วย

รูปที่ 10 เครื่อง Spectroradiometer ยี่ห้อ Konika Minota รุ่น CS2000



รูปที่ 11 สีในระบบ CIE Lab ในระนาบ 2 มิติ แสดงค่าเฉดสีและความเข้มสี

(ที่มา: https://www.glass-ts.com/colour-measurement-cielab)



รูปที่ 12 ไดอะแกรม CIE Lab color space

(ที่มา: https://www.bonlalum.com/education/the_truth_about_color.shtml)

3.9 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

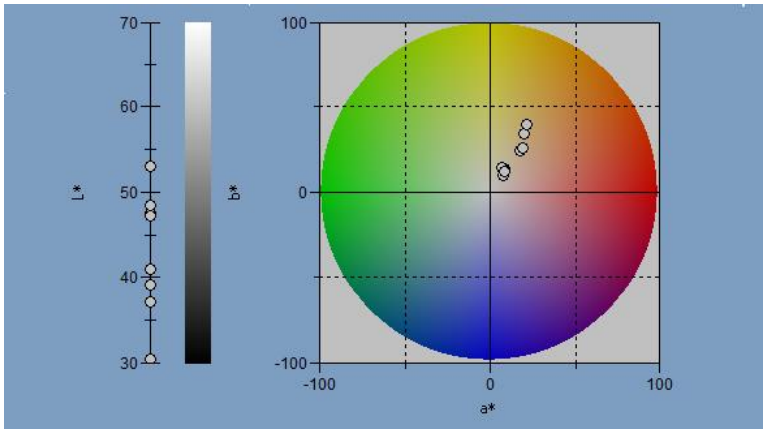
นำข้อมูลด้านการเติบโต การรอดตาย และค่าการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตขึ้น มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้สถิติ Duncan’s New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.00 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

ผลของการเสริมสารสีสกัดจากสาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) ในอาหารสำเร็จรูปต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus*) โดยโครงการวิจัยดังกล่าวได้ผ่านการพิจารณาและอนุมัติการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการการควบคุมดูแลการเลี้ยง และการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Protocol Review No. 1923006) ได้ผลการศึกษาดังนี้

4.1 ความเข้มสีบนลำตัวปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *A. frenatus*

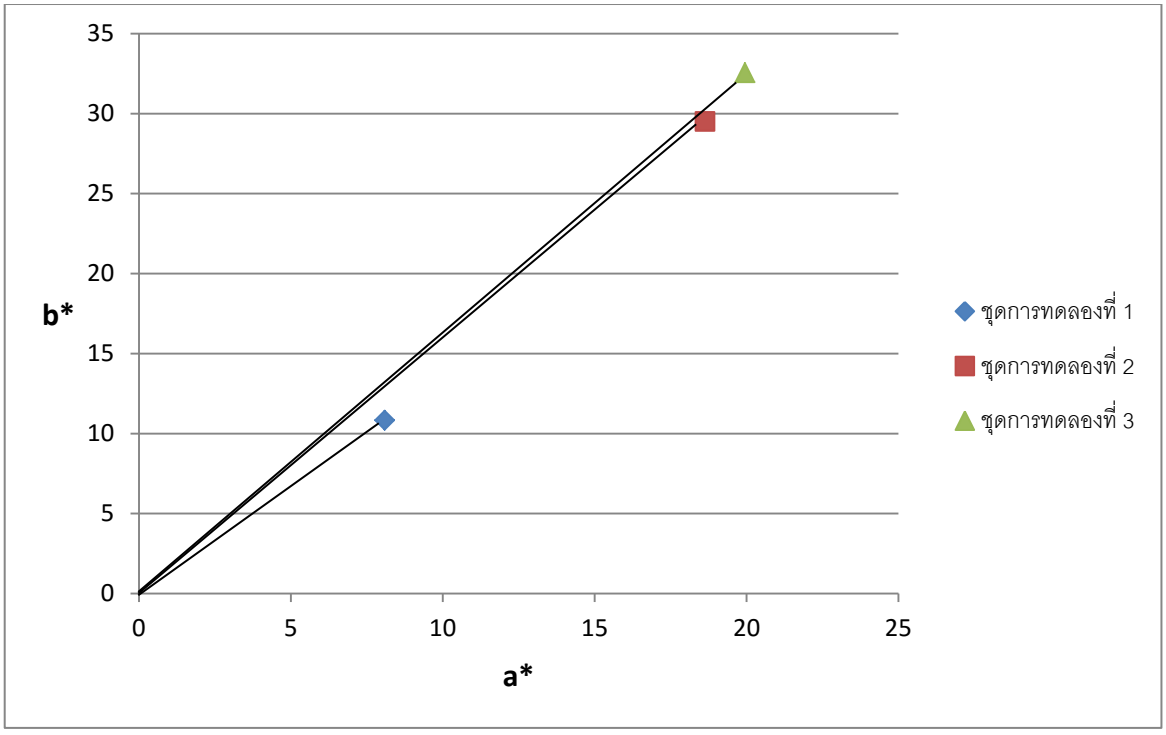
ผลการวัดค่าความเข้มสีบนลำตัวปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *A. frenatus* ด้วยเครื่อง Spectroradiometer ยี่ห้อ Konika Minota รุ่น CS2000 หลังจากทำการทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศไปได้ 7 วัน โดยชุดการทดลองที่ 1 ให้อาหารสูตรควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 2% และชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 4% ส่วนชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารเสริมแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) 0.05% แต่เนื่องจากปลาการ์ตูนในชุดการทดลองที่ 4 ได้ตายลงในระหว่างการทดลองเลี้ยง จึงไม่มีตัวอย่างปลานำมาวัดค่าความเข้มสี ซึ่งเมื่อนำค่าความเข้มสีมาพิจารณาดัชนี a* และ b* มาสร้างกราฟ โดยแกน x เป็นค่า a* และแกน y เป็นค่า b* จะได้ว่าเฉดสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศในทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่างแกน a* และ b* ซึ่งเป็นบวกและจัดอยู่ในเฉดสีส้ม (รูปที่ 13) นอกจากนี้ค่าความเข้มสีหรือค่า chroma ที่วัดได้ในชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 3 มีค่า chroma เท่ากับ 38.28±9.16 รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 2 และ 1 มีค่า chroma เท่ากับ 34.94±6.55, 13.54±1.38 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 (รูปที่ 14)



รูปที่ 13 ไดอะแกรม CIE Lab แสดงค่าดัชนี a* และ b* ของสีปลาการ์ตูนมะเขือเทศจากทุกชุดการทดลอง

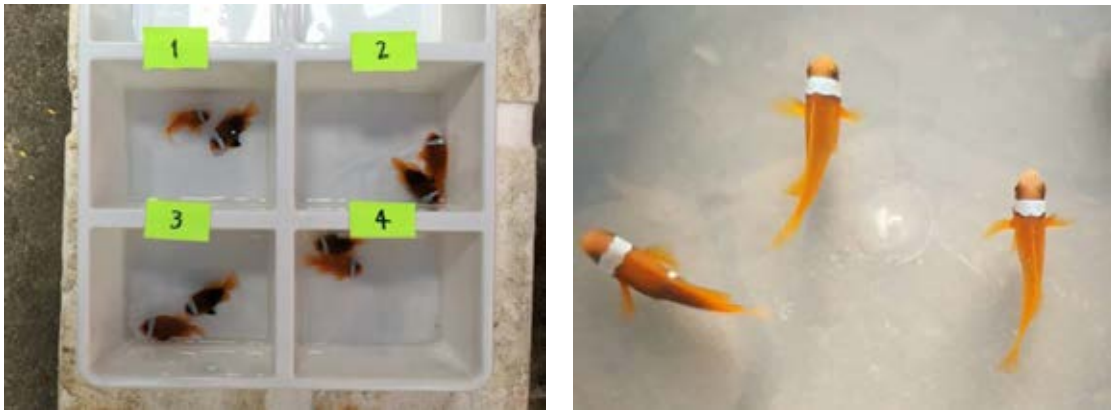
ตารางที่ 2 ค่าดัชนีความเข้มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศในแต่ละชุดการทดลอง

Average	Diet Formulation		
	1 (control)	2 (seaweed 2%)	3 (seaweed 4%)
L*	34.84	47.42	50.74
a*	8.09	18.64	19.95
b*	10.84	29.52	32.56
Chroma (ค่าความเข้มสี)	13.54±1.38	34.94±6.55	38.28±9.16



รูปที่ 14 ค่าความแตกต่างของสีปลาการ์ตูนมะเขือเทศ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3

จากผลของการเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม (*A. spicifera*) ซึ่งเป็นสาหร่ายสีแดงเสริมในอาหารสำเร็จรูป ต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*A. frenatus*) (รูปที่ 15) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน จะเห็นได้ว่า ค่าดัชนีความเข้มสีของปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่วัดได้ มีค่ามากที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งให้อาหารเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 4% ดังนั้น ความเข้มสีเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณสาหร่ายมงกุฎหนามที่เสริมในอาหารทดลอง สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายสีแดง *Gracilaria corticata* เสริมในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนส้มขาว *A. ocellaris* พบว่า *G. corticata* จะทำให้เกิดการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาวได้ (Nanthini devi *et al*., 2016) ซึ่งสาหร่ายมงกุฎหนามจะมีสารสีแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้เมื่อปลาได้รับแคโรทีนอยด์จะเปลี่ยนให้กลายเป็นแคนตาแซนทิน และแอสตาแซนทิน ทำให้เกิดสีสะสมที่ผิวหนังของปลา (สมโภชน์ วีระกุล, 2549) ซึ่งปลาการ์ตูนส้มขาวสามารถเปลี่ยนแอสตาแซนทินให้ในอยู่รูปซีแซนทีนแล้วสะสมบริเวณผิวหนังได้ (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) เช่นเดียวกับ การทดลองใช้แหล่งแคโรทีนอยด์จากแอสตาแซนทินเป็นแหล่งสารสีในปลาการ์ตูนแดง ทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีบริเวณผิวหนังปลา (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และ สมถวิล จริตควร, 2562) จากการทดลองเป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าสีในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งหากปลาการ์ตูนมะเขือเทศได้รับอาหารทดลองในระยะเวลาที่มากขึ้น อาจทำให้การปรากฏสีที่ผิวหนังปลาชัดเจนขึ้น



รูปที่ 15 ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ หลังการทดลองเลี้ยง 7 วัน นำไปวัดความเข้มสีบนลำตัวปลา

4.2 การเจริญเติบโตของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ *A. frenatus*

ปลาการ์ตูนมะเขือเทศอายุ 1 เดือน นำมาใช้ในการทดลองเลี้ยง จำนวน 36 ตัว มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.75-1.14 กรัม และวัดความยาวลำตัวเฉลี่ย 2.28-3.85 เซนติเมตร โดยอาหารในแต่ละชุดการทดลองมีองค์ประกอบของวัตถุดิบหลักเหมือนกัน แตกต่างกันที่การเสริมวัตถุดิบที่จะเป็นแหล่งสารสีในอาหาร เมื่อทำการทดลองเลี้ยงได้ 7 วัน ชั่งน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเป็น 0.28±0.16,

0.32±0.24, 0.16±0.20 และ 0.38±0.03 กรัมตามลำดับ อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน หรือ Average Daily Gain (ADG) มีค่าเป็น 0.040, 0.04, 0.034 และ 0.054 มิลลิกรัมตามลำดับ และวัดความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ได้เป็น 0.38±0.06, 0.15±0.07, 0.28±0.18 และ 0.35±0.07 เซนติเมตรตามลำดับ จากการวิเคราะห์น้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น พบว่าไม่มีความความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในแต่ละชุดการทดลอง ดังตารางที่ 3 และ 4 (รูปที่ 15, 16)

หลังจากเริ่มการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ปลาการ์ตูนมะเขือเทศได้เริ่มมีอาการตกเลือด และทยอยตายลง จึงหยุดการทดลองลง นับจำนวนปลาที่ยังมีชีวิตในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าทุกชุดการทดลองเหลือปลาการ์ตูนมะเขือเทศชุดละ 1 ตัว แต่ชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารเสริมแอสตาแซนทิน 0.05% นั้น ปลาการ์ตูนได้ตายลงหมด

จากผลการเติบโตของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (A. *frenatus*) หลังจากการให้อาหารทดลองเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ปลาการ์ตูนมะเขือเทศในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวและความยาวลำตัวเพิ่มขึ้นจากน้ำหนักตัวปลาและความยาวลำตัวปลาที่เริ่มต้นทดลองเลี้ยง แต่อาหารที่เสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้ทำให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และอาหารทดลองที่เสริมแอสตาแซนทิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อาจเนื่องมาจากแอสตาแซนทินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการสร้างระบบภูมิคุ้มกันและกระตุ้นการเจริญเติบโตของปลา ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและการผสมพันธุ์ (Torrissen, 1990; Meyers, 1994; กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ, 2548) จึงทำให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีการเติบโตด้านน้ำหนักมากกว่าปลาการ์ตูนที่ไม่ได้รับการเสริมแอสตาแซนทิน และทำให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันดีที่สุดเป็น 0.054 มิลลิกรัม ส่วนความยาวลำตัวของปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามอบแห้งปริมาณ 2, 4 เปอร์เซ็นต์ และแอสตาแซนทิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม

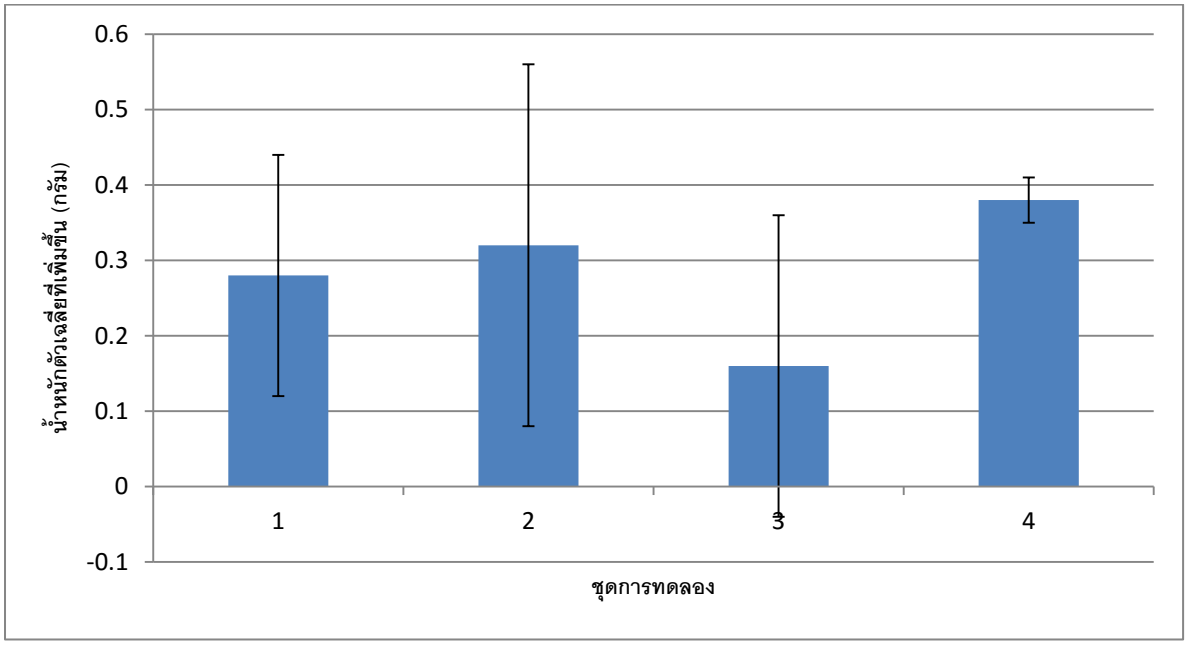
ทั้งนี้อาหารสำเร็จรูปเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามไม่มีผลต่อการเติบโต และอัตรารอดตายของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ สอดคล้องกับการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนแดง ไม่มีผลต่อการเติบโต อัตรารอดตายต่อปลาการ์ตูนแดงเช่นเดียวกัน (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และ สมถวิล จริตควร, 2562)

ตารางที่ 3 น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) และอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน (มิลลิกรัม) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus* ในการทดลอง

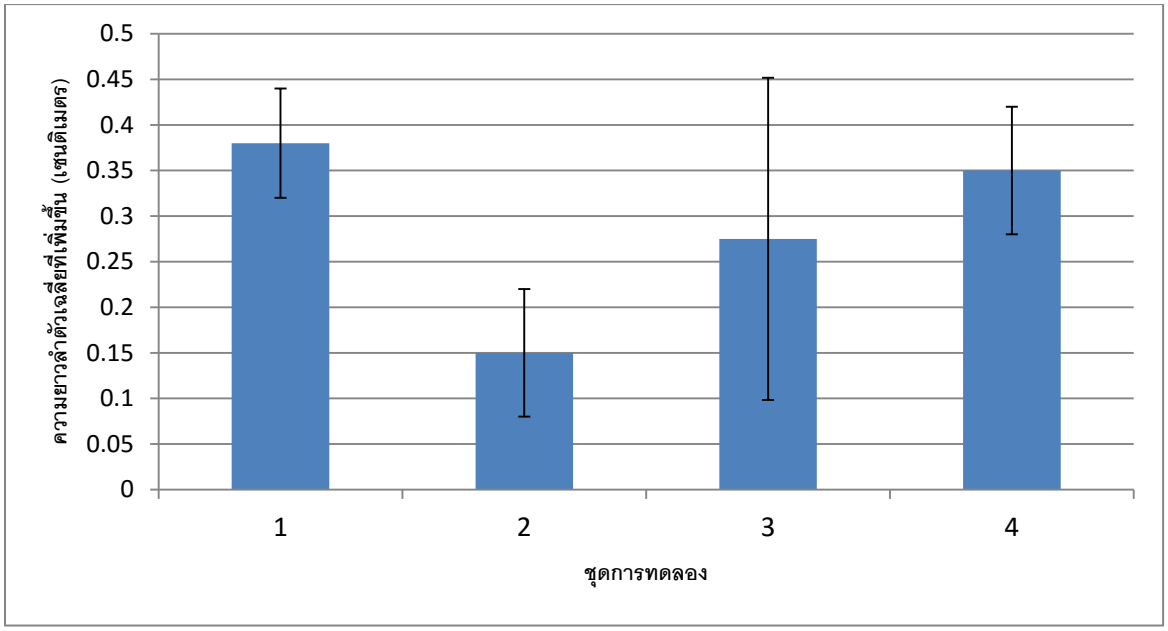
ชุดการทดลอง	น้ำหนักตัวเฉลี่ยก่อนการทดลอง (กรัม)	น้ำหนักตัวเฉลี่ยหลังการทดลอง (กรัม)	น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวัน; ADG (มิลลิกรัม)
1	0.75±0.21	1.03±0.31	0.28±0.16	0.040
2	0.86±0.12	1.18±0.36	0.32±0.24	0.046
3	1.14±0.004	1.38±0.16	0.16±0.20	0.034
4	0.99±0.05	1.37±0.02	0.38±0.03	0.054

ตารางที่ 4 ความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus* ในการทดลอง

ชุดการทดลอง	ความยาวลำตัวเฉลี่ยก่อนการทดลอง (เซนติเมตร)	ความยาวลำตัวเฉลี่ยหลังการทดลอง (เซนติเมตร)	ความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (เซนติเมตร)
1	3.53±0.15	3.90±0.09	0.38±0.06
2	3.85±0.49	4.0±0.42	0.15±0.07
3	3.93±0.74	4.20±0.57	0.28±0.18
4	3.40±0.57	3.75±0.49	0.35±0.07



รูปที่ 16 น้ำหนักตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศก่อนการทดลองและหลังการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 17 ความยาวลำตัวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (±SD) ของปลาการ์ตูนมะเขือเทศก่อนการทดลองและหลังการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

4.3 คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลอง

การทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus* ในระบบน้ำหมุนเวียนกึ่งปิด ควบคุมคุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองในตู้ทดลองให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาการ์ตูน (นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และคณะ, 2555) ซึ่งมีการดูดตะกอนของเสียและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน มีค่าคุณภาพน้ำดังตารางที่ 5

เมื่อทดลองเลี้ยงได้ 7 วัน วัดค่าไนไตรท์ของน้ำในระบบเลี้ยงมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ (เกณฑ์ค่าไนไตรท์เท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำให้มีความเป็นพิษต่อปลาการ์ตูนมะเขือเทศ จึงเปลี่ยนน้ำในตู้ทดลองเลี้ยงออกบางส่วนและเติมน้ำใหม่ลงไป แต่ก็ยังไม่สามารถลดค่าไนไตรท์ในระบบลงได้ ซึ่งค่าไนไตรท์ในน้ำที่สูงอาจเกิดจากระบบกรอง (Biological filtration) ยังไม่สามารถกำจัดของเสียไนโตรเจนออกจากระบบเนื่องจากแบคทีเรียในระบบไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายของเสียไนโตรเจน โดยระหว่างการทดลองเลี้ยงมีการเพิ่มปริมาณของวัสดุกรองเพื่อให้เกิดแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นด้วย

ตารางที่ 5 ค่าคุณภาพน้ำในการทดลองเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ A. *frenatus*

Parameter	Range
Salinity (psu)	29.50-31.00
Temperature (°c)	28.50-31.00
pH	7.66-8.00
Dissolved oxygen (mg/l)	6.58-6.76
Alkalinity (mg $CaCO_3$ /l)	80-140
Ammonia (mg/l)	0-0.25
Nitrite (mg/l)	0-1.00

จากการตรวจวัดค่าไนไตรท์ในน้ำ พบว่าระดับไนไตรท์ที่สูงในระบบกรอง (Biological filtration) เนื่องจากแบคทีเรียในระบบยังไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายของเสียไนโตรเจน และมีค่าความเป็นด่าง มีค่าเป็น 70-80 มิลลิกรัมของ $CaCO_3$ ต่อลิตร ซึ่งค่อนข้างต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมในการเลี้ยง ซึ่งการเพาะเลี้ยงปลาทะเลควรมีระดับความเป็นด่างอยู่ในช่วง 90-180 มิลลิกรัมของ $CaCO_3$ ต่อลิตร (สหภพ ดอกแก้ว และคณะ, 2558) เพื่อให้เกิดความสมดุลในการควบคุมความเป็นกรด-ด่างของน้ำในระบบ เนื่องจากแอมโมเนียที่มีในน้ำสามารถเปลี่ยนรูปได้ตามค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ หากน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง แอมโมเนียส่วนใหญ่ในน้ำจะเปลี่ยนให้อยู่ในรูปแอมโมเนียที่ไม่มีไอออน (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แต่หาก ความเป็นกรด-ด่างใน

น้ำต่ำ แอมโมเนียจะเปลี่ยนให้อยู่ในรูปแอมโมเนียมไอออน (NH^4) ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยกว่า (สุภาวดี โกยดุล, 2557) โดยค่าเหล่านี้จะมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียในระบบกรอง

4.4 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูป

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปพบว่า ค่าปริมาณโปรตีนในอาหาร มีค่าอยู่ระหว่าง 35.29±0.11 ถึง 36.21±0.13 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีนในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยสูตรอาหารที่เสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณโปรตีนเป็น 36.21±0.13 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุด ปริมาณความชื้นในอาหารมีค่าอยู่ระหว่าง 2.92±0.05 ถึง 3.46±0.09 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเถ้ามีค่าอยู่ระหว่าง 14.57±0.10 ถึง 14.93±0.15 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณไขมัน มีค่าอยู่ระหว่าง 11.31±3.77 ถึง 13.33±3.11 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า และปริมาณไขมัน ในสูตรอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ

Compositions	Diet Formulation			
	1 (control)	2 (seaweed 2%)	3 (seaweed 4%)	4 (astaxanthin 0.05%)
Moisture (%)	3.17±0.48	3.21±0.30	3.46±0.09	2.92±0.05
Ash (%)	14.93±0.15	14.75±0.31	14.57±0.10	14.82±0.22
Protein (%)	35.76±0.38 ^{b}	36.21±0.13 ^{c}	35.29±0.11 ^{a}	35.75±0.17 ^{b}
Fat (%)	11.31±3.77	13.33±3.11	11.72±0.06	13.27±1.66

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูป พบว่า สูตรอาหารสำเร็จรูปที่เลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ มีปริมาณโปรตีนของอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 35.76±0.38, 36.21±0.13, 35.29±0.11 และ 35.75±0.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีนที่ต้องการในปลา ซึ่งปลาและสัตว์น้ำต้องการโปรตีนมากกว่าสัตว์บก (ประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร) (ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์, 2557) และพบว่าปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองที่เสริมสาหร่ายมงกุฎหนามมีแนวโน้มการเจริญเติบที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย จึงอาจยังไม่มีความเหมาะสมนำมาใช้ในการเลี้ยงปลาการ์ตูนเพื่อเพิ่มการเติบโตได้

บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การเสริมสาหร่ายมงกุฎหนามในอาหารสำเร็จรูปเพื่อเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ มีผลทำให้ค่าความเข้มสีบนลำตัวของปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณสาหร่ายมงกุฎหนามที่เสริมในอาหาร แต่อาหารสำเร็จรูปเสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม 2% และ 4% ไม่ได้ทำให้ปลาการ์ตูนมะเขือเทศมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมสาหร่ายมงกุฎหนาม

ดังนั้น สูตรอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศที่ผลิตขึ้นอาจยังไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศให้มีการเติบโตที่ดี แต่สามารถนำสาหร่ายมงกุฎหนามมาใช้เป็นแหล่งสารสีในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูนมะเขือเทศ และนำไปพัฒนาการใช้สาหร่ายทะเลเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม (Kaur and Shah, 2017) เพื่อเป็นการลดต้นทุนการเลี้ยงปลาสวยงามได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรใช้สารสีสกัดจากสาหร่ายทะเลในกลุ่มสาหร่ายสีแดงนำมาเสริมในอาหารเลี้ยงปลาการ์ตูน เพื่อให้สีเด่นชัด และผสานกับวัตถุดิบอื่นๆ ได้ดี
2. เตรียมระบบน้ำที่จะใช้เลี้ยงปลาทะเลก่อนนำปลาลงเลี้ยงอย่างน้อยเป็นเวลา 1 เดือน และควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมอยู่เสมอ โดยเฉพาะค่าแอมโมเนีย ไนไตรท์ และค่าความเป็นด่าง
3. ปรับปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงให้เหมาะสมต่อความต้องการของปลา เพื่อลดปริมาณอาหารที่เหลือและช่วยควบคุมไม่ให้คุณภาพน้ำลดต่ำลงจนส่งผลเสียต่อปลา
4. ทำการวัดค่าความเข้มสีบนลำตัวปลาก่อนเริ่มการทดลองเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มสีได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์. 2561. ปฏิบัติการโภชนาการของสัตว์น้ำมีเปลือกและกระดอง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กิจการ ศุภมาตย์, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, ประทีป รุ่งสมบัติ, มะลิ บุญยรัตผลิน และ อธิศักดิ์ เกลี้ยงประดิษฐ์. 2548. ผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ความต้านทานโรค และความเครียดในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). วารสารสงขลานครินทร์ วทท. ปีที่ 27 (ฉบับพิเศษ 1) : 71-82

จิตรา สิมาวัน, นิศาชล ฤาแก้วมา และ โฆษิต ศรีภูธร. 2559. ผลของการใช้ไรน้ำนางฟ้าในอาหารต่อความเข้มของสีผิว ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมและการเจริญเติบโตของปลาทอง. วารสารแก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1: 682-687.

ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์. 2541. ผลของแอสตาแซนทีน (Astaxanthin) ต่อสีของปลานิลแดง (*Tilapia niloticus* Linn.). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ทิพย์วรรณ เชาวลิต. 2553. การใช้สาหร่ายมงกุฎหนาม (*Acanthophora spicifera*) และหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ในการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ธนาภรณ์ จิตตปาลพงศ์. 2557. การสร้างสูตรอาหารสัตว์น้ำและสูตรอาหารสัตว์น้ำเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ธวัช ศรีวีระชัย, สุวรรณา วรสิงห์ และ สุริยะ แพงดี. 2548. ประสิทธิภาพของสาหร่ายมงกุฎหนาม *Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen ในการบำบัดคุณภาพน้ำทะเลและน้ำทิ้งจากโรงเพาะอนุบาลสัตว์น้ำ. บทคัดย่อสัมมนาวิชาการด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจำปี 2548. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง. หน้า 28-29.

นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มนทกานติ ท้ามติ้น, สุพิศ ทองรอด และ สิริพร ลือชัยชัยกุล. 2555. ระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในอาหารต่อการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2555, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง. 18 หน้า.

นงลักษณ์ สำราญราษฎร์, มนทกานติ ท้ามติ้น, ประดิษฐ์ ชนชื่นชอบ. 2556. เมแทบอลิซึมของแคโรทีนอยด์ในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris* Cuvie, 1830) ปลาการ์ตูนทอง *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) ปลาการ์ตูนลายปล้อง *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830) ปลาการ์ตูนแดง *Premnas biaculeatus* (Bloch, 1790) และ ปลาการ์ตูนมะเขือเทศ (*Amphiprion frenatus* Brevoort, 1856). เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2556, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง. 30 หน้า.

นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และ สมถวิล จริตควร. 2562. ผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2562. หน้า 134-148.

พัชรี มงคลวัย, สุกัญญา คำหล้า และ อนุวัต พจนา. 2556. การปรับปรุงสีปลาสอดแดงด้วยสารสกัดเบต้าเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ครั้งที่ 5: 48-53.

พัฒน์ พิชาน. คู่มือเลี้ยงและดูแลปลาทะเลสวยงาม. กรุงเทพฯ: ไทยควอลิตี้บุ๊คส์. 2554.

ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์, สามารถ เดชสถิตย์, อาคม สิงหบุญ, อำไพ ล่องลอย, พิกุล ไชยรัตน์ และสมศักดิ์ จิรวัทโธ. 2547. นวัตกรรมปลาการ์ตูน. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง. 78 หน้า.

ฤทัย โลทะกะ. 2551. ผลของอาหารเสริมแอสต้าแซนทินต่อการเปลี่ยนแปลงสีในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*). โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มนทกานติ ท้ามติ้น. 2551. การประเมินคุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูปและสาหร่ายชนิดต่างๆ จำนวน 4 ชนิด ที่มีต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดตายของหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina*). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาประมง. หน้า 1-9.

มนทกานติ ท้ามติ้น,ชัชวารี ชัยศรี, ประพัฒน์ ก่อสวัสดิ์พัฒน์, จีรรัตน์ เกื้อแก้ว และนภา ไล้ทองคำ . 2559. คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) และการประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). เอกสารวิชาการฉบับที่ 12/2559. กองวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 25 หน้า.

ยุทธนา ทองเลี่ยม. ปลาการ์ตูน: Clownfish A Complete Guide to Care and Collecting. นนทบุรี: สำนักพิมพ์ชบาเงิน จำกัด. 2551.

รรรรรร ใจกล้า. 2560. การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในสาหร่ายสีแดง 3 ชนิด เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในลิปสติก. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรวุฒิ เกิดปราง. 2549. ปลาการ์ตูน (Anemonefish). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ และ มารุจ ลิมปะวัฒนะ. 2553. แอสตาแซนธิน: คุณค่าที่มากกว่าความเป็นสี. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2552 – พฤษภาคม 2553. หน้า 7-11.

สถาบันวิจัยและเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา. 2555. งานวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลในประเทศไทย [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.nicaonline.com/index.php?option [20 มีนาคม 2562]

สมศักดิ์ สามี. 2548. แคโรทีนอยด์: โครงสร้างทางเคมีและกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. ศรีนครินทรวิโรฒเภสัชสาร. 10(1): 58-66.

สมโภชน์ วีระกุล. 2549. สารประกอบให้สีและการเร่งสีปลาสวยงาม. สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 1: กรุงเทพมหานคร. 73 หน้า.

สหภพ ดอกแก้ว และพงศ์เชฏฐ์ พิชิตกุล. 2558. ปลาทะเลสวยงาม คู่มือการเลี้ยงและการดูแลอย่างถูกวิธี. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สามารถ เดชสถิต, ไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ และ บุศรา รัตนประพันธ์.2556.การปรับปรุงคุณภาพปลาการ์ตูนด้วยเทคนิคการเลี้ยงในกระชัง. เอกสารเผยแพร่, กรมประมง

สุภาวดี โกยดุล. 2557. การกำจัดไนโตรเจนในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบไม่ทิ้งของเสียออกจากฟาร์ม. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ 2(1): 66-80

ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี. 2558. สาหร่าย (Algae). กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์. 28 หน้า.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2556. การเพาะและอนุบาลปลาการ์ตูน. 8 หน้า.

เศรษฐศักดิ์ ติวะนันทกร. 2552. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแอสต้าแซนทิน กับสารสีจากเชื้อราโมแนสคัส (*Monascus kaoliang*) ในอาหาร เพื่อการเร่งสีในปลาการ์ตูนส้มขาว (*Amphiprion ocellaris*). โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล, มนทกานติ ท้ามติ้น และ สิริพร ลือชัย ชัยกุล. 2551 การประเมินคุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูป และสาหร่ายชนิดต่างๆ จำนวน 4 ชนิด ที่มีต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดตายของหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis asinina* Linnaeus, 1758). เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2551. ราชการบริหารส่วนกลาง, กรมประมง. 17 หน้า.

อรพินธ์ จินตสถาพร, บัณฑิต ยวงสร้อย, Gary Robert Stoner, ประเสริฐ สมิทธิวงศ์ และ Jacques Gabaudan. 2548. ระดับความเหมาะสมของคาโรทีนอยด์รวมต่อความเข้มสีปลาคาร์ฟ (*Cyprinus carpio*). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 : สาขาประมง สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. กรุงเพทฯ, 368-378.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Animal feed. In: Horwitz, W. (Ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. AOAC International, Maryland. p. 1-48.

Barthet, V.J., Chornick, T. and Daun, J.K., 2002. Comparison of methods to measure the oil contents in oilseeds. Journal of Oleo Science, 51(9): 589-597.

Chien, Y., C. Pan and B. Hunter. 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin, Aquaculture 216: 177-191.

Fox, D. L. 1957. The pigment of fishes. In: Brown. M.E. (eds). Physiology of Fishes. Behavior. Academic Press Inc., New York. pp. 367-400.

Fox, H. M. and G. Vevers. 1960. The Nature of Animal Colors. Sidgwick and Jackson Limited, London. 270 pp.

Golandaj, A., S. Shyama, K. Dinesh, V.R. Sreenath and S. Sagarikaet. 2014. Colour enhancement potential of selected local flower in Sword tail, *Xiphophorus helleri* through dietary incorporation. Res. J. Recent. Sci. 4: 37-43.

Hekimoğlu M.A., K. Fırat, Ş. Saka, C. Süzer, A. Kop and Y. Durmaz. 2017. Effect of Supplemented Algal Carotenoid Diets on Skin Color of Tomato Clownfish, *Amphiprion frenatus.* Pakistan J. Zool., vol. 49(2), pp 663-668. http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.2.663.668.

Hilditch, C.M, A.J. Smith, P. Balding and L.J. Rogers. 1991. C-phycocyanin from the cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. Phytochem 30: 3515-3517.

Kilar, J. A., McLachlan, J. 1986. Ecological studies of the alga, *Acanthophora spicifera* (Vahl) Boerg. (Ceramiales: Rhodophyta): vegetative fragmentation. Journal of experimental marine biology and ecology. 104(1-3), 1-21.

Latscha, T. 1991. Carotenoids in aquatic animal nutrition. Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Bangkok, Thailand, pp. 68-78.

Meyers, P. S. 1994. Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids. Pure & Appl. Chem. 66(5): 1069-1076.

Miki, W. 1991. Biological Functions and Activities of Animal Carotenoids. Pure and Applied Chemistry. 63(1): 141-146.

Mukherjee P., C. Nandi, N. Khatoon and R. Pal. 2015. Mixed algal diet for skin colour enhancement of ornamental fishes. J. Algal Biomass Utln. 6 (4): 35 – 46.

Nanthini devi K., T.T. Ajith Kumar and T. Balasubramanian. 2016. Pigment Deficiency Correction in Captive Clown Fish, *Amphiprion ocellaris* Using Different Carotenoid Sources. Journal of Fisheries Sciences.com. DOI: 10.13140/RG.2.1.5111.8164.

Torrissen, O. J. 1990. Biological activities of carotenoids in fishes, in the current status of fish nutrition in aquaculture, M. Takeda and T. Watanabe, ed., Tokyo University of Fisheries, Tokyo, Japan. pp 387-399.

Yeum, K. J. and R. M. Russell. 2000. Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annual Review of Nutrition, 22: 483-504.