รายงานการวิจัย

การพัฒนาการเลี้ยงแบบอินทรีย์และประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพเนื้อ ของปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell) ของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina* C.L. Willdenow)

Organic *Chara corallina* Production and Improvement of Flesh Quality and Growth of African Sharp Tooth Catfish Fed on Food Containing Dried *Chara corallina* C.L. Willdenow

ผศ.ดร.วรรณิณี จันทร์แก้ว Wanninee Chankaew
ผศ.วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul
ดร.มณี ศรีชะนันท์ Manee Srichanan
ผศ.สุริยะ จันทร์แก้ว Suriya Chankaew

คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริม
วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.)

ประจำปี ๒๕๖๓

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ววน. ๒๕๖๓ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๓ ขอขอบพระคุณ ดร.ณัฏฐา เสนีวาส จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน สำหรับการจำแนกชนิดของสาหร่ายก้ามกุ้งทำให้งานวิจัยฉบับนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมทั้งนักศึกษาหลักสูตรวิชาประมง สาขาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช สำหรับการเก็บตัวอย่างสาหร่ายในภาคสนามและการช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างปลาทดลอง

วรรณิณี จันทร์แก้ว
วัฒนา วัฒนกุล
มณี ศรีชะนันท์
สุริยะ จันทร์แก้ว

กุมภาพันธ์ ๒๕๖๔

การพัฒนาการเลี้ยงแบบอินทรีย์และประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพเนื้อของปลาดุกรัสเซีย(*Clarias gariepinus* Burchell) ของสาหร่ายก้ามกุ้ง(*Chara corallina* C.L. Willdenow)

วรรณิณี จันทร์แก้ว[1] วัฒนา วัฒนกุล[2] มณี ศรีชะนันท์[1] สุริยะ จันทร์แก้ว[3]

บทคัดย่อ

สาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*) เป็นชื่อเรียกพื้นถิ่นของสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายไฟ ซึ่งสาหร่ายชนิดนี้มีการแพร่กระจายในหลายพื้นที่ของจังหวัดกระบี่ สาหร่ายก้ามกุ้งเป็นสาหร่ายกินได้แต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการเลี้ยง ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปุ๋ยอินทรีย์ในการเลี้ยงสาหร่าย(การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ) ต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของสาหร่ายที่เลี้ยง ได้ทำการทดลองเลี้ยงในกระบะไฟเบอร์กลาส บ่อปูนซีเมนต์ (100 และ 800 ลิตร) โดยใช้สาหร่าย 200 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ผลการศึกษาพบว่า น้ำหนักเปียก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน(ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ของสาหร่ายมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) การเลี้ยงทุกรูปแบบทำให้ปริมาณรงควัตถุ (คลอโรฟิลล์ เอ, แคโรทีนอยด์รวม) ปริมาณโปรตีน และค่าความสว่างของสาหร่ายมากกว่าสาหร่ายในธรรมชาติ

ผลของการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งผสมในอาหารปลาต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาและการป้องกันออกซิเดชั่นในปลาดุกรัสเซีย โดยผสมสาหร่ายบดแห้งที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 2.0%, 4.0%, 6.0% และ 8.0% ในอาหารเพื่อเลี้ยงปลาเป็นเวลา 60 วัน ผลการศึกษาพบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการ เจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)กับชุดควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2.0-8.0% ไม่มีผลให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาสูงขึ้น ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาพบว่าสูตรอาหารที่ใช้สาหร่าย 8.0 % มีค่าสูงที่สุด การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียในการเสริมที่ระดับ 4 และ 8% เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน สามารถลดระดับการเกิด lipid peroxidation ในตับของปลาได้ ในขณะที่การเสริมที่ระดับ 6 และ 8% ส่งผลเพิ่มปริมาณกลูธาไทโอนได้ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีศักยภาพในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้ จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลานิลได้ สาหร่ายก้ามกุ้งจึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

คำสำคัญ: สาหร่ายน้ำจืด การเลี้ยง ปลาดุกรัสเซีย การป้องกันภาวะออกซิเดชั่น

---

[1]หลักสูตรวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรประมง คณะเกษตรศาสตร์ มทร.ศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

[2]สาขาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและอุตสาหกรรมประมง คณะวิทยาศาสตร์การประมง มทร.ศรีวิชัย จ.ตรัง

[3]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Organic *Chara corallina* Production and Improvement of Flesh Quality and Growth of African Sharp Tooth Catfish Fed on Food Containing Dried *Chara corallina* C.L. Willdenow

Abstracts

KamKung (in local name) or brittle wort (Charophytes) was common name of *Chara corallina*. It commonly occurred in several habitats of Krabi province. It was edible alga in Krabi province but no report for its cultivation. Therefore the aim of this study to measure the organic fertilizer on growth performance and quality of this species was carried out in many types (asexual vegetative reproduction). Cultivating density of this alga was 200 mg/L in 200 liters fiber plastic, 100, 800 liters in concrete pond. After cultivation, the alga showed significant on wet weight, dry weight, average daily growth, specific growth rate. The pigment (chlorophyll *a* and total carotenoid), protein content in algal culture were higher than in natural algae in all method. The algal culture could increase the green color of thallus than the natural algae

A feeding trail was conducted to study the effects of diets supplemented with *C. corallina*, on growth performance and chemical composition of African Sharp Tooth Catfish. 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. Mean daily growth and specific growth rate was not significantly different from the control diet. Protein content in catfish fed with all diet containing was not significantly higher than the control. The carotenoid content in flesh was highest in the formulas contain 8.0 % *C. corallina.* The fish fed with alga supplemented feed (4.0, 8.0 %) had decreased level of lipid peroxidation in liver when evaluated at 2th months. The groups that received alga supplement (6.0% and 8.0 %) showed significant changes in the level of glutathione in liver. This findings conclude that *C. corallina* led to reduced oxidative stress in catfish. Therefore, this alga has a potential to be used as a feed supplement in aquaculture.

Keywords: freshwater algae, cultivation, African Sharp Tooth Catfish, oxidative defense

[1] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya.

[2]Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Techonology Srivijaya,

[3]Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		ก
บทคัดย่อ		ข
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		จ
สารบัญภาพ		**ช**
บทที่ 1	บทนำ	
	1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
	1.2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
	1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	16
	1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย	16
	1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	16
บทที่ 2	วิธีการดำเนินการวิจัย	
	2.1 การเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งในโรงเรือน	17
	2.2 การศึกษาแนวทางเพิ่มสีเนื้อปลาและคุณภาพเนื้อของปลาดุกรัสเซียด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง	25
บทที่ 3	ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย	
	3.1 การศึกษาภูมิปัญญาการเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่จังหวัดกระบี่	32
	3.2 การพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งอินทรีย์ในโรงเรือน	32
	3.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายก้ามกุ้งอินทรีย์ในโรงเรือน	42
	3.4 การประยุกต์ใช้เป็นสาหร่ายก้ามกุ้งเพื่อพัฒนาคุณภาพและสีของปลาดุกรัสเซีย	46
บทที่ 4	สรุปผลและข้อเสนอแนะ	55
	บรรณานุกรม	56
	ภาคผนวก	57

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ใช้สำหรับผลิตอาหารของปลาดุกรัสเซีย.....	22
2	องค์ประกอบอาหารสำหรับการผลิตอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย (กรัม/100 กรัมอาหาร).....	22
3	ความยาว น้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้ง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน.....	28
4	ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในกระบะไฟเบอร์.....	29
5	น้ำหนักเปียก อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์.....	30
6	ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในบ่อปูนซีเมนต์.....	31
7	น้ำหนักเปียก อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในท่อปูนซีเมนต์.....	32
8	ค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในท่อซีเมนต์.....	32
9	อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในตะกร้าที่แตกต่างกัน.....	33
10	ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในตะกร้า.....	33
11	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงด้วยระบบอินทรีย์.....	42
12	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวมและแทนนินรวมของสารสกัดหยาบสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยง.....	44
13	ค่า IC_{50} ในการจับอนุมูลอิสระทั้งสามวิธีของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้ง.....	45
14	ค่า IC_{50} ของการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินของสารสกัดสาหร่ายก้ามกุ้ง	46
15	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (ร้อยละ).....	46
16	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, อัตราการรอดตาย, อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า.....	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

17 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม และสีของเนื้อปลาของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหาร ผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกัน..... 50

18 ปริมาณเม็ดเลือดแดง, เม็ดเลือดขาว, ฮีโมโกบิน, ความเข้มข้นของเลือดของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า..... 50

19 ดัชนีตับและดัชนีไขมันของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับ แตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า..... 51

20 คุณภาพซากของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า..... 52

21 ปริมาณกลูตาไทโอน (GSH) ในปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับแตกต่างกัน..... 54

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สัณฐานวิทยาของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*).....	3
2	รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้ง (ก ข)และการเก็บสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติ (ค)ในจังหวัดกระบี่.....	32
3	สีของแทลลัสสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติ (ก) และสาหร่ายที่เลี้ยงในโรงเรือน (ข-ง) และการวัดสีของสาหร่าย(จ)	40
4	ระดับการเกิด lipid peroxidation ของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับแตกต่างกัน.....	53

ภาพผนวกที่

1	การพักสาหร่ายเพื่อปรับสภาพ การเตรียมพันธุ์สาหร่ายสำหรับเลี้ยง การทดลองเลี้ยงในกระบะไฟเบอร์.....	63
2	การเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งในบ่อปูนซีเมนต์.....	64
3	การทดลองเลี้ยงสาหร่ายในตะกร้า.....	64
4	การตรวจสอบการเจริญเติบโตของสาหร่าย.....	65
5	การตรวจสอบปริมาณรงควัตถุ สีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยง.....	65
6	การเตรียมสาหร่ายเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารปลาดุกรัสเซีย.....	66
7	วัตถุดิบอาหารในการผลิตอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย.....	67
8	การผลิตอาหารทดลองชนิดเม็ดลอยน้ำ.....	68
9	ลักษณะของอาหารเม็ดลอยน้ำ 5 ชุดการทดลอง.....	68
10	การเตรียมการทดลองและการรวบรวมข้อมูล.....	69
11	การศึกษาองค์ประกอบของเลือด ดัชนีตับ และดัชนีไขมัน.....	70
12	การวัดสีและศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา.....	71
13	การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของซากตัวอย่างปลา.....	72
14	ปลาดุกรัสเซียที่ได้จากการทดลอง.....	73
15	การศึกษาภาวะป้องกันเครียดออกซิเดชั่นในตับของปลาดุกรัสเซีย.....	75

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายน้ำจืดกินได้มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ มากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะนำมาเป็นอาหารของคนและเพื่อการเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อให้มีการเจริญเติบโตดีรวมถึงส่งเสริมสุขภาพสัตว์น้ำ ได้มีการศึกษาและใช้กันเป็นเวลานาน เช่น สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina*) สาหร่ายเตา (*Spirogyra*) และสาหร่ายไก (*Cladophora*) พบว่ามีประสิทธิภาพในการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดกินได้พื้นถิ่นในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยแบบอินทรีย์ จากการศึกษาเบื้องต้นมีข้อมูลที่น่าสนใจว่า ชุมชนจังหวัดกระบี่ มีการบริโภคสาหร่ายน้ำจืดเหมือนผักพื้นบ้านทั่วไปโดยบริโภคเฉพาะส่วนยอดของสาหร่ายก้ามกุ้ง จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสาหร่ายก้ามกุ้ง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนที่เทียบเท่ากับปลาน้ำจืด มีค่า 19.55$\pm$0.33 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.408$\pm$ $mg.g^{-1}dw$ ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายไก (*Cladophora*) สำหรับการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งในพื้นที่จังหวัดกระบี่เป็นการเลี้ยงแบบธรรมชาติที่ไม่มีการเติมปุ๋ยเพื่อนำไปขายเป็นอาชีพเสริม นอกจากนี้การขายส่วนใหญ่จะเป็นการเก็บเกี่ยวจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันประสบปัญหาปริมาณของสาหร่ายลดน้อยลงมากด้วยสาเหตุหลายประการและมีไม่ตลอดปี ดังนั้นการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในโรงเรือนเพื่อให้มีปริมาณสาหร่ายตลอดปี รวมถึงการเลี้ยงที่ได้สาหร่ายที่ปลอดภัยต่อการบริโภคที่เป็นระบบอินทรีย์ อย่างไรก็ตามการบริโภคสาหร่ายก้ามกุ้งเฉพาะส่วนยอดอ่อนเท่านั้น ดังนั้นส่วนที่เหลือ รวมถึงแทลลัสที่แก่ซึ่งมีสีดำและบางแหล่งน้ำที่สาหร่ายมีลักษณะทางกายภาพที่ไม่นิยมมาบริโภค ก็สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบอาหารปลาน้ำจืดได้

สำหรับปลาดุกรัสเซียในปัจจุบัน ถือว่าเป็นปลาน้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง เป็นที่ต้องการของตลาด อย่างไรก็ตาม ยังมีข้อด้อยด้านสีเนื้อของปลาที่ยังมีสีซีด ดังนั้น การพัฒนาการเลี้ยงเพื่อเพิ่มคุณภาพของเนื้อปลา โดยเฉพาะสีของเนื้อปลาที่มีสีเข้มมากขึ้นและมีอัตราการเปลาโตเร็วขึ้น ลดสภาวะความเครียดได้ ดังนั้นการนำสาหร่ายก้ามกุ้งที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีเช่นโปรตีนสูง มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูง มาเป็นวัตถุดิบในอาหารในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะเป็นอีกแนวทางเพื่อส่งเสริมสุขภาพเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซียให้ดีขึ้นและลดต้นทุนในการเลี้ยงปลาสามารถขยายผลให้กับเกษตรกรต่อไป

1.2 การทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายก้ามกุ้ง

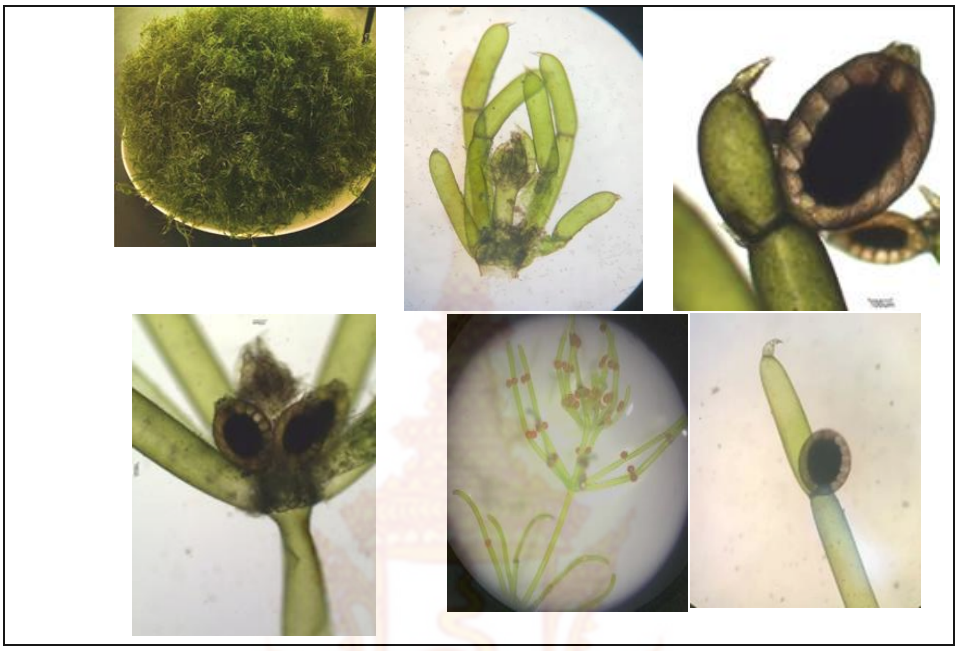
สำหรับสาหร่ายก้ามกุ้ง ยังไม่มีเอกสารที่รายงานเป็นเอกสารทางวิชาการใดๆ สาหร่ายก้ามกุ้งเป็นสาหร่ายที่จัดอยู่ในสาหร่ายไฟ ซึ่งเป็นกลุ่มสาหร่ายสีเขียวขนาดใหญ่มีโครงสร้างที่แตกต่างและซับซ้อนกว่าสาหร่ายสีเขียวอื่นๆ สามารถเจริญได้ในน้ำจืดและน้ำกร่อย (ยุวดี,2556) มีชื่อเรียกทั่วไปว่า charophytes หรือ brittleworts ซึ่งแปลว่าเปราะหรือหักง่าย บางครั้งเรียก water-horsetail เนื่องจากมีลักษณะคล้ายสนหางม้าที่มีการแตกแขนงรอบข้อชัดเจน ชื่อสามัญในประเทศออสเตรเลียมีชื่อว่า musk grass บางชนิดมีกลิ่นคล้ายกระเทียมจึงเรียกว่า stale garlic และบางครั้งก็มีกลิ่นโคลน คนไทยนิยมเรียกว่า stonewort เนื่องมาจากหากอยู่ในที่แจ้งจะมีหินปูนมาพอกบริเวณผิวนอกของแทลลัส ปัจจุบันมีเพียง 1 วงศ์หรือ Family คือ วงศ์ Characeae ทั่วโลกมีจำนวนสมาชิกรวมกันมีมากว่า 300 สปีชีส์ ส่วนใหญ่อยู่ในน้ำจืด (ยุวดี, 2549)

สาหร่ายในกลุ่มไฟมีรงควัตถุและอาหารสะสมตลอดจนคลอโรพลาสต์เช่นเดียวกับสาหร่ายสีเขียวคือ มีคลอโรฟิลล์เอและบี มีแคโรทีนอยด์ซึ่งประกอบด้วย แคโรทีนและแซนโธฟิลล์อาหารสะสมจะเก็บไว้ในรูปแป้งชนิดต่างๆ แทลลัสของสาหร่ายชนิดนี้ลู่ไปตามน้ำอาจจะสั้นหรืออาจจะยาวกว่า 1 เมตร ปล้องประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียวเรียกว่า เซลล์กลาง (central cell) ที่ยืดยาวออก ในสกุล *Chara* มีแขนงย่อยแตกออกจากแกนกลางเป็นวงโดยรอบ ลักษณะคล้ายใบรองรับแขนงที่แตกออกมา โดยอาจจะมีแถวเดียวหรือ 2 แถว บางแถวสั้น บางแถวยาว แล้วแต่สปีชีส์ (ยุวดี, 2549)

สำหรับสาหร่ายก้ามกุ้งเป็นชื่อเรียกท้องถิ่นในชุมชนที่บริโภคสาหร่ายชนิดนี้ในอำเภอต่างๆ ของจังหวัดกระบี่เช่น อำเภอเหนือคลอง คลองท่อมและลำทับ ซึ่งการบริโภคสดส่วนยอดกับน้ำพริก รวมทั้งมีการซื้อขายในตลาดท้องถิ่น ซึ่งได้มาจากการไปเก็บเกี่ยวในแหล่งน้ำธรรมชาติที่เป็นแหล่งน้ำนิ่งทั่วไป มีบางครัวเรือนที่นำมาเลี้ยงเพื่อบริโภคในครัวเรือนเหมือนผักพื้นบ้านชนิดหนึ่ง (ภาพที่ 1) จากการศึกษาเมื่อนำมาจำแนกตามลักษณะทางชีววิทยาพบว่า จัดอยู่ในวงศ์ *Chara* มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Chara corallina* C.L. Willdenow (John *et al*., 2002) โดยทั่วไปสาหร่ายชนิดนี้มีแทลลัสมีความยาว 5-50 เซนติเมตร แทลลัสแตกเปราะหักง่าย มีสีเขียวอ่อนและสีเขียวแก่ โอโอสปอร์มีสีดำสันบนโอโอสปอร์มีจำนวน 5 สัน แอนเทอริเดียมมีลักษณะทรงกลม มีสีส้ม (ภาพที่ 1)

สาหร่ายชนิดนี้มีความผันแปรทางสัณฐานมาก ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ในที่ร่มแทลลัสมีการยืดยาวมากกว่าที่มีแสง การกระจายของสาหร่ายก้ามกุ้งนี้มีการพบในจังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยพบได้ในบ่อเลี้ยงพรรณไม้น้ำ (อัฏฐพร, 2558) แต่ยงยุทธ (2520) รายงานว่าพบสาหร่ายชนิดนี้ในจังหวัดอุบลราชธานี สกลนคร ภูเก็ตและกรุงเทพมหานคร และวุฒิพงศ์ (2547) พบในจังหวัดเลย

อุดรธานี นครพนม กาฬสินธุ์ นครพนม กาฬสินธุ์ ชัยภูมิ ขอนแก่น มหาสารคาม ร้อยเอ็ด ยโสธร อำนาจเจริญ สุรินทร์ ศรีษะเกษ และอุบลราชธานี อ้างโดยอัฏฐพร(2558)



ภาพที่ 1 สัณฐานวิทยาของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*)

ความหลากหลายของสาหร่ายไฟ มีการศึกษากันไม่มาก ทั้งนี้อัฏฐพร (2558) ได้สำรวจในพื้นที่ภาคกลาง ครอบคลุมพื้นที่ 15 จังหวัด เก็บตัวอย่างตั้งแต่ปีพ.ศ. 2556-2558 พบสาหร่ายไฟจำนวน 2 สกุล จำนวน 21 สปีชีส์ สำหรับระบบนิเวศที่สาหร่ายก้ามกุ้ง(*Chara corallina*) เจริญอยู่นั้น อัฏฐพร (2558) รายงานว่า แหล่งน้ำที่พบสาหร่ายก้ามกุ้งในพื้นที่กรุงเทพมหานคร มีค่าอุณหภูมิของน้ำเฉลี่ย 36.4 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง มีค่า 7.70 ค่าความนำไฟฟ้า 390.8 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร , ค่าของแข็งละลายน้ำมีค่า 358.3 ปริมาณเกลือ 196.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะดินที่สาหร่ายเจริญ เป็นดินเหนียว

1.2.2 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพในสาหร่ายไฟ

การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพในสาหร่ายไฟ *Chara contraria* A. Branun ex Kützing ประเทศปากีสถาน มีการศึกษาตรวจพบ สารกลุ่มสเตอรอลและเทอปีน กลุ่ม β-sitosterol นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเมทานอล สาหร่ายไฟนี้มีความสามารถในการเจริญเชื้อราได้ 6 ชนิด ได้แก่ *Curvularia lunata*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoclonita solani*, *Sclerotium rolfsii* และ *Trichoderma harziannum* (Ghazala and Shameel, 2005)

Ghazala et al., (2004) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายไฟสองชนิดได้แก่ *Chara contraria* A. Branun ex Kützing และ *Nitella flexilis* C.A.Agardh ซึ่งเก็บจากทะเลสาบ Konjhar และ Haleji ของประเทศปากีสถาน พบว่าสารสกัดจากเมทานอลจากสาหร่ายทั้งสองชนิดให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียค่อนข้างน้อยกล่าวคือต่อต้านแบคทีเรียได้ 3 ชนิดจากแบคทีเรียทั้งหมด 10 ชนิด ส่วนการต่อต้านการเจริญเชื้อรานั้นมีสูงคือสามารถยับยั้งจากเจริญของเชื้อรา 6 ชนิด จากเชื้อราทั้งหมด 10 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายชนิด *Chara contraria* ชนิดเดียวที่มีฤทธิ์ต่อต้านเนื้องอก (antitumor activity) ได้ร้อยละ 31

Cai *et al*., (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสาหร่ายไฟ ชนิด *Nitellopsis obtuse* และ *Chara vulgaris* ได้นำสารสกัดหยาบที่ใช้ตัวทำละลาย 8 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซีโตน คลอโรฟอร์ม เอทิล อะซีเตต บิวทานอล เบนซีนและปีโตรเลียม ตามลำดับ พบว่าสารสกัดเอทานอลของ *Nitellopsis obtuse* สาหร่ายสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) และ *Bacillus subtilis* (ATCC6633) ได้ดีที่สุด

Khaliq-uz-Zaman *et al*., (1998) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *C. corallina* var. *wallichii* พบว่าสารสกัดเมทานอลของสาหร่ายชนิดนี้ประกอบไปด้วยกรดไขมัน 23 ชนิด โดยส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (63.5%) และกรดไขมันอิ่มตัว 36.5% พบ sterol จำนวน 4 ชนิด โดยส่วนใหญ่คือ β-sitosterol (76.8%) นอกจากนั้นประมาณ 6.4-8.7% คือ cholesterol, clerosterol และ stigmasterol เมื่อนำสารสกัดจากเมทานอล สารสกัดจากเอทานอล และ sterol ที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhiae* และ *Streptococcus pyrogenes* และสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Curvularia lunata* และ *Trichophyton mentagrophytes*

1.2.3 การเลี้ยงสาหร่ายในโรงเรือน

1.2.3.1 การเลี้ยงสาหร่ายทะเล

สาหร่ายเศรษฐกิจที่มีการเลี้ยงในโรงเรือนเชิงพาณิชย์ส่วนใหญ่จะเป็นสาหร่ายทะเล ซึ่ง มัณฑนา (2559) ได้รายงานการเลี้ยงทะเลของสาหร่ายสกุล *Caulerpa* ได้แก่ สาหร่ายขนนกและสาหร่ายพวงองุ่น ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ การจัดการเลี้ยงมีการแบ่งพื้นที่เป็นเก็บน้ำทะเล บ่อพักสาหร่าย และบ่อเลี้ยง วัสดุที่นำมาเลี้ยงสาหร่ายได้พัฒนามาหลายแบบ ได้แก่ ตะกร้านำมาลอยน้ำ ตาข่ายนำมาห่อสาหร่ายเป็นถุง และทรายที่นำมาใส่ตะกร้าแล้ววางที่พื้นก้นบ่อ ผลที่ได้การเลี้ยงพบว่าแบบตะกร้าลอยน้ำมีการเจริญเติบโตดีมาก สำหรับแบบใส่ถุงสาหร่ายได้ผลการเจริญเติบโตที่ไม่ดี ส่วนแบบปลูกบนทรายในตะกร้าจมน้ำ มีการเจริญเติบโตดีเช่นเดียวกับแบบตะกร้าลอยน้ำไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเลี้ยงด้วยตะกร้าลอยน้ำมีความสะดวก และสะอาดที่สุด การเตรียมบ่อเพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่าย เป็นบ่อที่มีขนาด 3x5x0.8 เมตร จำนวน 10 บ่อ แบ่งเป็นบ่อเลี้ยง 9 บ่อ และบ่อบำบัดน้ำ 1 บ่อ มีการวางระบบอากาศและวางระบบน้ำเป็นระบบน้ำหมุนเวียน โดย

ปล่อยน้ำเข้าสู่บ่อเลี้ยงโดยใช้สปริงเกอร์ น้ำที่ล้นออก จะกลับมาที่บ่อสำหรับกรองน้ำ การเพาะขยายพันธุ์สาหร่ายโดยการตัดเป็นท่อนๆ เลี้ยงในตะกร้าลอยน้ำ เก็บผลผลิตร้อยละ 50 ของปริมาณในตะกร้า เดือนละ 1 ครั้ง หากปล่อยเลี้ยงไว้มากกว่า 1 เดือนสาหร่ายจะตายหมด โดยถ้าหากยังไม่เก็บเกี่ยวออกหรือต้องการเก็บไว้เป็นแหล่งต้นพันธุ์ ควรตัดให้เป็นท่อนๆ เอาไว้เพื่อกระตุ้นการเจริญต่อไป

สำหรับผลผลิตของสาหร่ายขนนกที่เลี้ยงในตะกร้าในบ่อซีเมนต์ของชุมชนในจังหวัดกระบี่ในปี 2551 พบว่าให้ผลผลิตสาหร่าย 5.2 กิโลกรัม/ตารางเมตร/เดือน หากใช้พื้นที่ 50 ตารางเมตร จะสามารถเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนนกคิดเป็นมูลค่าประมาณ 12,500-15,000 บาท ซึ่งหักค่าใช้จ่าแล้วจะมีรายได้ไม่ต่ำกว่า 10,000-12,000 บาทต่อเดือน (ผู้ดูแลระบบเว็บไซ PKSU,2556)

สำหรับการเลี้ยงสาหร่ายด้วยตะกร้าลอยน้ำในประเทศไทยมีรายงาน ซึ่งสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยวิธีนี้จะเป็นสาหร่ายทะเลทะเล เช่น สาหร่ายขนนก และสาหร่ายพวงองุ่น ดังได้กล่าวข้างต้น นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida*) ซึ่งมีการศึกษา การเลี้ยงในตะกร้าพลาสติกในบ่อพ่อแม่พันธุ์ปลากะรังจุดฟ้าเปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์หอยหวาย และเลี้ยงร่วมกับปลากะพงขาว โดย สุวรรณาและคณะ(มปป) (นิรนาม,www.coastalaqua.com) ผลการศึกษาพบว่าสาหร่ายโตดีในช่วงระยะเวลาเลี้ยง 3 สัปดาห์ ส่วนการเลี้ยงในบ่อพ่อแม่พันธุ์หอยหวานที่ระยะเวลาเลี้ยง 21 วัน มีการเจริญเติบโตสูงสุดโดยสามารถใช้รับประทานสด(บรรยายโดยมัณฑนา นวลเจริญ) สำหรับการเลี้ยงสาหร่ายผักกาดทะเล โดยวิธีเลี้ยงในตะกร้าลอยน้ำที่มีปล่อยให้น้ำทะเลไหลผ่านตลอดเวลา

1.2.3.2 การเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่

ในต่างประเทศยังไม่มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากมีการบริโภคสาหร่ายน้ำจืดน้อย สำหรับในประเทศไทยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดที่มีการเลี้ยงกันพบมากในพื้นที่ภาคเหนือได้แก่สาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) (ยุวดีและคณะ, 2558) ซึ่งเป็นการเลี้ยงของเกษตรกรในพื้นที่ซึ่งใช้น้ำธรรมชาติในการเลี้ยง และมีการนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการในภาชนะดินเผา พบว่าสาหร่ายเตามีการเจริญเพิ่มขึ้นร้อยละ 24.67 ± 1.44 และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นร้อยละ 56.18 ส่วนการเพาะเลี้ยงในภาคสนามในบ่อดินความจุ 1,400 ลิตร พบว่าสาหร่ายเตามีการเจริญเพิ่มขึ้นร้อยละ 53.90 ± 10.51 นอกจากนี้ ศิริเพ็ญและคณะ (2553) ได้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสกุล *Cladophora* (สาหร่ายไก) เพื่อเป็นอาหารปลาบึก โดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไกแบบมหมวลในบ่อซีเมนต์โดยใช้น้ำทิ้งจากโรงอาหาร พบว่าปัจจัยทางกายภาพ-เคมี ระหว่างการเพาะเลี้ยงคืออุณหภูมิน้ำ 26-32 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 6,500-43,200 ลักซ์ ความเร็วกระแสน้ำ 0.20 เมตร/วินาที ส่วนปริมาณสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสระหว่างการเพาะเลี้ยงมีช่วงความเข้มข้นที่ค่อนข้างกว้างคือปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนเตรท และออร์โธฟอสเฟต มีค่า < 0.001-1.069, < 0.001-1.580, < 0.001-14.780 มก.ต่อ ล. สาหร่ายไกมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดหลังการเพาะเลี้ยง1 ถึง 2 สัปดาห์ คือ 1,247 กรัม/ตร.ม./สัปดาห์ หลังจากนั้นอัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเนื่องจากสาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่จนแน่นบ่อ ทำให้มีการบดบังแสงกันเองจนสาหร่ายบางส่วนตาย

1.2.3.3 การเลี้ยงสาหร่ายแบบอินทรีย์

การเลี้ยงสาหร่ายแบบอินทรีย์คือการเลี้ยงซึ่งที่ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี ยังมีการศึกษากันไม่มากซึ่งคาดว่าในอนาคตเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องศึกษา ที่มาผ่านมีการศึกษาโดย อรกัญญาและอำไพ (2553) ได้ทำการเลี้ยงสาหร่ายเขากวาง *Caulerppa racemosa* (Forsskal)J. Agardh var. corynephora (Montagne) ด้วยหมักชีวภาพสาหร่ายสีเขียว *Chaetomorpha crassa* เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa* ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเขากวาง โดยทำการเลี้ยงในโรงเพาะฟักภายใต้แสงธรรมชาติ เป็นระยะเวลา 30 วัน ผลการศึกษาพบว่า สาหร่ายเขากวางที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *C.crassa* ในทุกความเข้มข้นมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนั้นสาหร่าย *C.crassa* จากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำนำมาหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน สามารถนำมาเลี้ยงสาหร่ายเขากวางเพื่อทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ โดยอัตราส่วนการเจือจางน้ำหมักชีวภาพ *C.crassa* ต่อน้ำทะเลที่ระดับ 1:2,500 เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเขากวาง

1.2.4 อนุมูลอิสระ (free redical)

อนุมูลอิสระคือ สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา

นอกจากนี้อนุมูลอิสระจะเกิดจากภายในสิ่งมีชีวิตแล้ว ยังสามารถเกิดจากภายนอกได้อีกด้วย ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัส หรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูงการนำน้ำมันที่ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆ นำกลับมาใช้อีก (บุหรัน, 2556)

1.2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

บุหรัน (2556) รายงานว่า สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นแอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบ

ที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ในภาวะปกติร่างกายของจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไป วิตามิน, เบต้า-แคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล

การแบ่งประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่ม **(**มนสรวงต์, 2557**)** ดังนี้

1.สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase: SOD) เอนไซม์คาตาเลส (catalase: CAT) เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase :GPX) เอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเตส (glutathione reductase: GR)

2.สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น กรดยูริค(uric acid) วิตามินอี (tocopherols) วิตามินซี (ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และ สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds)

1.2.6 สารพฤกษเคมี

สารพฤกษเคมี หมายถึง สารเคมีที่พบในพืชมีจำนวนมากมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นกลุ่มสารที่ทำให้พืช ผัก ผลไม้ มีสี กลิ่น หรือรสชาติที่แตกต่างกัน มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ และต้านมะเร็ง (Saxena *et al*., 2013) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือสารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites)

สารปฐมภูมิ เป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงทั่วไป และแบคทีเรียบางชนิด เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด สารปฐมภูมิ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรท (carbohydrate) โปรตีน (protein) ไขมัน (lipid) กรดอะมิโน (amino acid) และเอนไซม์ (enzymes)

สารทุติยภูมิ เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เป็นสารประกอบที่เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) สารเหล่านี้มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน

สารทุติยภูมิที่พบในพืช เช่น แอลคาลอยด์ (alkaloids) ไกลโคไซด์ (glycosides) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนอลิก (phenolics) ซาโปนิน (saponins) แทนนิน (tannins) เทอร์พีน (terpenes) แอนทราควิโนน (antraquinones) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) สเตียรอยด์ (steroids) แต่สารทุติยภูมิที่ได้นำมาศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบในพืช (อนุชิตา มุ่งงาม, 2555) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่เป็นทั้งสารอิเล็กตรอนและเป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระจึงสามารถกำจัดอนุมูลที่มีออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ (ROS) จึงทำให้เป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือแอนติออกซิแดนท์ที่สำคัญ (Rice - Evans et al., 1996) ตัวอย่างสารทุติยภูมิที่สำคัญ ได้แก่

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ ทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระที่สำคัญ โดยเฉพาะอนุมูลเปอร์ออกซิล จึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน propagation ของปฏิกิริยาลูกโซ่และสามารถทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ทำหน้าที่ดักจับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ไว้ในโมเลกุล สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นทั้งสารอิเล็กตรอนและเป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระจึงสามารถกำจัดอนุมูลที่มีออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ (ROS) ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือแอนติออกซิแดนท์ที่สำคัญ (Rice - Evans et al., 1996) ซึ่งสารประกอบฟีโนลิกมีความสำคัญ ได้แก่ ป้องกันการเกิดเนื้องอก ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและเส้นโลหิตแตกในสมอง ลดความดันโลหิต ลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ช่วยลดอาการอักเสบต่างๆ ช่วยชะลอความเสื่อมตามอายุของเซลล์ในร่างกาย (Nijveldt et al., 2001)

2. สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารสำคัญของกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา สามารถป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ ต้านไวรัส เป็นต้น คุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (โอภา, 2550)

1.2.7 วิธีการวัดความสามารถในต้านอนุมูลอิสระ

การวัดความสามารถในการเป็นสาร**ต้านอนุมูลอิสระ** สามารถวัดได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีจะมีความสามารถในการยับยั้งได้ต่างกัน สำหรับการวัดความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่สำคัญ คือ วิธี DPPH radical scavenging activity ซึ่งอนุมูล DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals) เป็นอนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ เพื่อเปลี่ยนให้เป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรสีม่วง โดยในการทดสอบจะให้ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ความเข้มข้นของสารละลาย

DPPH จะลดลง สีของสารละลายจะมีสีอ่อนลง บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

1.2.8 การดูดซึมแคโรทีนอยด์ของสัตว์น้ำ

สารแคโรทีนอยด์ที่สัตว์น้ำได้กินเข้าไปพร้อมกับอาหาร จะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก (duodenum) ในชั้น mucosa การดูดซึมแคโรทีนอยด์มีลักษณะเฉพาะเจาะจงกับ receptor proteins และแคโรทีนอยด์ที่ถูกกินเข้าไปอาจจะถูกสลายด้วยเอนไซม์หรือแบคทีเรีย หรืออาจถูกเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอในบริเวณ mucosa สารแคโรทีนอยด์จะถูกขนส่งไปตามกระแสเลือดในรูปของ lipoprotein complex (นงลักษณ์และสมถวิล, 2556)

สารแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการใช้งานในสัตว์น้ำ (bioavailability) แตกต่างกันเมื่อปลาได้รับสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ก็จะถูกเมตาบอลิซึม (metabolism) ในตัวปลากลายเป็นสารสีสองชนิดได้แก่ แอสตาแซนทีน (canthaxanthin) และแคนทาแซนทีน (astaxanthin) ซึ่งเมื่อไปสะสมในผิวหนังของปลา เช่น ปลาทอง ปลาคาร์ฟ ปลาหมอสี ในปริมาณที่สูงพอจะทำให้ปลามีสีสดใสแต่หากได้รับน้อยหรือไม่เพียงพอปลาจะมีสีซีด แต่ปลาบางชนิดจะนำไปสะสมที่กล้ามเนื้อแทน เช่น ปลาแซลมอน (สามารถและคณะ, 2556)

1.2.9 ปลาดุกรัสเซียและการเลี้ยง

ปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) ในวงศ์ปลาดุก (Clariidae) มีลักษณะทั่วไปคล้ายปลาดุกด้าน (*C. batrachus*) ซึ่งเป็นปลาในสกุลเดียวกัน แต่มีส่วนหัวยาวกว่าและแนวระหว่างจะงอยปากถึงท้ายทอยเว้าและโค้งลาด ด้านบนของศีรษะขรุขระกว่า เมื่อมองจากด้านบนจะเห็นเป็นรูปสามเหลี่ยม ท้ายทอยแหลมเป็นโค้ง 3 โค้ง โดยส่วนกลางยื่นยาวมากที่สุด ลำตัวยาว ครีบหลังและครีบก้นยาว ลำตัวด้านบนมีสีน้ำตาลคล้ำอมเหลือง และมีลายแต้มแบบลายหินอ่อนบนลำตัว แก้ม และท้องสีจาง ที่โคนครีบหางมีแถบตามแนวตั้งสีจาง และในส่วนหัวจะมีอวัยวะช่วยในการหายใจ (dentrite) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของปลาชนิดนี้ครีบมีสีเข้มกว่า ลำตัวเล็กน้อย บางตัวอาจมีขอบครีบสีแดง นับเป็นปลาที่ขนาดใหญ่สุดในสกุล *Clarias* ขนาดเมื่อโตเต็มที่ยาวได้ถึง 1.70 เมตร เป็นปลาพื้นเมืองของทวีปแอฟริกา พบได้ในตอนเหนือและตอนตะวันออกของทวีป สำหรับในประเทศไทยได้ถูกนำเข้ามาในปีพ.ศ.2528 (ศุภวัฒน์, 2555)

ปลาดุกยักษ์เป็นปลาที่ชอบกินเนื้อสัตว์ทุกชนิด ในช่วงที่ลูกปลามีขนาดเล็กจะกินไรแดง ไรน้ำและตัวอ่อนของแมลงทุกชนิดเป็นอาหาร เมื่อปลามีขนาดโตขึ้น จะสามารถกินพวกลูกกุ้ง ลูกปลาเป็นอาหารได้ นอกจากนั้นยังพบว่า เมื่อนำปลาไปเลี้ยงในบ่อ ผู้เลี้ยงสามารถฝึกปลาดุกยักษ์ ให้กิน

อาหารเม็ดสำเร็จรูปได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปลาดุกยักษ์เป็นปลากินเนื้อที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว ต้อง การอาหารที่มีโปรตีนในระดับสูง ทำให้ผู้เลี้ยงต้องเสียค่าใช้จ่ายด้านอาหารเป็นจำนวนมาก (ศุภวัฒน์, 2555)

ความต้องการสารอาหารของปลาดุก (วิรวุฒิ, 2557)

ปลาดุกกินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) มีนิสัยชอบกินอาหารในเวลากลางวัน ตามบริเวณพื้นก้นบ่อแล้วจะขึ้นมากินอาหารบริเวณผิวน้ำเป็นบางครั้ง ในบางครั้ง ก็ถือว่าปลาชนิดนี้เป็นพวก Scavengers เนื่องจากเป็นปลาที่มีนิสัยชอบกินอาหารจำพวกเศษเนื้อที่กำลังสลายตัว ปลาดุกนิสัยชอบกินอาหารจำพวกเนื้อสัตว์มากกว่าอาหารจำพวกพืชหรืออาหารจำพวกแป้ง อาหารต่างๆ เหล่านี้ทั้งที่มีตามธรรมชาติ และที่ผสมให้กินโดยการทำเองมีสารอาหารซึ่งจำเป็นต่อปลาดุกอย่างครบถ้วนองค์ต้องการปลาดุกเจริญเติบโตได้ดี คุณค่าค่าอาหารที่ปลาดุกต้องการ และจำเป็นมีอยู่ 5 ชนิดคือ

โปรตีน เป็นส่วนสำคัญของอาหารเพื่อนำเข้าไปเสริมสร้างร่างกาย ในส่วนที่สึกหรอ หรือนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ความต้องการโปรตีนของปลาดุกจะแตกต่างกันไปตามวัยและเวลาที่เพิ่มขึ้น ไม่ลูกปลาวัยอ่อนจนถึงขนาดสามารถปล่อยลงสู่บ่อเลี้ยงได้ มีความต้องการโปรตีนอยู่ในช่วง 30% - 40% ส่วนในช่วงระยะเวลาที่อยู่ในบ่อเลี้ยงปลาดุกมีความต้องการโปรตีนร้อยละ 25 - 30

คาร์โบไฮเดรต สารอาหารประเภทนี้เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานได้บางส่วนแก่ร่างกายความต้องการคาร์โบไฮเดรตของปลาดุกจะอยู่ในช่วง 35% - 40% ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วปลาดุกจะไม่ขาดสารอาหารประเภทนี้เพราะมีอยู่ในแป้ง ปลายข้าว รำ และข้าวโพด เนื่องจากวัตถุดิบเหล่านี้ในอาหารผสมอัดเม็ดลอยน้ำจะช่วยให้อาหารรวมตัวกันได้นานยิ่งขึ้น

ไขมัน อาหารทุกชนิดมักจะมีไขมันปะปนอยู่ด้วยเสมอไม่มากก็น้อย ซึ่งสารอาหารนี้เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานในปริมาณที่สูง บางครั้งปลาดุกที่ได้รับไขมันเป็นจำนวนมากก็จะมีโทษได้เช่นเดียวกับการมีประโยชน์ของมันอาหารที่ให้ปลาดุกไม่ควรจะมีใครมันไม่ปริมาณที่มากเกิน 5 - 6% วัตถุดิบที่มีไขมันในปริมาณมาก ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันมะพร้าว เป็นต้น

วิตามิน สารอาหารชนิดนี้จัดได้ว่าเป็นอาหารบำรุงเพราะมีส่วนช่วยให้ ปลาดุกสามารถใช้สารอาหารอื่นๆได้มากขึ้น ทำให้ปลาดุกมีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น โดยที่สารอาหารชนิดนี้ไม่ได้มีส่วนในการเจริญเติบโตของกระดูกโดยตรงเลยดังนั้นวิตามินจึงมีความจำเป็นมากเพราะปลาดุกจะต้องนำไปใช้และได้รับตามความเหมาะสม

แร่ธาตุ เป็นส่วนประกอบสำคัญของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะแคลเซียม และฟอสฟอรัสซึ่งเป็นส่วนประกอบของกระดูกและฟันอีกทั้งยังเป็นสารที่ควบคุมปริมาณน้ำในตัวปลา ซึ่งแร่ธาตุที่มีอยู่ในสารอาหารทั่วๆไปอยู่แล้ว

การเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ปลาดุกที่เลี้ยงเพื่อการค้าในประเทศไทย มีหลายชนิด ซึ่งในอดีต (ก่อนปี พ.ศ.2529) นิยมเลี้ยงปลาดุกด้าน แต่ประสบปัญหาราคาตกต่ำ หลังจากนั้นเกษตรกรกันมาเลี้ยงปลาดุกอุยแต่ปลาดุกอุยนั้นเติบโตช้าแม้ว่าจะมีรสชาติดี และราคาดีกว่าปลาดุกชนิดอื่น ต่อมาช่วงปลายปี 2530 ได้มีการนำปลาดุกรัสเซียเข้ามาในประเทศไทยเพื่อผสมพันธุ์กับปลาดุกอุย จนได้ลูกผสม(บิ๊กอุย)ที่โตดีและนิยมเลี้ยงกันช่วงหนึ่ง จนปัจจุบันการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยเริ่มลงลด ซึ่งเมื่อคิดจากเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาดุก 90 เปอร์เซ็นต์จะเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุยเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ (อุทัยรัตน์, 2544) เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงปลาดุกรัสเซียมากขึ้นถึงปัจจุบัน

ปลาดุกรัสเซีย (African sharp tooth catfish) เป็นปลาที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกากลาง เนื่องจากชาวรัสเซียได้นำมาแพร่หลายในประเทศลาว แล้วคนไทยได้นำมาจากประเทศลาว การเจริญเติบโตในเขตร้อนได้ดีกว่าเขตหนาว การเจริญเติบโตได้ดีกว่าปลาดุกไทย เนื่องจากกินอาหารเกือบทุกชนิด เคลื่อนไหวน้อย ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมในน้ำ เมื่อเลี้ยง 5 เดือน ปลาดุกรัสเซียจะมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 800-1,000 กรัมต่อตัว (สภาพร, 2538)

1.2.9 การนำสาหร่ายน้ำจืดกินได้มาเป็นวัตถุดิบในอาหารปลาน้ำจืด

ที่ผ่านมามีนักวิจัยหลายท่านได้นำสาหร่ายน้ำจืดมาใช้ในการเลี้ยงปลาน้ำจืด ดังเช่นการวิจัยในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว เช่น สาหร่ายเตา(*Spirogyra*) โดย ธีระวัฒน์และคณะ (2555) โดยได้ทำศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตาต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง โดยทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย 3 ครั้ง ในช่วงฤดูร้อน ฤดูฝน ฤดูหนาว แล้วนำมาสกัดแบบหยาบเป็นสารสกัดน้ำ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดน้ำของสาหร่ายเตาจากฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) ในแบบจำลองการขจัดอนุมูล ABTS โดยมีค่าเท่ากับ 0.117, 0.073 และ 0.053 มก./มล.ตามลำดับ และนำสาหร่ายเตามาผสมในอาหารเม็ดในระดับ 0, 2.5, 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์แก่ลูกปลาผลการทดลองพบว่า สาหร่ายเตา มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

การศึกษาในสาหร่ายไก (*Cladophora* spp.) ซึ่งดวงพรและคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาสารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชันของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x สวาย) โดยเปรียบเทียบสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงซึ่งพบว่า สารสำคัญที่ตรวจพบในสาหร่ายไกทั้ง 2 แหล่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และสารสำคัญที่ตรวจพบเป็นสารกลุ่มฟีนอลิก

หลายชนิด ได้แก่ ไอโซเคอร์ซิติน แคทิชิน กรดแทนนิก ไฮโดรควินิน เคอร์ซิติน รูติน กรดแกลลิก และแคมเฟอรอล จากนั้นนำสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติมาเสริมในอาหารปลาที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาหนังลูกผสม ที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกที่ระดับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตได้ดี โดยมีผลลดระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อระดับกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของปลาหนังลูกผสม ผลการศึกษาพบว่า สาหร่ายไก มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้เช่นเดียวกับสาหร่ายเตา นอกจากนี้และสุนีรัตน์และศักดิ์ชัย (2557) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียว *Cladophora glomerata* โดยทำการผสมสาหร่ายบดแห้งปริมาณ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงปลานิล พบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดควบคุม แต่มีปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาสดสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาสดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 12.26 ± 0.49 ไมโครกรัมต่อกรัม

สำหรับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ชนิดที่นิยมนำมาเสริมในอาหารมากที่สุด คือ สาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina*) นำมาเสริมในอาหารปลาบึก ปลาเผาะและปลาสวายได้ (Megnguphan และ Saengkarchag (2008) นอกจากนี้ สุนีย์รัตน์(2553) นำมาเป็นเสริมอาหารปลานิลแดง โดยใช้ *Spirulina platensis* ซึ่งผลการศึกษาที่ได้พบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ดีขึ้น รวมถึงจงกล และคณะ (2550) ได้ศึกษาการอนุบาลลูกปลานิลแดง(*Oreochromis* sp.)ด้วยสาหร่ายเกลียวทองสด ต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการและคาร์โรทีนอยด์ในเนื้อปลานิลแดง ผลการศึกษาพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายเกลียวทองสดร้อยละ 55 มีอัตราการรอดตายและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารผสมสาหร่ายเกลียวทองสดทำให้คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณของของคาร์โรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามระดับของสาหร่ายเกลียวทองสดที่ผสมในอาหาร และธัชศึกและคณะ(2554) ได้ศึกษาผลของสาหร่ายเกลียวทองและสาหร่ายไกต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการปรับปรุงสีของปลาทองผลการศึกษาสรุปได้ว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดให้ผลไม่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโต แต่สามารถช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและปรับปรุงสีทำให้สีบนตัวปลาทองมีสีแดงและสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้กิตติมาและคณะ (2553) ไ ด้ใช้สาหร่ายสไปรูไลนาเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย โดยผสมผงสาหร่ายสไปรูไลนาในอาหารที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 10, 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูไลนาผงที่ระดับ 14 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตและความยาวเพิ่มสูงขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

1.2.10 ภาวะเครียดออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมจากการใช้ออกซิเจนหรือเกิดจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ ความเครียด และสารเคมีบางชนิด อนุมูลอิสระ

ก่อให้เกิดการอักเสบและทำลายเนื้อเยื่อมีผลต่อความเสื่อมของเซลล์ ทำให้เกิดโรคต่างๆ ในภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นหรือการลดลงของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระลดลงในร่างกาย เช่น superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) และ glutathione(GSH) ภาวะเครียดออกซิเดชั่นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของไขมัน โปรตีนต่างๆ ทำให้ร่างกายเป็นโรคได้ง่ายและโตช้า (โอภาและคณะ, 2550 อ้างตาม ธีรวัฒน์, 2555)

ปัจจัยการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (มนสรวงต์, 2557)

ปัจจัยการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันมี 2 ปัจจัย ได้แก่ และปัจจัยที่เกิดจากการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและผลผลิตที่เกี่ยวข้อง เนื่องจากสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน มีกระบวนการเมแทบอลิซึมสารอาหารในเอนโดพลาสติกเรติคูลัมทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้ อนุมูลอิสระจึงถูกสร้างขึ้นในไมโตคอนเดรียและเอนโดพลาสติกเรติคูลัม การมีอนุมูลอิสระมากทำให้เซลล์แตก ปล่อยสารต่างๆ ออกมา สารต่างๆ นี้จะทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ ที่อยู่รอบๆ โดยชนิดของอนุมูลอิสระในปลา ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮดรอกซิล ซิลเกลทออกซิเจน

1.2 การลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ในปลาอาจเกิดการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระได้หลายสาเหตุ ได้แก่ การเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งส่งผลต่อเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ทำให้เอนไซม์เหล่านี้ไม่ทำงานหรือทำงานบกพร่องหรือสาเหตุจากโรคที่ทำให้เอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชันลดลงไป รวมทั้งสาเหตุทางด้านโภชนาการคือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารไม่เพียงพอหรืออาหารที่ได้รับมีคุณภาพและสัดส่วนไม่เพียงพอการอดอาหาร

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลา

ภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาเป็นภาวะที่เกิดความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีสาเหตุ มีดังนี้

1. อายุ มีผลต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น เนื่องจากปลาใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญอาหารให้ได้พลังงาน จึงมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นตลอดเวลา พบว่าประมาณร้อยละ 1-3 ของออกซิเจนทั้งหมดที่ถูกนำเข้ามาในร่างกายจะเปลี่ยนมาอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระซึ่งปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่

(1) ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นเอง(autoxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชั่นของไขมัน โดยกรดไขมันจะแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ

(2) ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง การทำงานของเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิด ที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้แก่ เอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (xanthine oxidase) และเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase)

(3) โลหะทรานสิชัน(transition metal) 2 ชนิด ได้แก่ เหล็กและทองแดง ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกาย สามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิล จากซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์ ในปฏิกิริยา Fenton

2. สารอาหารและโภชนาการ มีผลต่อการโน้มนำหรือลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น ดังนี้

(1) การอดอาหาร ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น เนื่องจากปลาอดอาหารจะมีผลต่อขบวนการเมทาโมลิซึมของไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต จากการวิจัยพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารปกติจะลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันและปลาที่ขาดอาหารและอดอาหารเพิ่มความความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้สูงและส่งผลให้ระดับลิปิดเปอร์ออกซิเดส(lipid peroxidase) ในตับสูงขึ้นและลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีผลเนื่องมาจากเอนไซม์เป็นสารอาหารในกลุ่มโปรตีนเมื่อเกิดการอดอาหารอีกทั้งสารอาหารกลุ่มโปรตีนนั้นไม่สามารถทดแทนด้วยสารอาหารกลุ่มอื่นได้ในขณะที่สารอาหารกลุ่มอื่นทดแทนได้ด้วยโปรตีน

(2) ไขมันมีต่อความรุนแรงของการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น ไขมันชนิดต่างๆ เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์เมมเบรนเมื่อไขมันถูกอนุมูลอิสระเข้าทำลายจะเกิดขบวนการ LPO ซึ่งทำให้เซลล์เสียหายและเซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน เมื่อภายในเซลล์มี LPO ที่เกิดขึ้นทำให้ได้สารประกอบคาร์บอนิล เช่น ไฮดรอกซี แอลคีนอล(4-hydroxy alkenals) และ MDA ซึ่งสารประกอบ 2 ชนิดสามารถบ่งชี้ถึงภาวะที่เซลล์หรือเนื้อเยื่อของสัตว์ได้รับความบาดเจ็บหรือเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น ดังนั้นการได้รับอาหารที่มีไขมันสูงจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

(3) วิตามินอีและวิตามินซี ความต้องการวิตามินอีไม่ได้ขึ้นอยู่กับระดับของไขมันในอาหารเพียงอย่างเดียวแต่จะเกี่ยวข้องกับวิตามินซีในอาหารด้วยเนื่องจากวิตามินอีเมื่อถูกทำปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วสามารถกลับคืนสภาพเดิมได้ต้องอาศัยวิตามินซีและซีสทีน (cysteine) นอกจากนี้วิตามินซียังมีบทบาทต่อการป้องกัน LPO ในพลาสมามากกว่าวิตามินอี

(4) แร่ธาตุในกลุ่มแมงกานีส ทองแดง ซีลิเนียมและสังกะสี สามารถป้องกันและชักนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้

3. สารพิษและสิ่งแปลกปลอม โดยสารพิษเร่งการสร้างอนุมูลอิสระ เมื่อปลาได้รับสารพิษจะสร้างกลไกป้องกันตนเองโดยการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในขณะที่ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ลดลง ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น นอกจากนี้การติดเชื้อและปรสิตก็ส่งผลต่อกลไกการต้านอนุมูลอิสระและชักนำให้เกิดเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น

การวัดความเสียหายที่เกิดจากลิปิดออกซิเดชัน

ลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและภาวะออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการเกิดและพัฒนาของโรค จึงมีการใช้ปริมาณลิปิดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเป็นดัชนีบอกถึงภาวะถูกออกซิไดซ์ที่มากเกินสมดุล ซึ่งมีวิธีการวัดหาค่าลิปิดเปอร์ออกซิเดชันที่ทำให้รวดเร็วและไม่ซับซ้อน (โอภาและคณะ, 2550) ดังนี้

มาลอนไดอัลดีไฮด์ Malondialdehyde (MDA) เป็นวิธีการที่หาผลผลิตที่เกิดจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ระดับ MDA เป็นดัชนีที่ใช้อย่างกว้างขวางเพราะการหาปริมาณเป็นวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อน การหา MDA ที่เกิดขึ้น ทำให้โดยการเติม ไทโอบาร์บิทูริก ในสภาวะกรด MDA จะทำปฏิกิริยากับกับไทโดบาร์ทูริกที่ได้เป็นสารสี เรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substance)

กลูตาไทโอน (GSH) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสามารถผลิตได้เอง มีหน้าที่ช่วยสร้างและกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดเพื่อให้ร่างกายต่อต้านสิ่งแปลกปลอม และกำจัดพิษออกจากร่างกาย รวมถึงเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ช่วยให้วิตามินซีและวิตามินอี ทำงานได้เต็มที่ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกาย นอกจากนี้ยังช่วยสร้างและซ่อมแซม DNA และสร้างโปรตีน สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพและบ่งบอกระดับการกำจัดอนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิต (โอภา และคณะ, 2550)

1.2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้สาหร่ายน้ำจืดมาเลี้ยงสัตว์น้ำ

อานูวีและวุฒิพร (2555) ได้ทำการศึกษาการใช้สาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*) ป่นทดแทนโปรตีนปลาป่นในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ สามารถแทนที่ได้สูงสุด 75 % โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกัน แต่ที่ระดับร้อยละ 15 ให้การเจริญเติบโตสูงสุด ซึ่งหากมีการสร้างสูตรอาหารให้มีความสมดุลของแร่ธาตุที่จำเป็นต่อปลา เช่น ฟอสฟอรัส และ เมทไธโอนีน ซึ่งจะพบน้อยในจำพวกพืช สำหรับตัวบ่งชี้สุขภาพของปลานิล ได้แก่ ฮีมาโตคริต, เม็ดเลือดขาว และ NBT reduction มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีการแทนที่ด้วยสาหร่ายทุกระดับ

จารุวัลย์และเกรียงศักดิ์ (2557) ได้ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ แคโรทีนอยด์ และสีในเนื้อปลาบึก อายุ 1 ป โดยใช้อาหารผสม สาหร่ายสไปรูลินาระดับต่างกัน แบ่งการทดลองออกเป็น 4 หน่วยทดลอง หน่วยทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ให้ อาหารผสมสาหร่าย 0, 15, 30 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาทดลอง 5 เดือน มีค่าแคโรทีนอยด์รวมเฉลี่ยเทากับ 1.01±0.58, 0.89±0.56, 0.51±0.25 และ 1.52±0.73 และสีในเนื้อปลาบึกมีค่าเฉลี่ยเทากับ 9.66±0.88, 10.00±0.57, 10.33±0.33 และ 11.33±0.33 ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลค่าเฉลี่ยมาวิเคราะห์ความแปรปรวนเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติพบว่าค่าดังกล่าวไมมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

วัฒนาและคณะ (2559) ได้ทำการทดลองการใช้สาหร่ายขนนกในสูตรอาหาร สำหรับการเลี้ยง ปลาทับทิม ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยประมาณ 22.24±1.47 กรัม ในระดับ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม (0 เปอร์เซ็นต์) และที่ระดับ 2.5, 5.0, 7.5 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตาย

อดิศักดิ์และคณะ (2561) ได้ทำการทดลองการเจริญเติบโตของปลาทองออแรนดา (*Carassius auratus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบว่าอาหารผสมสาหร่าย *H. welwitschii* TISTR 8237 ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีผลให้อัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดอัตราการแลกเนื้อน้อยที่สุด และมีประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์จากโปรตีน ได้ดีขณะที่องค์ประกอบทางเคมี

ของซากมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงการเสริมด้วยสาหร่ายที่ระดับนี้ ไม่ทำให้ปลามีค่าสีแดง และสีเหลืองเพิ่มขึ้น ในระยะ 10 สัปดาห์ซึ่งอาจจะต้องเพิ่มระยะเวลา ให้นานกวานี้ดังนั้น สาหร่าย *H. welwitschii* TIS ที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์จึงมีความเหมาะสม ในการนำมาผสมในอาหารเพื่อกระตุ้นให้ปลาทองออแรนดามีการเจริญเติบโตและใช้ประโยชน์จากอาหารได้ดี

สุนีรัตน์และศักดิ์ชัย (2562) ได้ทำการทดลองใช้สาหร่ายสีเขียว (*Cladophora glomerata*) แบบผงแห้งผสมในอาหารเม็ดทางการค้าเพื่อเลี้ยงปลานิล ระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าแม้อาหารที่ผสมสาหร่ายทุกระดับ 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนในอาหารลดลง แต่มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่มขึ้น และยังทำให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาเพิ่มขึ้น ปริมาณแคโรทีนอยด์ ในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสาหร่ายในอาหารเพิ่มขึ้นจากการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นได้ว่าสาหร่ายชนิดนี้มีความเหมาะสมในการใช้เป็นแหล่งโปรตีนและเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลานิล

1.3 วัตถุประสงค์โครงการ

๑. เพื่อหารูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งแบบอินทรีย์ที่ให้ผลผลิตที่ดีและเหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวมาบริโภค และเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณรงควัตถุ พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในโรงเรือน

๒. เพื่อศึกษาการเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย โดยใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเป็นวัตถุดิบในอาหารปลา โดยศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการเพิ่มน้ำหนัก อัตราการแลกอาหารเป็นเนื้อและอัตรารอดตาย ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในเนื้อปลา และการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการของปลาดุกรัสเซียที่ได้จากการเลี้ยง

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chara corallina* ที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดกระบี่

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการวิจัยนี้ได้สร้างองค์ความรู้ใหม่หลายด้าน ได้แก่ ด้านการเลี้ยงสาหร่ายน้ำจืดแบบอินทรีย์ของสาหร่ายน้ำจืดกินได้พื้นถิ่นของภาคใต้ ฤทธิ์ทางชีวภาพ องค์ประกอบทางเคมี ของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยง และ การใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเป็นวัตถุดิบพื้นบ้านเป็นอาหารสำหรับการคุณภาพของเนื้อปลาดุกรัสเซีย

บทที่ 2

วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งแบบอินทรีย์ในโรงเรือน

2.1.1 การศึกษารูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งแบบอินทรีย์

(1) การเตรียมพันธุ์สาหร่าย

นำสาหร่ายจากแหล่งน้ำธรรมชาติและจากตลาดท้องถิ่นในพื้นที่จังหวัดกระบี่ มาพักในน้ำสะอาดในโรงเรือนในกระบะพลาสติกขนาด 250 ลิตร ให้อากาศ จากนั้นทำความสะอาด และเลือกแทลลัสที่มีสมบูรณ์ สำหรับนำไปเลี้ยง

(2) การศึกษารูปแบบการเลี้ยง

(2.1) การเลี้ยงในกระบะไฟเบอร์

เนื่องจากยังไม่มีการรายงานการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งด้วยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำมาก่อน ในการศึกษาด้วยวิธีนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบระดับของปุ๋ยน้ำอินทรีย์ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสาหร่ายก้ามกุ้ง โดยใช้ระดับความเข้มข้นของปุ๋ยอินทรีย์ในการเลี้ยงพืชน้ำมาเป็นแนวในการกำหนดความเข้มข้น โดยได้กำหนดระดับเบื้องต้นไว้ในช่วง 0.05-0.30 มิลลิลิตรต่อลิตร จึงได้ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ 3 ซ้ำ ระดับของปุ๋ยอินทรีย์ 3 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.15 และ 0.30 มิลลิลิตร/ลิตร และ ใช้ปุ๋ยนา (16-20-0) ที่ระดับ 3 มก./ล. เป็นชุดควบคุม ซึ่งใช้สูตรการเลี้ยงสาหร่ายขนนกของ

อำไพและอรกัญญา (2552) ซึ่งการเลี้ยงเป็นรูปแบบการเลี้ยงด้วยวิธีการปลูก (plant seeding) สรุปได้ดังนี้

ชุดการทดลอง ที่ 1 ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ 0.05 มิลลิลิตรต่อลิตร
ชุดการทดลอง ที่ 2 ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ 0.15 มิลลิลิตรต่อลิตร
ชุดการทดลอง ที่ 3 ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ 0.30 มิลลิลิตรต่อลิตร
ชุดการทดลอง ที่ 4 ปุ๋ยปุ๋ยนา(16-20-0) 3.0 มิลลิลิตรต่อลิตร(ชุดควบคุม)

โดยใช้สาหร่ายที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อ 1 ลิตร โดยการเตรียมกระบะไฟเบอร์กลาสขนาด 200 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 195 ลิตร ซึ่งนำทรายที่ทำความสะอาดมาเติมเพื่อเป็นยึดเกาะของสาหร่าย นำพันธุ์สาหร่ายก้ามกุ้งจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาทำความสะอาดและนำแช่ในน้ำสะอาดเพื่อปรับสภาพในโรงเรือนเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(2) การเลี้ยงในบ่อซีเมนต์

การศึกษาการเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ใช้บ่อขนาด 1.0 ม. x 2.0 ม. มีระดับน้ำลึก 40 เซนติเมตร ซึ่งมีปริมาตรน้ำ 800 ลิตร การออกแบบการเลี้ยงได้ใช้รูปแบบการเลี้ยงได้ออกแบบตามภูมิปัญญาการบริโภค ของชุมชนกระบี่ วิธีการปลูกเลี้ยง วิธีนี้เหมาะสำหรับการตัดส่วนยอดมากินกับน้ำพริกตามภูมิปัญญาของคนในจังหวัดกระบี่ (2) วิธีใส่ตะกร้าลอยน้ำ ใช้วิธีเดียวกับสาหร่ายขนนก ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือสามารถยกตะกร้าแล้วเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้สะดวกในการนำมาใช้ประโยชน์ และ (3) วิธีการหว่าน ซึ่งมีการตัดสาหร่ายออกเป็นท่อนสั้นแล้วลอยน้ำไว้ วิธีนี้ชุมชนในอำเภอคลองท่อมได้ทำการเลี้ยงไว้ในครัวเรือนและแบ่งขายบางส่วน ซึ่งส่วนใหญ่เลี้ยงในโอ่งน้ำ ซึ่งการทดลองนี้ได้ออกแบบ การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ๆ 3 ซ้ำ (บ่อ) ใช้สาหร่ายเริ่มต้น ในอัตรา 0.2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร รวม น้ำหนัก 160 กรัมต่อหน่วยทดลอง โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำในความเข้มข้น 0.30 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 0.15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร เลี้ยงเป็นระยะ 60 วัน

ชุดการทดลอง ที่ 1 การหว่าน
ชุดการทดลอง ที่ 2 เลี้ยงในตะกร้า
ชุดการทดลอง ที่ 3 การปลูก

(3) การเลี้ยงในท่อซีเมนต์

รูปแบบนี้เป็นการศึกษาแนวทางเพิ่มผลผลิตในบ่อซีเมนต์ที่มีขนาดเล็ก ขนาด 100 x 200 x 40 เซนติเมตร ซึ่งมีปริมาตรน้ำ 120 ลิตร และเติมน้ำจนมีปริมาตร 100 ลิตร การออกแบบ

การทดลองนี้ได้ออกแบบเพื่อเปรียบเทียบรูปแบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันใน 4 รูปแบบในภาชนะขนาดเล็ก ซึ่งการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ 3 ซ้ำ **ดังนี้**

ชุดการทดลองที่ 1 การหว่าน
ชุดการทดลองที่ 2 การปลูก
ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงในตะกร้าพลาสติกทรงลึก
ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงในตะกร้าพลาสติกทรงตื้น

ใช้สาหร่ายเริ่มต้น ในอัตรา 200 มิลลิกรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำในความเข้มข้น 0.15 มิลลิลิตรต่อลิตร ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน

(4) การเลี้ยงในตะกร้า

รูปแบบนี้เป็นการศึกษาแนวทางเพิ่มผลผลิตในบ่อซีเมนต์ที่มีขนาดเล็ก ซึ่งมีปริมาตรน้ำ 120 ลิตร และเติมน้ำจนมีปริมาตร 100 ลิตร การออกแบบการทดลองนี้ได้ออกแบบเพื่อเปรียบเทียบตะกร้าสีดำเลี้ยงที่แตกต่างกันใน 4 แบบ ซึ่งได้การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ตะกร้าที่มีทรงกลมตื้น (38 ซม. x 16 ซม.)
ชุดการทดลองที่ 2 ตะกร้าที่มีทรงกลมตื้นปานกลาง (36 ซม. x 28 ซม.)
ชุดการทดลองที่ 3 ตะกร้าที่มีทรงกลมตื้นมาก (37 ซม. x 40 ซม.)
ชุดการทดลองที่ 4 ตะกร้าที่มีทรงกลมตื้นมากที่สุด (43 ซม. x 38 ซม.)

ช่วงของการเลี้ยงทำการศึกษาค่าคุณภาพน้ำที่สำคัญต่อในการเจริญเติบโตของสาหร่าย ได้แก่ อุณหภูมิน้ำ ความเข้มแสง พีเอช ความกระด้าง ความเป็นด่าง สารอาหารในน้ำต่างๆ ได้แก่ ออร์โธฟอสเฟต ไนเตรท และ แอมโมเนียในน้ำ

2.1.2 การศึกษาการเจริญเติบโต ทำการวิเคราะห์ จำนวน 2 วิธี ดังนี้

2.1.2.1 การวัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายก้ามกุ้ง (ตามวิธีการของ Lobban *et al*.,1985)

(1) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily grain (ADG) หน่วยเป็นกรัมต่อวัน ตามสูตรดังนี้

$$ADG = (W_2 - W_1) / t$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)

t คือ ระยะเวลาในการเลี้ยง (วัน)

(2) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; SGR) หน่วยเป็นร้อยละต่อวัน เมื่อ SGR คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะโดยน้ำหนักคิดเป็น % ของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อหน่วยเวลาเปรียบเทียบกับน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นเลี้ยง

$$SGR = [\ 100 \ln (N_1 / N_0)\ ] t$$

เมื่อ N_0 คือ น้ำหนักเริ่มต้นเลี้ยง (กรัม)

N_1 คือ น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)

t คือ ระยะเวลาในการเลี้ยง (วัน)

2.1.3 การศึกษาคุณภาพของสาหร่าย

(1) การวัดสีของสาหร่ายก้ามกุ้ง

นำสาหร่ายก้ามกุ้งที่แห้งและบดละเอียดแล้ว ใส่ภาชนะโดยที่สาหร่ายกระจายโดยที่ไม่มีช่องว่าง แล้วนำไปวัดสีด้วยเครื่อง Chroma meter รุ่น Minolta CR - 400 อ่านค่าของระบบ L*, a* และ b* ที่ปรากฏ ในการประเมินลักษณะปรากฏของตัวอย่างที่ทำการศึกษา โดยค่า L* ที่เข้าใกล้ 100 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาวหรือสีจาง แต่ถ้าค่า L* เข้าใกล้ 0 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างน้อยลงจนเป็นสีคล้ำ ส่วนค่า a* ที่เป็นบวก แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีแดง แต่ค่า a* เป็นลบ แสดงว่า ตัวอย่างเป็นสีเขียว และในค่า b* ที่เป็นบวก แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีเหลือง แต่ถ้าค่า b* เป็นลบ แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีน้ำเงิน (สุนทรี, 2550)

(2) ปริมาณรงควัตถุในสาหร่าย

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษารงควัตถุ 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอ และแคโรทีนอยด์รวม (total carotenoids) โดยมีรายละเอียดดังนี้

(2.1) การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ดัดแปลงตามวิธีการของ Wintermans and De Mots (1965) และ Saijo (1975) มีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

1) ชั่งสาหร่ายน้ำหนัก 0.01 กรัม จากนั้นเติมเมทานอลความเข้มข้น 90% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2) นำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องคลื่นความถี่สูง 5 นาที เสร็จแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70°C ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 20 นาที

3) นำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสนำไปปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอลความเข้มข้น 90%

4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630, 645, 665 และ 750 nm คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ตามสมการดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัม/g cell dry weight)} = \frac{[\,11.6\,(A_{665} - A_{750})] - [\,1.31\,(A_{645} - A_{750})] - [0.14\,(A_{630} - A_{750})]}{\text{มิลลิกรัม cell dry weight}} \times 10$$

(2.2) การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (total carotenoids) ดัดแปลงตามวิธีการของ de Quiros and Costa (2006) มีวิธีการ ดังนี้

1) ชั่งสาหร่ายผง 0.025 กรัม เติมเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 60% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อตรึงเซลล์

2) นำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องคลื่นความถี่สูง 5 นาที

3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50°C ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้รงควัตถุถูกสกัดออกมาจากเซลล์ ทิ้งให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

4) เก็บสารละลายส่วนใสไว้ แล้วเติมเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ซ้ำอีกครั้ง

5) รวมสารละลายที่ได้จากสารสกัดครั้งแรกและครั้งที่ 2 รวมกันในบีกเกอร์

6) เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียม คลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 9% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเขียวและสีเหลือง

7) ปล่อยชั้นสีเขียวของคลอโรฟิลล์ทิ้งไป เก็บชั้นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ แล้วเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 9 % ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งให้แยกชั้นสีขาวและสีเหลือง

8) ปล่อยชั้นสีขาวทิ้ง เก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ จากนั้นนำมาปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยไดเอทิลอีเทอร์และเติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4 anhydrous) เพื่อกำจัดน้ำ

9) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm คำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ จากสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (มก./ก น้ำหนักแห้ง)} = \frac{A_{450} \times V \text{ (มิลลิลิตร)} \times 1000}{(260 \times \text{น้ำหนักของตัวอย่างสาหร่าย(มล.)}}$$

เมื่อ V= ปริมาตรสุดท้ายของสารสกัด(มล.)

(2.3) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงได้มาทำความสะอาด ผึ่งลมในที่ร่ม นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงร่อน บรรจุเก็บในถุงสุญญากาศ เก็บ

ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ความชื้น เยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000) ได้แก่ การวิเคราะห์ ดังนี้

1)โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method

2) ไขมัน โดยวิธี Soxhlet extraction method

3) เถ้า โดยวิธี dry ashing method 4X

4) เยื่อใย โดยวิธี Glass crucible method

5) คาร์โบไฮเดรต โดยวิธีการคำนวณ

(2.4) การวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนัก

ทำการวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักในสาหร่ายน้ำจืด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) ได้แก่ สารหนู ปรอท ตะกั่ว แคดเมียม แคลเซียม ทองแดง และ ซีลิเนียม

(2.5) การศึกษาสารพฤกษเคมี

1) การเตรียมตัวอย่างสาหร่าย นำสาหร่ายนำมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำมาผึ่งลมให้หมาดพอสมควร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกว่าสาหร่ายจะแห้งสนิท และบดให้ละเอียด

2) การเตรียมส่วนสกัดสาหร่าย นำสาหร่ายแห้งที่บดละเอียดแล้ว 100 กรัม มาสกัดด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส กรองด้วยผ้ากรอง นำส่วนที่เป็นน้ำมาระเหยน้ำออกโดยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60 ℃ จากนั้นทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง Freeze dryer ได้เป็นส่วนสกัดน้ำของสาหร่ายน้ำจืด คำนวณร้อยละของผลผลิต (% yield) จากสูตร

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักสาหร่ายแห้งที่ใช้ในการสกัด}}$$

นำสารสกัดหยาบมาศึกษาสารพฤกษเคมี ซึ่งสารพฤกษเคมีเป็นสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งในสาหร่ายนั้นมีอยู่หลายชนิดแต่ในงานวิจัยนี้จะทำการวิเคราะห์หาทั้งหมด 3 กลุ่ม ดังนี้

(1) สารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic contents)

ใช้วิธีการที่ดัดแปลงจาก John *et al*., (2014) โดยการละลายสารมาตรฐาน gallic acid ใน dimethyl sulfoxide ให้ได้ความเข้มข้น 0.00012, 0.00024, 0.0039, 0.0078, 0.0156, 0.0312 และ 0.0625 mg/ml แล้วเตรียมกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน gallic acid จากนั้นเตรียมตัวอย่างสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้มีความเข้มข้น 0.2 mg/ml และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม จากกราฟมาตรฐาน gallic acid ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ gallic acid /น้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

(2) สารฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid contents)

ใช้วิธีการของ Heim *et al*., (2002) โดยการเตรียมตัวอย่างสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้มีความเข้มข้น 5 mg/ml และเตรียมสารมาตรฐาน quercetin ละลายใน dimethyl sulfoxide ให้ได้ความเข้มข้น 0.0019, 0.0039, 0.0078, 0.0156, 0.0312, 0.0625 และ 0.125 mg/ml นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม โดยวิธี aluminum chloride colorimetric assay และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง micropleat reader ที่ความยาวคลื่น 515 nm แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของ quercetin จากนั้นคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมจากกราฟมาตรฐาน quercetin ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ quercetinต่อน้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg QE/g extract)

(3) สารแทนนินรวม (total tannin contents)

เตรียมตัวอย่างสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้มีความเข้มข้น 0.2 mg/ml และเตรียมสารมาตรฐาน tannin ละลายใน dimethyl sulfoxide ให้ได้ความเข้มข้น 0.0004, 0.0019, 0.0039, 0.0078, 0.0156, 0.0312 และ 0.0625 mg/ml แล้วเตรียมกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน tannin จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 725 nm คำนวณปริมาณแทนนินรวม จากกราฟมาตรฐาน tannin ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของ tannin /น้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg TE/g extract) (Kiran *et al*., 2012)

(2.6) การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นมีการศึกษาได้หลายวิธีการ แต่ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาทั้งหมด 3 วิธี ดังนี้

1) วิธี DPPH radical scavenging (Manosroi *et al*., 2012)

เตรียมตัวอย่างสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 mg/ml แล้วทดสอบฤทธิ์จับอนุมูลอิสระด้วย 2, 2-diphenyl-1-picrylhudrazyl (DPPH) radical ในไมโครเวลล์เพลท ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง micropleat reader ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หลังนั้นทำการคำนวณหาร้อยละของความสามารถจับอนุมูลอิสระ (%inhibition) **ดังสมการที่** (1) จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความสามารถจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ กับสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น แล้วคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ได้ 50% (Half maximal inhibitory concentration; IC_{50}) โดยใช้สมการเส้นตรง $y = ax + b$ ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีผลต่อการลดลงไปครึ่งหนึ่งของจำนวนอนุมูลอิสระจากจำนวนของอนุมูลอิสระเริ่มต้น

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517\ control} - A_{517\ sample}) / A_{517\ control}] \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ $A_{517\ control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (ตัวทำละลาย + $DPPH^{\bullet}$)

$A_{517\ sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง (สารสกัด + $DPPH^{\bullet}$)

2) วิธี Scavenging activity of ABTS radical (Re *et al*., 1999)

เตรียมสารทดสอบ $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-Azino-bis (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical) โดยการผสม mM $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 2 ml กับ 140 mM $K_2S_2O_8$ ปริมาตร 35 µl ในขวดสีชา บ่มทิ้งไว้ 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จะได้ stock ABTS radical cation ที่มีสีน้ำเงินอมเขียว ก่อนนำมาทดลองจะต้องเจือจาง stock ABTS radical cation ด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.700±0.010 (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน) เตรียมตัวอย่างสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.050, 0.100, 0.200, 0.400, 0.800, 1.600 และ 3.200 mg/ml แล้วทดสอบความสามารถจับอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ในไมโครเวลล์เพลท ทิ้งไว้ในที่มืด 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย

เครื่อง micropleat reader ที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยใช้ trolox เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละของความสามารถจับอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ (2) และคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถจับอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้ 50%

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{734 \text{ control}} - A_{734 \text{ sample}}) / A_{734 \text{ control}}] \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ $A_{734 \text{ control}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม ($ABTS^{+\bullet}$ ที่เจือจางแล้ว)

$A_{734 \text{ sample}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง (สารสกัด + $ABTS^{+\bullet}$)

3) วิธี Metal chelating activity (Dinis *et al*., 1994**)**

เตรียมตัวอย่างสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ละลายในตัวทำละลายให้ได้ความเข้มข้น 0.050, 0.100, 0.200, 0.400, 0.800, 1.600 และ 3.200 mg/ml แล้วทดสอบความสามารถจับโลหะไอออน ในไมโครเวลล์เพลท ทิ้งไว้ในที่มืด 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 562 nm โดยใช้ EDTA เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละของความสามารถจับโลหะไอออน (%chelating ability) ดังสมการที่ 3 และคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถจับโลหะไอออนได้ ร้อยละ 50

$$\% \text{ chelating ability} = [(A_{562 \text{ control}} - A_{562 \text{ sample}}) / A_{562 \text{ control}}] \times 100 \quad (13)$$

เมื่อ $A_{562 \text{ control}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม (น้ำกลั่นปราศจากไอออน + $FeCl_2$ + Ferrozine)

$A_{562 \text{ sample}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง (สารสกัด + $FeCl_2$ + Ferrozine)

(2.7) การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง โดยทำการเตรียมตัวอย่างโดยละลายสารสกัดก้ามกุ้งเลี้ยงด้วยน้ำกลั่น นำไปปั่นเหวี่ยงและดูดส่วนใสมาเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 mg/ml นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้บ่มกับอัลบูมินที่อุณหภูมิสูง (70±2 องศาเซลเซียส) นาน 5 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อคำนวณปริมาณอัลบูมินที่สลายตัวเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน นำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์

ระหว่างร้อยละของการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินและความเข้มข้นของสารสกัด จากนั้นหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ร้อยละ 50 (Chandra et al., 2012)

2.1.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic analysis)

ทดสอบค่าความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน, อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณรงควัตถุ คลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์รวม และสี ของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยง โดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยเปรียบเทียบพหุคูณด้วยวิธี DMRT (Duncan Multiple Range test) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

2.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง

2.2.1 การวางแผนการทดลอง

โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ที่มีการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับต่าง ๆ กัน 5 ระดับคือ 0, 2, 4, 6 และ 8% ตามลำดับ ทำการทดลองทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ เพื่อการศึกษาผลของการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งผสมในอาหารต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบของเลือด และแคโรทีนอยด์ของปลาดุกรัสเซีย โดยกำหนดให้อาหารมีปริมาณโปรตีน 30% และไขมัน 6% โดยมีรายละเอียดสูตรอาหารดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารสูตรควบคุม ไม่มีการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้ง
สูตรที่ 2 เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในสูตรอาหารที่ระดับ 2.0 %
สูตรที่ 3 เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในสูตรอาหารที่ระดับ 4.0%
สูตรที่ 4 เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในสูตรอาหารที่ระดับ 6.0%
สูตรที่ 5 เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในสูตรอาหารที่ระดับ 8.0 %

สูตรที่ 6 อาหารทางการค้า

2.2.2 การเตรียมวัตถุดิบอาหารปลา

1) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้ง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (2016) สำหรับปริมาณคาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) คำนวณจาก 100 -

(โปรตีน + ไขมัน + เยื่อใย + เถ้า) องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้งแห้งมีโปรตีน 17.08 เปอร์เซ็นต์ รายละเอียดขององค์ประกอบทางเคมีในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ใช้สำหรับผลิตอาหารของปลาดุกรัสเซีย

องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้ง (เปอร์เซ็นต์)				
โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต
17.08	0.17	12.28	25.54	44.93

2) คำนวณสูตรอาหารปลาดุกรัสเซียให้มีระดับโปรตีน 30% และไขมัน 6% ซึ่งได้องค์ประกอบอาหารสำหรับทำอาหารปลาทดลองรายละเอียดตามตารางที่ 2

2.2.3 การผลิตอาหารทดลอง

1) เตรียมวัตถุดิบที่นำมาเป็นส่วนผสมในสูตรอาหาร

2) ชั่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามสูตรอาหารแต่ละสูตรใส่ในถุงพลาสติกโดยผลิตอาหารสูตรละ 10 กิโลกรัม

3) ผสมส่วนประกอบวัตถุดิบที่มีลักษณะแห้งผสมเข้าด้วยกันด้วยมือแล้วเทลงเครื่องผสมอาหาร นาน 10 นาที เติมน้ำมันพืชแล้วผสมให้ส่วนผสมเข้ากันดีประมาณ 10-15 นาที แล้วจึงเติมน้ำสะอาดประมาณ 30-35% จากนั้นทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 10-15 นาที ในเครื่องอัดอาหารเม็ดลอย

4) อัดอาหารและปล่อยอาหารออกจากเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยปล่อยด้วยความเร็ว 83.08 รอบ/วินาที และ ตัดด้วยความเร็ว 59.17 รอบ/วินที

5) อบอาหารที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 – 8 ชั่วโมง

6) เก็บอาหารทดลองที่ผ่านกระบวนการอบแล้วร่อนเพื่อกำจัดเศษอาหารผงออกไป บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้ที่ตู้เย็นในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

7) นำอาหารทดลองของแต่ละชุดการทดลอง ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เยื่อใยและเถ้า

ตารางที่ 2 องค์ประกอบอาหารสำหรับการผลิตอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย (กรัม/100 กรัมอาหาร)

วัตถุดิบ	เสริมสาหร่ายในสูตรอาหาร				
	0%	2%	4%	6%	8%
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

2.2.4 การเตรียมปลาทดลองและระบบการเลี้ยง

นำพันธุ์ปลาดุกรัสเซียมาจากฟาร์มปลาเอกชน จำนวน 500 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุ่มชั่งน้ำหนักปลา ได้น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 11.24 กรัม/ตัว ใส่ลงในถังทดลอง จำนวน 30 ตัว/ถัง ถังทดลองขนาดความจุน้ำ 200 ลิตร เติมน้ำปริมาตร 100 ลิตร ให้ออกซิเจนตลอดเวลาเพื่อให้ปลาสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเป็นระยะเวลา 1 วัน หลังจากนั้นทำการคัดขนาดปลาเริ่มต้นทดลองโดยชั่งปลาเริ่มต้นรายตัว จำนวน 30 ตัว/ถัง บันทึกข้อมูลน้ำหนักเริ่มต้น และหาค่าเฉลี่ยเริ่มต้นของปลานิลที่ทดลองในระหว่างการทดลองให้อาหารโดยให้กินจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง/วัน เวลา 08.30 น. และ 17.30 น. เปลี่ยนถ่ายน้ำ และทำความสะอาดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในช่วงบ่ายก่อนการให้อาหาร

2.2.5 การเก็บรวบรวมข้อมูลด้านการเจริญเติบโต

1) ตรวจสอบพฤติกรรมลักษณะอาการของปลา ในช่วงระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของปลาและลักษณะผิดปกติภายนอกที่อาจเกิดขึ้น เช่น การเป็นแผลจากการกัดกันเอง การติดเชื้อ ฯลฯ

2) ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซียหลังจากที่ปลาดุกรัสเซียได้รับอาหารจากการทดลองของแต่ละสูตรที่แตกต่างกันทุก 15 วัน ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 60 วัน โดยชั่งน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น บันทึกจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการรอดตาย บันทึกปริมาณการกินอาหารของปลาเพื่อคำนวณหาอัตราการแลกเนื้อได้โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

อัตราการรอดตาย (survival rate%)

= จำนวนปลาที่เหลือ x 100

จำนวนปลาเริ่มต้น

น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain กรัม/ตัว)

= น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย – น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate : SGR %/วัน)

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

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily growth : ADG กรัม/ตัว)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาสิ้นสุด} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio : FCR)

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

$$\text{น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม/ตัว)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด}}{\text{จำนวนตัว}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กินไป}}$$

3) การศึกษาองค์ประกอบของเลือด

(1) ใช้เข็มฉีดยา ขนาด 1 มิลลิลิตร. ล้างด้วย EDTA เพื่อไม่ให้เลือดเกิดการแข็งตัวในหลอดฉีดยา

(2) ดูดเลือดปลาตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร. ใส่ในหลอด eppendrop ขนาด 1 มิลลิลิตร

(3) การวิเคราะห์องค์ประกอบของเลือดปลาด้วยเครื่องนับเม็ดเลือด

4) การศึกษาดัชนีตับและดัชนีไขมัน

(1) ชั่งน้ำหนักปลาตัวอย่าง

(2) ผ่าปลาเพื่อนำตัวอย่างตับและไขมันชั่งน้ำหนัก

คำนวณดัชนีตับ และดัชนีไขมันจากสูตร Brown (1957) อ้างโดย รัตนสุดาและคณะ (2561)

$$\text{ค่าดัชนีตับ (Hepatosomatic index, HSI; \%)} = \frac{\text{น้ำหนักตับ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวปลา}}$$

$$\text{ค่าดัชนีไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวปลา}}$$

2.2.6 การศึกษาสีและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

(1) วัดสีเนื้อปลา

วัดสีเนื้อปลาดุกรัสเซียด้วยเครื่องวัดสี Chroma meter (Minolta CR-400) เปรียบเทียบค่าสีของเนื้อปลาดุกรัสเซียที่เปลี่ยนแปลง แบบ CIE L*a*b* และเมื่อสิ้นสุดการทดลองนำค่าที่ได้หาค่าสีที่เปลี่ยนแปลง ซึ่งค่า L*a*b* มีความหมาย ดังนี้ (หทัยรัตน์และนงนุช, 2555)

โดยกำหนดให้ L* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าอยู่ระหว่าง 0 -100

แกน a*ที่เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีแดง, แกน a* ที่ – สีจะเป็นไปในทิศทางสีเขียว

แกน b*ที่เป็น + สีจะเป็นไปในทิศทางสีเหลือง, แกน b* ที่ – สีจะเป็นไปในทิศทางสีน้ำเงิน

(2) การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

นำปลาดุกรัสเซียมาแล่เอาส่วนที่เป็นเนื้อ นำมาบดด้วยโกร่งบดจนละเอียดมาวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ (ดัดแปลงจาก KMUTT (2001) อ้างโดย ขจรเกียรติ์และคณะ(2550)

(1) ชั่งน้ำหนักเปียกเนื้อปลา 3 กรัม

(2) เติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 9 กรัม บดจนแห้งเป็นผงละเอียด

(3) เติมเอทานอล 95 % ลงไป 20 มิลลิลิตร กับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 60 % ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 – 4 ครั้ง จนสารละลายที่บดเนื้อปลาเป็นสีใส

(4) เก็บสารละลายส่วนใสไว้ในขวดสีชา เพื่อป้องกันการถูกละลายจากแสง และเท่าใส่กระบอกตวงเพื่อดูปริมาตรที่ได้

(5) เติมไดเอทิลอีเทอร์ ในอัตรา 1:1 ของเอทานอลในข้อ 4

(6) เติมโซเดียมคลอไรด์ 9 % ลงไปเพื่อแยกชั้น เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกแล้วปล่อยชั้นสีขาวขุ่นส่วนชั้นล่างทิ้งไปเก็บชั้นสีใสของแคโรทีนอยด์ไว้

(7) เติมโซเดียมคลอไรด์ 9 % แล้วเขย่า และตั้งทิ้งให้แยกชั้นสีใสและสีเหลืองปล่อยชั้นสีใสทิ้งเก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ไว้

(8) ตวงสารสกัดจากเนื้อปลาด้วยกระบอกตวง และจดบันทึกปริมาตร

คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์โดยการนำสารสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Biodrop) แล้วบันทึกผล และคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตร KMUTT (2001) อ้างโดย ขจรเกียรติ์ และคณะ (2550) ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g cell dry weight)} = \frac{A_{450} \times \text{ปริมาตรสารสกัด} \times 1000}{260 \times \text{มิลลิกรัมของสาหร่ายแห้ง}}$$

2.2.6 การศึกษาการป้องกันภาวะออกซิเดชันในปลาดุกรัสเซีย

ทำการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาดุกที่ทำการเลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 60 และ 75 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างตับ เพื่อวัด lipid peroxides หรือวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondehyde; MDA) และ ปริมาณกลูตาไธโอน (Glutathione: GSH) ที่บ่งบอกภาวะ oxidative stress โดยวิธี enzymatic assay โดยใช้ commercial kit รายละเอียด ดังนี้

(1) การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit ของบริษัท 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 ℃ ที่ระดับความเร็ว 13,000 *xg* เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใส 200 ไมโครลิตร ผสมกับสาร thiobarbituric acid (TBA) ที่ละลายใน Glacial Acetic Acid ปริมาตร 600 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 95 ℃ เป็นเวลา 60 นาที (ป้องกันตัวอย่างจากแสงภายนอก) ตั้งสารละลายให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1600 g ที่อุณหภูมิ 4 ℃ เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate วัดด้วยค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของ MDA Standard โดยคำนวณค่าความความเข้มข้นของ MDA จากสมการ

$$\text{Concentration of MDA for samples (nmole/ mL)} = (S_a/S_V) \times D$$

S_a = Amount of MDA in unknown sample (nmole) from standard curve

S_V = Sample volume (ml) added into the wells

D = Sample dilution factor (if applicable)

(2) การวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวม เป็นการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมชนิด GSSG+GSH ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Glutathione Assay Kit ของ Sigma-Aldrich (CS 0260) โดยวิเคราะห์จากตัวอย่างตับ ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ ผ่าตัดตับปลาแล้วล้างด้วย PBS buffer และชั่งน้ำหนัก 0.05 กรัม ใส่ในหลอด microtube และแช่ตัวอย่างในน้ำแข็งแห้งเพื่อให้ตัวอย่างแข็งทันที บดด้วยสารละลาย 5-Sulfosaicylic acid (SSA) ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง และตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 2-4 ℃ นาน 10 นาที แล้วปั่นที่ความเร็ว 10,000 xg ที่อุณหภูมิ 4° C นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสที่ได้เจือจางความเข้มข้นตามความเหมาะสม (5x) และวัดปริมาณ GSH รวมนำตัวอย่างสารสกัด 10 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับกับชุดน้ำยาสำเร็จรูป (cocktail, Working mixture) 150 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย buffer, co-factor mixture, enzyme mixture, DTNB (dithiobis (2-nitrobenzoic acid) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติม NADPH solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร แบบ kinetic reaction วัดทุก ๆ 30 วินาที นาน 5 นาที คำนวณค่า total glutathione (GSH) โดย

เทียบจากกราฟมาตรฐานของ GSH standard stock solution นำตัวอย่างที่ได้วัดปริมาณโปรตีนโดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างตามวิธี Lowry et al., 1951 คำนวณปริมาณกลูตาไธโอนรวมจากสมการ

$$\text{nmole GSH per ml of sample} = \frac{\text{A412 /min (sample)} \times \text{dil}}{\text{A412/min (1 nmole)} \times \text{vol}}$$

A412/min (sample) = slope generated by sample (after subtracting the values generated by the blank reaction)

A412/min (1 nmole) = slope calculated from standard curve for 1 nmole of GSH

dil = dilution factor of original sample

vol = volume of sample in the reaction in mL

2.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ องค์ประกอบของเม็ดเลือด ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม สีของเนื้อปลา มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า (analysis of valance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้การเปรียบเทียบวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 3

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1 การศึกษาภูมิปัญญาการเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่จังหวัดกระบี่

การศึกษาภูมิปัญญาการเลี้ยงสาหร่ายในพื้นที่จังหวัดกระบี่ พบว่ามีเพียง 2 อำเภอ คืออำเภอคลองท่อม และเหนือคลอง ที่มีการเลี้ยงซึ่งเป็นการเลี้ยงแบบไม่ประณีต สำหรับรูปแบบที่มีการเลี้ยงสาหร่ายสำหรับจำหน่ายเพียง 3 รูปแบบ ได้แก่ การเลี้ยงในปล้องบ่อปูนขนาดเล็ก การเลี้ยงในโอ่ง และในบ่อดิน ซึ่งการเลี้ยงทุกรูปแบบเป็นการเลี้ยงแบบหว่าน (ภาพที่ 2) คือ ปล่อยให้สาหร่ายส่วนที่ไม่ต้องการไว้ในภาชนะที่เลี้ยง แล้วให้มีการเจริญเติบโตเองตามธรรมชาติ มีน้อยครั้งที่มีการเติมปุ๋ยมูลสัตว์ลงไปบ้าง ส่วนใหญ่แล้วการขายหรือการเก็บมารับประทานนั้นได้เก็บจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 2 รูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้ง (ก ข)และการเก็บสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติ (ค) ในจังหวัดกระบี่

3.2 การพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งแบบแบบอินทรีย์ในโรงเรือน

จากการศึกษาเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำที่ระดับต่างกันต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายก้ามกุ้งเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตในโรงเรือน ได้ผลการศึกษา ดังนี้

3.2.1 การเลี้ยงด้วยในกระบะไฟเบอร์

การเลี้ยงด้วยวิธีการปลูกในกระบะไฟเบอร์ขนาดปริมาตรน้ำได้ 200 ลิตร ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ได้ผลการศึกษาดังนี้

3.2.1.1 ความเจริญเติบโตของสาหร่าย

(1) ความยาว น้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้งของสาหร่ายก้ามกุ้ง

ผลของวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้านความยาวแทลลัสของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีความยาวเฉลี่ยสูงที่สุดและชุดการทดลองที่ 2 มีค่าความยาวเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 57.57±20.60 และ 14.96±1.66 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งของสาหร่ายชุดการทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยที่สุด ส่วนชุดการทดลองที่ 2 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งต่ำสุด (ตารางที่ 3)

(2) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR)

ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งพบว่าชุดการทดลองที่ 3 สาหร่ายมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.35±2.53 กรัมต่อวันและ 4.00±1.73 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 2 สาหร่ายมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายต่ำที่สุด (ตารางที่ 3) จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้ เมื่อพิจารณาในหลายประเด็นข้างต้น จึงสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของปุ๋ยน้ำอินทรีย์ที่เหมาะสมคือ 0.15 มิลลิลิตรต่อลิตร และได้นำความเข้มข้นนี้ไปศึกษาการเลี้ยงในรูปแบบอื่นๆ ต่อไป

ตารางที่ 3 ความยาว น้ำหนักแห้ง น้ำหนักเปียก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ความยาว (ซม.)	น้ำหนักแห้ง (ก.)	น้ำหนักเปียก (ก.)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ก.ต่อวัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%ต่อวัน)
1	20.63±2.95^{a}	2.34±1.05	59.50±27.75^{ab}	0.71±0.92^{ab}	1.27±1.44^{ab}
2	14.96±1.66^{a}	1.78±0.48	38.33±10.68^{a}	0.01±0.35^{a}	-0.05±0.88^{a}
3	55.47±13.16^{b}	4.01±1.97	138.67±75.98^{b}	3.35±2.53^{b}	4.00±1.73^{b}
4	54.57±20.60^{b}	2.87±1.33	84.91±57.49^{ab}	2.17±1.65^{ab}	2.98±1.96^{ab}

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2) ปริมาณรงควัตถุและสีของสาหร่าย

ปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยน้ำอินทรีย์ระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณสูงที่สุด เท่ากับ 1.02±0.20 และ 0.66±0.15 mg/g cell dw ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

จากผลของการวัดค่าสีของสาหร่ายที่เลี้ยงพบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง(b*) ของสาหร่ายทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 3 มีค่าความสว่างมากที่สุด สำหรับค่าสีแดง (a*) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 ให้ค่าสีเขียวมากที่สุด ส่วนค่าสีเหลือง(b*) นั้นชุดการทดลองที่ 3 มีค่าความสว่างมากที่สุด (ตารางที่ 4)

จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้ เมื่อพิจารณาในหลายประเด็นข้างต้น จึงสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของปุ๋ยน้ำอินทรีย์ที่เหมาะสมคือ 0.15 มิลลิลิตรต่อลิตร และได้นำความเข้มข้นนี้ไปศึกษาการเลี้ยงในรูปแบบอื่นๆ ต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในกระบะไฟเบอร์

ชุดการทดลอง	ปริมาณรงควัตถุ		สีของสาหร่าย		
	คลอโรฟิลล์เอ (mg/g dw)	แคโรทีนอยด์รวม (mg/g dw)	*L**	*a**	*b**
1	0.67±0.30	1.40±1.36	20.31±2.37	-9.98±1.65^{ab}	16.85±4.48
2	1.00±0.02	1.64±3.00	17.37±0.74	-8.20±1.26^{b}	13.34±1.86
3	1.02±0.20	1.66±0.15	20.87±2.76	-11.35±2.11^{a}	18.71±3.76
4	0.97±0.44	1.37±0.23	19.35±1.09	10.28±1.74^{ab}	17.23±1.08

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.2.2 การเลี้ยงในบ่อปูนซีเมนต์

ทำการเลี้ยงสาหร่ายด้วยปุ๋ยอินทรีย์น้ำในบ่อซีเมนต์ที่มีปริมาตรน้ำ 800 ลิตร ซึ่งมีการเลี้ยง 3 รูปแบบ (ชุดการทดลอง) เป็นระยะเวลา 60 วัน ได้ผลการศึกษา ดังนี้

3.2.2.1 ความเจริญเติบโตของสาหร่าย

(1) น้ำหนักเปียก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

การศึกษาการเจริญเติบโตของ 3 รูปแบบการเลี้ยง พบว่า น้ำหนักของสาหร่ายทั้งน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยพบว่าการเลี้ยงแบบหว่าน(ชุดการทดลองที่ 1) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด และการเลี้ยงแบบตะกร้าให้น้ำหนักสาหร่ายน้อยที่สุด (ชุดการทดลองที่ 2) (ตารางที่ 5) ส่วนค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งทั้งสามรูปแบบการเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งพบว่าชุดการทดลองที่ 1 เป็นการเลี้ยงแบบหว่าน มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด ส่วนรูปแบบการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้านั้นมีค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 น้ำหนักเปียก อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเปียก (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน)
1:หว่าน	873.50±459.32	16.98±10.93	3.83±1.17
2:ตะกร้า	674.33±94.00	12.24±2.23	3.40±0.33
3:ปลูก	796.00±195.86	15.14±4.66	3.76±0.64

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

(2) ปริมาณรงควัตถุและสีของสาหร่าย

ปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยน้ำอินทรีย์ระยะเวลา 60 วัน ในบ่อซีเมนต์ที่มีรูปแบบการเลี้ยงที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มากที่สุดในชุดการทดลองที่ 2 (เลี้ยงในตะกร้า) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่เลี้ยงในชุดการทดลองในตะกร้ามากที่สุด (ตารางที่ 6) และแคโรทีนอยด์รวมในสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณสูงที่สุด เท่ากับ 0.54±0.04 mg/g cell dw ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ค่าสีของสาหร่ายที่เลี้ยงใน 3 รูปแบบนั้น พบว่าค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง(b*) ของสาหร่ายทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยชุดการทดลองที่ 3 มีค่าความสว่างมากที่สุด ค่าสีเหลืองนั้นการเลี้ยงแบบปลูก(ชุดการทดลองที่ 3) นั้นมีค่ามากที่สุด สำหรับค่าสีแดง (a*) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 ให้ค่าสีเขียวมากที่สุด (ค่าลบมากที่สุด) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในบ่อปูนซีเมนต์

ชุดการทดลอง	ปริมาณรงควัตถุ		สีของสาหร่าย		
	คลอโรฟิลล์เอ (mg/g dw)	แคโรทีนอยด์รวม (mg/g dw)	*L**	*a**	*b**
1	3.83±0.24	0.46±0.05	20.31±2.37	-9.98±1.65^{ab}	16.85±4.48
2	3.89±1.76	0.54±0.04	17.37±0.74	-8.20±1.26^{b}	13.34±1.86
3	3.79±0.79	0.43±0.29	20.87±2.76	-11.35±2.11^{a}	18.71±3.76

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.2.3 การเลี้ยงด้วยวิธีการปลูกในท่อปูนซีเมนต์

3.2.3.1 ความเจริญเติบโตของสาหร่าย

(1) น้ำหนักเปียก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

การศึกษาการเจริญเติบโตของ 4 รูปแบบการเลี้ยงในท่อซีเมนต์ปริมาตรน้ำ 100 ลิตร พบว่าน้ำหนักเปียกของสาหร่ายทั้งน้ำหนักเปียก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

โดยพบว่าการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้าตื้น (ชุดการทดลองที่ 1) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด ส่วนการปลูกมีน้ำหนักของสาหร่ายน้อยที่สุดและการเลี้ยงแบบตะกร้าให้น้ำหนักสาหร่ายน้อยที่สุด (ชุดการทดลองที่ 4) มีน้ำหนักมากที่สุด (ตารางที่ 7) ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งทั้งสี่รูปแบบการเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งพบว่าชุดการทดลองที่ 4 เป็นการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้า มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด สำหรับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ นั้นมีค่าแตกต่างกัน

ทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้าตื้น(ชุดการทดลองที่ 4) มีค่าอัตราการอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 น้ำหนักเปียก อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในท่อปูนซีเมนต์

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเปียก (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน)
1:หว่าน	67.33±37.98	0.83±0.63	2.03±0.89^{ab}
2:ปลูก	44.16±28.07	0.43±0.46	1.29±0.97^{a}
3:ตะกร้าลึก	101.16±25.28	1.38±0.42	2.84±0.44^{b}
4:ตะกร้าตื้น	106.50±40.16	1.47±0.76	2.86±0.66^{b}

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.2.3.2 สีของสาหร่าย

ค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงใน 4 รูปแบบในท่อซีเมนต์เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่ามีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ของสาหร่ายทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยชุดการทดลองที่ 3 มีค่าความสว่างมากที่สุด ค่าสีแดง นั้นการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้าลึก (ชุดการทดลองที่ 3) นั้นมีค่ามากที่สุด สำหรับค่าสีเหลือง โดยพบว่าสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 ให้ค่าสีเหลืองมากที่สุด (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงท่อซีเมนต์

ชุดการทดลอง	สีของสาหร่าย		
	*L**	*a**	*b**
1	18.20±2.41	-10.07±0.77	15.15±1.59
2	19.38±1.62	-9.65±2.43	15.16±4.23
3	21.88±1.43	-10.87±1.94	19.48±2.60
4	17.82±2.62	-8.62±1.33	16.68±2.60

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

3.2.4 การเลี้ยงสาหร่ายในตะกร้าที่แตกต่างกัน

3.2.4.1 ความเจริญเติบโตของสาหร่าย

(1) น้ำหนักเปียก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

การศึกษาการเจริญเติบโตของ 4 รูปแบบการเลี้ยงในท่อซีเมนต์ปริมาตรน้ำ 100 ลิตร พบว่าน้ำหนักเปียกของสาหร่ายทั้งน้ำหนักเปียก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

โดยพบว่าการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้าตื้น (ชุดการทดลองที่ 1) มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด ส่วนการปลูกมีน้ำหนักของสาหร่ายน้อยที่สุดและการเลี้ยงแบบตะกร้าให้น้ำหนักสาหร่ายน้อยที่สุด (ชุดการทดลองที่

4) มีน้ำหนักมากที่สุด (ตารางที่ 9) ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งทั้งสี่รูปแบบการเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งพบว่าชุดการทดลองที่ 4 เป็นการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้า มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด สำหรับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ นั้นมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการเลี้ยงแบบใส่ตะกร้าตื้น (ชุดการทดลองที่ 4) มีค่าอัตราการอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในตะกร้าที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัมต่อวัน)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ร้อยละต่อวัน)
1	1.33±0.40[a]	0.79±0.11[a]
2	0.98±0.84 [b]	0.56±0.47 [b]
3	0.40±0.18 [b]	0.42±0.14 [b]
4	0.37±0.14[b]	0.41±0.11[b]

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 10 ปริมาณรงควัตถุและค่าสีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในตะกร้า

ชุดการทดลอง	ปริมาณรงควัตถุ		สีของสาหร่าย		
	คลอโรฟิลล์เอ (mg/g dw)	แคโรทีนอยด์รวม (mg/g dw)	*L**	*a**	*b**
1	11.20±0.17[b]	1.43±0.52[a]	20.23±1.54	-7.55±0.35[b]	18.32±0.99[b]

2	10.20±1.25 [b]	1.01±0.14[ab]	28.79±1.16	-8.57±0.95[a]	18.87±0.59[b]
3	10.35±2.54[b]	0.75±0.11[ab]	29.93±0.46	-7.38±0.35[b]	17.69±0.39[b]
4	14.98±0.08[a]	0.88±0.14[b]	29.03±2.62	-7.21±0.19[b]	14.62±1.88[a]

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลของความเข้มข้นของปุ๋ยอินทรีย์น้ำต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในกระบะไฟเบอร์พบว่า พบว่าทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในน้ำมีระดับสารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการและมีคุณภาพน้ำที่เหมาะสมทำให้สาหร่ายดำรงชีวิตอยู่ได้ ทั้งนี้มีแนวโน้มว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีความต้องการสารอาหารเช่นเดียวกับสาหร่ายไก (*Cladophora*) ซึ่งศิริเพ็ญและคณะ(2553)ได้รายงานว่าสาหร่ายไกสามารถเจริญเติบโตได้ในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารต่ำมาถึงแหล่งน้ำที่มีสารอาหารสูง ยกเว้นด้านความยาวของแทลลัสที่เลี้ยงด้วยระดับ 100 มก./ล. มีแนวโน้มว่าสาหร่ายเจริญได้ดีเนื่องจากในน้ำมีฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำหรือออร์โธฟอสเฟตสูงที่สุด ในชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีความเข้มข้นของปุ๋ยสูงที่สุดส่งผลให้ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดและสูงกว่าชุดควบคุมที่เป็นปุ๋ยนา สอดคล้องกับการรายงานของ Shaw *et al* (2009) ที่รายงานว่าปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายหรือพืชน้ำ คือฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำและสารประกอบไนโตรเจนในน้ำ แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าสาหร่ายในชุดการทดลองที่ 3 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด แต่เมื่อปุ๋ยในน้ำมีความเข้มข้นสูงส่งผลให้มีสาหร่ายน้ำจืดอื่นๆที่เป็นเส้นสายมาปนเปื้อนมาก ประกอบกับการเติมปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นตัวช่วยให้มีการปนเปื้อนสาหร่ายชนิดอื่นๆ ร่วมด้วยเช่น สาหร่ายไก

จากผลการทดลองที่ 1 ได้นำมาปรับใช้ในการทดลองเพื่อหารูปแบบที่เหมาะสมในการเลี้ยงสาหร่ายในบ่อปูนซีเมนต์ขนาด 1 ตัน เติมน้ำ 800 ลิตร ซึ่งได้ใช้ความเข้มข้นของปุ๋ยน้ำที่ระดับ 0.15 มิลลิลิตรต่อลิตร เติมปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง พบว่ารูปแบบที่ทำให้สาหร่ายเติบโตดีที่สุดการหว่าน ส่วนรูปแบบการเลี้ยงในท่อซีเมนต์ขนาด 100 ลิตร (ในการทดลองที่ 3) นั้น การเลี้ยงด้วยตะกร้าที่ตื้นให้ผลของการเจริญเติบโตดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากท่อทรงกระบอกนั้นความลึกของน้ำทำให้แสงส่องลงไปใน

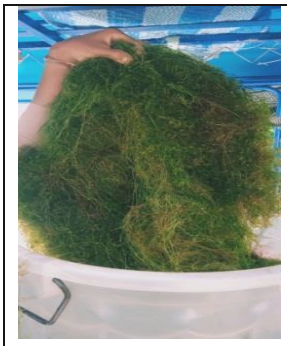
ด้านล่างได้น้อยส่งผลให้การเติบโตของสาหร่ายที่เลี้ยงในด้านล่างของท่อที่เลี้ยงแบบหว่านและการปลูก จึงเจริญเติบโตได้น้อยกว่า ส่วนการทดลองที่ 4 นั้นได้ผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดลองที่ 3 ซึ่งพบว่าตะกร้าที่มีความลึกของน้ำน้อยจะส่งให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีกว่าตะกร้าที่มีความลึกของน้ำมาก อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงในครั้งนี้ถือได้ว่ามีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*) ที่ด้วยปุ๋ยเคมี 16-16-16 ในบ่อซีเมนต์และถังพลาสติก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 33.5±0.7 และ 32.3±1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (แวมารือนี และคณะ, 2560)

2. ปริมาณรงควัตถุและสีของสาหร่าย

หลังจากการเก็บเกี่ยวสาหร่ายที่เลี้ยงได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในเซลล์ของสาหร่าย พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในกระบะไฟเบอร์เป็นเวลา 30 วัน การเลี้ยงในสามรูปแบบในบ่อปูนซีเมนต์ นั้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์รวมในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่การเลี้ยงในตะกร้าที่แตกต่างกันในท่อซีเมนต์นั้นมีความแตกต่างกันทุกชุดการทดลองและทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์เอและแคโรทีนอยด์รวม ทั้งนี้พบว่าชุดการทดลองที่สาหร่ายเจริญเติบโตดีที่สุดจะส่งผลให้ปริมาณรงควัตถุมีค่าสูงที่สุดด้วย (ตารางที่ 10)

จากข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปัจจัยการผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายไม่ได้สอดคล้องกับปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำ ซึ่งรายงานต่างๆที่กล่าวว่าฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย (Shaw et al, 2009) มีความเป็นไปได้ว่าปัจจัยด้านแสงของการศึกษาในครั้งนี้จะมีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในเซลล์สาหร่ายมากกว่าปริมาณฟอสเฟตในน้ำ อย่างไกก็ตามหากต้องการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย จึงควรเพิ่มฟอสเฟตฟอสฟอรัสได้เช่นเดียวกับสาหร่ายไก (Khuantrairong and Traichaiyaporn, 2012) นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มว่าหากเพิ่มฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส สามารถยังช่วยเพิ่มโปรตีน วิตามินเอ แคลเซียมได้ เช่นเดียวกับสาหร่ายไกได้ (Khuantrairong and Traichaiyaporn 2011; 2012) ซึ่งต้องมีการศึกษารูปแบบการเลี้ยงเพื่อเพิ่มมูลค่าของสาหร่ายชนิดนี้ต่อไป

จากผลของการวัดค่าสีของสาหร่ายที่เลี้ยงในทุกรูปแบบการเลี้ยงพบว่านั้นไม่มีความแตกต่างกันตามรูปแบบการเลี้ยง สำหรับการเลี้ยงกระบะไฟเบอร์ ปูนซีเมนต์ ท่อปูนซีเมนต์ พบว่า ค่าสีแดง (a*) ของทุกชุดการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับการเลี้ยงในตะกร้าทั้งสี่รูปแบบ พบว่า ค่าสีแดง(a*) และ ค่าสีเหลือง(b*) มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายทั้งหมดของการศึกษาครั้งนี้พบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงในโรงเรือนมีลักษณะของแทลลัสที่น่ารับประทานกว่าสาหร่ายที่เจริญอยู่ตามธรรมชาติ (ภาพที่ 3)



(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

(จ)

ภาพที่ 3 สีของแทลลัสสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติ (ก) และสาหร่ายที่เลี้ยงในโรงเรือน(ข-ง) และการวัดสีของสาหร่าย(จ)

รูปแบบการเลี้ยงต่อการขยายพันธุ์ของสาหร่ายก้ามกุ้งจากข้อมูลที่ได้ศึกษาในครั้งนี้ เมื่อพิจารณาใน ด้านสีของสาหร่ายที่เลี้ยงพบว่าทุกรูปแบบจะส่งผลให้แทลลัสของสาหร่ายจะให้ค่าสี และค่าความสว่าง(L*) ไม่แตกต่างกันและสูงกว่าสาหร่ายในธรรมชาติ ซึ่งอัฏฐพร (2558) ได้รายงานว่าแทลลัสของสาหร่ายก้ามกุ้งในธรรมชาติมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวแก่ สาหร่ายมีค่าของปริมาณรงควัตถุทั้งปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ และแคโรทีนอยด์สูงกว่าธรรมชาติ ซึ่งหากนำบริโภคก็จะส่งผลให้มีผลดีต่อสุขภาพคือให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากรงควัตถุดังกล่าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี (ศิริธร ,2557) อย่างไรก็ตามเนื่องจากการทดลองครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกของการขยายพันธุ์ในส่วนของสาหร่ายไฟ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดลองในปุ๋ยหลายชนิดเพื่อเป็นแนวทางในการหารูปแบบที่เหมาะสมที่สุดทั้งนี้จะพบว่าชนิดของปุ๋ยจะมีผลต่อสีของสาหร่ายได้เช่น แวมารือนี (2561) ได้รายงานว่าสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*) ที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมีที่แตกต่างกันส่งผลให้ค่าสีของสาหร่ายแตกต่างกัน ซึ่งสาหร่ายหรือพืชน้ำแต่ละชนิดต้องการปุ๋ยสูตรต่างๆกัน เช่น ไข่น้ำที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตร 16-16-16 มีการเติบโตดีที่สุด (กันย์สินี, 2552) สาหร่ายคาบอมบ้า(*Cabomba caroliniana*) ที่เลี้ยงด้วยปุ๋ยสูตร 25-5-5 การเจริญเติบโตดีที่สุด (กมลพร และคณะ,2556) รวมทั้งสาหร่ายสาหร่ายไส้ไก่(*Ulva intestinalis*) เจริญเติบโตในน้ำได้ดีที่สุดในระดับอัตราส่วน ไนโตรเจน: ฟอสฟอรัส เท่ากับ 600:60 (Fong *et al*, 2004 อ้างตาม ชนัดดาและคณะ (2551) ทั้งนี้ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งเพื่อการประโยชน์ในด้าน

ต่างๆแล้ว ยังจะเป็นการช่วยอนุรักษ์สายพันธุ์ของสาหร่ายชนิดนี้ที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในปัจจุบัน

2.3.องค์ประกอบเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยง

ทำการรวบรวมสาหร่ายที่ได้จากการเลี้ยงด้วยปุ๋ยอินทรีย์น้ำ มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายได้เปลี่ยนแปลงไปทุกพารามิเตอร์ แต่ที่น่าสนใจคือ ปริมาณโปรตีน ไขมัน ที่เพิ่มขึ้นมากทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสาหร่ายได้ปุ๋ยที่มีธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่มากขึ้นกว่าในแหล่งน้ำธรรมชาติ (ตารางที่ 11) ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจว่าสาหร่ายชนิดนี้เมื่อนำมาเลี้ยงในโรงเรือนจะมีค่าที่ดีขึ้นคือปริมาณโปรตีน หากนำมาบริโภคก็จะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพเทียบเท่าหรือสูงกว่าโปรตีนจากเนื้อปลา

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์) ของสาหร่ายก้ามกุ้งจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงด้วยระบบอินทรีย์

องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)	สาหร่ายจากธรรมชาติ	สาหร่ายจากการเลี้ยง
โปรตีน	17.08	23.35±0.24
ไขมัน	0.17	1.56±0.17
เยื่อใย	12..28	13.74±0.29
เถ้า	25.54	27.24±0.21
คาร์โบไฮเดรต	44.93	47.99
ความชื้น	-	13.36±0.43

3.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายก้ามกุ้ง

3.3.1 การศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมี

(1) สารประกอบฟีนอลิกรวม

จากผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid ซึ่งมีสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Y) กับความเข้มข้นของ gallic acid (X) คือ Y = 81.233 x + 0.0183 และมีค่า r^2 = 0.9913 พบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดน้ำซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1 โดยสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งจากการเพาะเลี้ยงปริมาณ 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับ gallic acid เท่ากับ และ 8.99±0.15 มิลลิกรัมสมมูลย์ของ gallic acid /น้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract) ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สกัดออกมาได้มีปริมาณที่แตกต่างกันเนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีสภาพขั้วแตกต่างกันส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดออกมาได้มีปริมาณต่างกัน สอดคล้องกับวริศรา และคณะ (2553) ที่กล่าวว่าคุณสมบัติการมีขั้วและไม่มีขั้วของตัวทำละลายมีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้แตกต่างกัน จากการวิจัยในครั้งนี้พบว่า สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้ปริมาณมากที่สุดแต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสาหร่ายก้ามกุ้งชนิดเดียวกันที่เก็บมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่ายังมีค่าน้อยกว่า ซึ่งสารสกัดเอทธิลอะซิเตท เอทานอลและเมทานอลของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เก็บมาจากธรรมชาติมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 36.089±0.55, 22.503±0.52 และ 13.316±0.12 mg GAE/g extract (วรรณิณี และคณะ, 2563) และยังมีค่าน้อยกว่าสารสกัดน้ำของสาหร่ายไกที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีค่าเท่ากับ16.33±0.17 mg GAE/g extract (ดวงพร และคณะ, 2558)

(2) สารฟลาโวนอยด์รวม

จากผลการทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ quercetin (ภาพผนวกที่ 2) ซึ่งมีสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Y) กับความเข้มข้นของ quercetin (X) คือ Y = 4.179x + 0.017 และมีค่า r^2 = 0.996 พบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าสารสกัดน้ำซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 12 โดยสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งจากการเพาะเลี้ยงปริมาณ 1 กรัม มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับ quercetin เท่ากับ และ 4.71±0.11 มิลลิกรัมสมมูลย์ของ quercetin /น้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg QE/g extract) ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมที่สกัดออกมาได้มีปริมาณที่แตกต่างกันโดยตัวทำละลาย??? สามารถสกัดสารฟลาโวนอย์ออกมาได้ปริมาณมากที่สุดแต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสาหร่ายก้ามกุ้งชนิดเดียวกันที่เก็บมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่ายังมีค่าน้อยกว่า ซึ่งสารสกัดเอทธิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอลของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เก็บมาจากธรรมชาติมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 14.409±0.22, 23.113±0.04 และ 30.363±0.08 mg QE/g extract (วรรณิณี และคณะ, 2563)

(3) สารแทนนินรวม

จากผลการทดสอบปริมาณสารแทนนินรวมของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ tannin ซึ่งมีสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Y) กับความเข้มข้นของ tannin (X) คือ Y = 5.4944x + 0.0128 และมีค่า r^2 = 0.992 พบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าสารสกัดน้ำซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 12 โดยสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งจากการเพาะเลี้ยงปริมาณ 1 กรัม มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับ tannin เท่ากับ และ 128.49±3.28 มิลลิกรัมสมมูลย์ของ tannin /น้ำหนักกรัมของสารสกัด (mg TE/g extract) ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมที่สกัดออกมาได้มีปริมาณที่แตกต่างกันโดยตัวทำละลาย สามารถสกัดแทนนินออกมาได้ปริมาณมากที่สุดและเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสาหร่าย

ก้ามกุ้งชนิดเดียวกันที่เก็บมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่ามีปริมาณสารแทนนินรวมสูงกว่าซึ่งสารสกัดเอทธิลอะซิเตท เอทานอลและเมทานอลของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เก็บมาจากธรรมชาติซึ่งมีปริมาณสารแทนนินรวม เท่ากับ 31.908±0.67, 28.976±0.39 และ 16.648±0.19 mg TE/g extract ตามลำดับ (วรรณิณี และคณะ, 2563) แต่น้อยกว่าสารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอของสาหร่ายขนนก (*Caulerpa recemosa*) ซึ่งมีปริมาณแทนนินรวมเท่ากับ 37.71±0.48, 136.44±2.22 และ 169.99±1.27 mg TAE/ g extract ตามลำดับ (Shibu & Dhanam, 2015)

ตารางที่ 12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวมและแทนนินรวมของสารสกัดหยาบสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยง

สารสกัด	ปริมาณสารพฤกษเคมี		
	สารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/ g extract)	สารฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/ g extract)	สารแทนนินรวม(mg TE/ g extract)
เอทานอล			
น้ำ	8.99±0.15	1.28±3.28	47.39±0.11

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

3.3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

(1) วิธี DPPH radical scavenging

ผลจากการทดสอบความสามารถในการจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบว่าสามารถจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ได้แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยสารสกัดน้ำมีความสามารถในการจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ได้ดีกว่าสารสกัดเอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.53±0.01 และ mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 13) และเมื่อนำมาเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสารสกัดของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทั้งสองตัวทำละลายมีความสามารถในการจับอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน (ตารางที่ 13)

(2) วิธี Scavenging activity of ABTS radical

ผลจากการทดสอบวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระกึ่งสังเคราะห์ เป็นอนุมูลที่นิยมใช้ในการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอีกวิธีหนึ่ง ผลจากการทดสอบพบว่าสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีความสามารถในการจับอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้ดีกว่าสารสกัดเอทานอล ซึ่งค่า IC_{50} ที่ได้มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.481±0.0 และ 0.756±0.00 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 13) เมื่อนำสารสกัดทั้งสองตัวทำละลายของสาหร่ายก้ามกุ้งมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.016±0.00 mg/mL (ตารางที่ 13) แต่มีความสามารถในการจับอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ได้ดีกว่าสารสกัดเอทธิลอะซิเตท เอทานอลและเมทานอลของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เก็บมาจากธรรมชาติซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.816±0.02, 1.160±0.07 และ 4.074±0.15 mg/ml ตามลำดับ (วรรณิณี และคณะ, 2563)

(3) วิธี Metal chelating activity

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการดักจับโลหะไอออนซึ่งจัดเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากโลหะไอออนโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งตัวโลหะไอออนนี้จะเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาเคมีของสารที่จะทำให้เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระต่างๆ ได้ ผลจากการทดสอบพบว่าสารสกัดทั้งสองตัวทำละลายมีความสามารถในการดักจับโลหะไอออนได้แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 13) โดยสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีความสามารถในการดักจับโลหะไอออนได้ดีกว่าสารสกัดเอทานอล ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.193±0.01 และ 0.966±0.02 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่ยังมีความความสามารถในการดักจับโลหะไอออนได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน EDTA ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037±0.01 mg/mL (ตารางที่ 13) มีแนวโน้มว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการดักจับโลหะไอออนคือ

สารในกลุ่มแทนนิน แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารสกัดสาหร่ายชนิดเดียวกันที่เก็บมาจากธรรมชาติ พบว่าสารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งจากการเพาะเลี้ยงมีความสามารถในการดักจับโลหะไอออนได้ดีกว่าสารสกัดเมทานอลของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เก็บมาจากธรรมชาติ ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.358±0.03 mg/ml มีน้อยกว่าสารสกัดเอทธิลอะซิเตทและเอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.098±0.00 และ 0.135±0.00 mg/ml ตามลำดับ (วรรณิณี และคณะ, 2563)

ตารางที่ 13 ค่า IC_{50} ในการจับอนุมูลอิสระทั้งสามวิธีของสารสกัดเอทานอลและน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้ง

สาหร่ายก้ามกุ้ง	IC_{50} (mg/ml)		
	การจับอนุมูล DPPH$^{\bullet}$	**การจับอนุมูล ABTS$^{\bullet+}$**	**การจับโลหะไอออน**
เอทานอล		0.756±0.00^{c}	0.966±0.02^{c}
น้ำ	0.53±0.01	0.481±0.01^{b}	0.193±0.01^{b}
สารมาตรฐาน	0.02±0.00	0.016±0.00^{a}	0.037±0.01^{a}
สารมาตรฐาน	ascorbic acid	Trolox	EDTA

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$)

สารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีความสามารถในการจับอนุมูล DPPH$^{\bullet}$, ABTS$^{\bullet+}$ และดักจับโลหะไอออนได้ดีแต่ยังมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน

3.3.3 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

สารสกัดน้ำของสาหร่ายก้ามกุ้งที่ได้จากการเลี้ยงนั้นมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง โดยสมารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ที่ความเข้มข้น 1.99±0.07 mg/ml (ตารางที่ 14) คิดเป็น 0.12 เท่าของยาต้านการอักเสบคือ diclofenac diethylammonium ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.24±0.01 mg/ml

ตารางที่ 14 ค่า IC_{50} ของการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินของสารสกัดสาหร่ายก้ามกุ้ง

สารสกัด	ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมินได้ร้อยละ 50 (mg/ml)
สารสกัดด้วยน้ำ	1.99±0.07
ยามาตรฐาน (Diclofenac diethylammonium)	0.24±0.01

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นผลจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย ± S.D.)

3.4 การประยุกต์ใช้เป็นสาหร่ายก้ามกุ้งเพื่อพัฒนาคุณภาพและสีของกินได้เป็นวัตถุดิบในอาหารปลาดุกรัสเซีย

3.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองซึ่งเป็นอาหารเม็ดลอยน้ำ ที่ผลิตขึ้นจากการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเป็นส่วนผสม โดยอาหารทดลองมีปริมาณของโปรตีนอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกันกับที่คำนวณสูตรอาหารไว้คือร้อยละ 30 (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย (ร้อยละ)

พารามิเตอร์	ชุดทดลอง				
	1 (0%)	2 (2%)	3 (4%)	4 (6%)	5 (8%)
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	2.15±0.32^{d}	3.46±0.14^{c}	3.59±0.12^{bc}	3.88±0.18^{b}	5.01±0.20^{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	9.35±0.88	8.95±0.09	9.21±0.23	8.73±6.40	8.71±1.70

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน

หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.4.1 การเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซีย

จากการทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซียด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับที่แตกต่างกันที่ได้ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าการเจริญเติบโต ด้านน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว ด้านน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, ด้านอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ของปลาที่ทุกระดับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับสูตรอาหารชุดควบคุม ส่วนในด้านอัตราการรอดตาย อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนนั้นความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับสูตรอาหารชุดควบคุม ทั้งนี้น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาสูงที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 และน้อยที่สุดในชุดการทดลองที่ 6 (อาหารทางการค้า) ส่วนน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตต่อวันนั้นพบว่าชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุดและสูตรอาหารทางการค้ามีค่าต่ำที่สุด ในส่วนของอัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าดีที่สุดในชุดการทดลองที่ 4 นอกจากนี้ในชุดการทดลองที่ 4 นั้นให้ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุดและดีกว่าอาหารชุดควบคุมและสูตรอาหารทางการค้า (ตารางที่ 16)

จากผลการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0 % ซึ่งการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ซึ่งข้อมูลที่ได้เป็นไปในทำนองเดียวกันกล่าวคือสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 6.0 % มีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดหลายประการโดยเฉพาะค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ซึ่งให้ค่าต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.95±0.26 และ 1.72±0.24 % รวมทั้งน้ำหนักของปลาที่เพิ่มขึ้นด้วยซึ่งอาจจะน้อยกว่าชุดควบคุมแต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ได้ผลใกล้เคียงกับการรายงานของ สุดาพร และคณะ (2555) ซึ่งได้รายงานผลการศึกษาการเจริญเติบโตและสีของเนื้อปลาบึกที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่าทดแทนปลาป่น โดยใช้สูตรอาหารที่ใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าทดแทนปลาป่น 0, 5, 10 และ 100% ผลการศึกษาพบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาบึกที่ให้อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 และ 10% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และมีความใกล้เคียงกับการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเลี้ยงปลานิล ซึ่งพบว่าระดับ 7.5 % เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด (วรรณิณี และคณะ, 2563 ข)

ตารางที่ 16 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว(กรัม/ตัว), น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น(กรัม/ตัว), อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน(กรัม/ตัว), อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(%/วัน), อัตราการรอดตาย(%), อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง					
	1 (0%)	2 (2.0 %)	3 (4.0 %)	4 (6.0%)	5 (8.0%)	สูตรทางการค้า
น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว	42.53±4.18^{a}	43.55±1.68^{a}	43.70±5.41^{a}	36.04±5.80^{ab}	35.58±2.73^{ab}	28.51±5.05^{b}
น้ำหนักที่	25.52±2.66^{a}	21.96±4.98^{a}	21.48±5.71^{a}	24.60±5.46^{a}	20.54±2.38^{a}	8.97±3.14^{b}

เพิ่มขึ้น						
อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน	0.43±0.05[a]	0.37±0.08[a]	0.36±0.10[a]	0.41±0.09[a]	0.34±0.04[a]	0.15±0.05[b]
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ	2.21±0.17[a]	2.26±0.06[a]	2.26±0.21[a]	1.93±0.26[a]	1.92±0.13[a]	1.53±0.30[a]
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]
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	2.53±0.17[ab]	3.52±0.91[a]	3.74±1.56[a]	1.95±0.26[b]	2.75±0.32[ab]	3.92±0.39[a]
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	1.32±0.09[b]	1.00±0.30[bc]	0.98±0.34[bc]	1.72±0.24[a]	1.22±0.15[bc]	0.86±0.09[c]

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

3.4.2 ปริมาณแคโรทีนอยด์และค่าสีของปลาดุกรัสเซีย

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารทดลองตลอดระยะเวลา 60 วัน พบว่าทุกระดับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง ที่ระดับ 8.0 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงสุด คือ 0.569±0.30 mg/g dw รองลงมาคือ สูตรอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 6.0% (ชุดการทดลองที่ 5) คือ 0.459±0.05 mg/g dw ส่วนปลาที่ได้รับสูตร

อาหารควบคุมมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อต่ำที่สุด คือ 0.154±0.01 mg/g dw รวมทั้งปริมาณแคโรทีนอยด์ในชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างกันกับชุดสูตรอาหารทางการค้า (ตารางที่ 17)

ในการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มว่าหากเพิ่มปริมาณสาหร่ายลงไปในอาหาร จะมีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสาหร่ายที่ผสมในอาหารมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของสุนีรัตน์และศักดิ์ชัย (2562) ซึ่งได้ใช้สาหร่ายสีเขียว *Cladophora glomerata* แห้งผสมในอาหารปลานิล เลี้ยงปลาเป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีค่าสูงและมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่าย 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาสด สูงสุดเท่ากับ 12.26±0.49 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนี้มีรายงานการใช้สาหร่ายสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไกในการเลี้ยงปลาดุกรัสเซียเป็นเวลา 60 วัน ซึ่งได้ผลการศึกษาว่าแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรผสมสาหร่ายไก 5% มีค่า 2.37±0.15 ไมโครกรัมต่อกรัมซึ่งมากกว่าสูตรผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5%, 3% และ 0% ตามลำดับ ซึ่งอาหารสูตรผสมสาหร่ายไก 5% ทำให้ปลาดุกรัสเซียมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงขึ้น (จงกลและคณะ, 2552) ทั้งนี้จะพบว่าในการศึกษานี้ได้ผลที่น่าสนใจว่า สาหร่ายก้ามกุ้งจึงส่งผลให้การสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อของปลาดุกได้เช่นเดียวกับ การใช้สาหร่ายสไปรูไลน่า และสาหร่ายไก เช่นเดียวกัน

สำหรับสีของเนื้อของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลอง พบว่าสีของกล้ามเนื้อบริเวณส่วนหัวของค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย ค่าสีเหลืองบริเวณส่วนหัวของปลาในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าสูงสุดส่วนบริเวณส่วนหางนั้นพบว่า ค่าความสว่าง (L*) และ ค่าสีแดง (a*) ทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนค่าสีเหลืองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

3.3.4 องค์ประกอบของเม็ดเลือดของปลา

ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ปริมาณฮีโมโกลบินของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลอง พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 18) ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งชุดควบคุม มีปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวและความเข้มข้นของเลือดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ $2.62\pm0.22\times10^{3}/\mu L$, $142.066\pm2.52\times10^{6}/\mu L$ 12.00±1.15 และ 33.00±1.66 ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม และสีของเนื้อปลาของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกัน

	ชุดการทดลอง					
พารามิเตอร์	1 (0%)	2 (2%)	3 (4%)	4 (6%)	5 (8%)	สูตรทางการค้า
แคโรทีนอยด์รวม	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}
สีของเนื้อปลา						
-บริเวณส่วนหัว						
L*	49.18±0.62^{a}	48.49±1.72^{ab}	47.25±1.50^{ab}	47.88±1.98^{ab}	46.13±1.14^{b}	46.59±0.59^{ab}
a*	3.10±1.40^{a}	2.12±0.7^{abc}	1.59±0.27^{abc}	2.77±1.08^{ab}	1.04±0.34^{c}	1.36±0.73^{bc}
b*	2.43±0.80^{ab}	2.66±0.70^{a}	3.18±0.25^{a}	2.73±1.03^{a}	1.38±0.59^{b}	2.11±0.08^{ab}
-.บริเวณส่วนหาง						
L*	50.88±0.34^{a}	48.00±2.22^{ab}	48.34±0.94^{ab}	48.34±2.11^{ab}	46.93±2.03^{b}	47.11±1.62^{b}
a*	4.54±2.01^{a}	4.00±1.80^{ab}	1.79±0.52^{b}	3.23±0.75^{ab}	1.93±0.85^{b}	3.16±0.57^{ab}

b*	4.21±2.73	3.20±0.35	3.48±0.87	2.60±0.83	1.69±0.73	2.93±0.56

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

ตารางที่ 18 ปริมาณเม็ดเลือดแดง, เม็ดเลือดขาว, ฮีโมโกบิน, ความเข้มข้นของเลือดของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า

	ชุดการทดลอง					
พารามิเตอร์	1 (0%)	2 (2%)	3 (4%)	4 (6%)	5 (8%)	สูตรทางการค้า
เม็ดเลือดแดง (10^3/μL)	2.62±0.22	2.49±0.43	1.38±1.25	2.40±0.25	1.62±1.40	1.58±0.65
.เม็ดเลือดขาว (10^6/μL)	0.142±0.06	0.1319±00	0.077±00	0.114±00	0.079±000	0.121±0.00
ฮีโมโกบิน (%)	12.00±1.15	11.77±1.36	6.47±5.85	11.57±1.01	7.70±6.68	10.80±0.00
ความเข้มข้นของเลือด (%)	33.00±1.66	32.77±4.06	19.17±17.18	31.53±1.59	21.10±18.27	22.03±8.17

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

3.3.5 ดัชนีตับและดัชนีไขมันของปลาดุกรัสเซีย

ค่าดัชนีตับของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลอง พบว่าทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 19) โดยชุดอาหารทางการค้ามีค่าดัชนีตับมากที่สุด รองลงลงมาเป็นชุดควบคุม ทั้งนี้จะพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งให้ค่าดัชนีตับกว่าชุดควบคุมและอาหารทางการค้าทุกระดับ สำหรับค่าดัชนีไขมันนั้นพบว่าทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 19) โดยชุดอาหารทางการค้ามีค่าดัชนีตับมากที่สุด รองลงลงมาเป็นชุดควบคุม ทั้งนี้จะพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งให้ค่าดัชนีตับกว่าชุดควบคุมและอาหารทางการค้าทุกระดับ

ตารางที่ 19 ดัชนีตับและดัชนีไขมันของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า

	ชุดการทดลอง					
พารามิเตอร์	1 (0%)	2 (2%)	3 (4%)	4 (6%)	5 (8%)	สูตรทางการค้า
ดัชนีตับ	1.60 ± 0.34^{b}	1.49 ± 0.18^{bc}	1.44 ± 0.36^{bc}	1.06 ± 0.13^{c}	1.28 ± 0.19^{bc}	2.12 ± 0.25^{a}
ดัชนีไขมัน	1.28 ± 0.39^{b}	1.24 ± 0.30^{b}	1.27 ± 0.04^{b}	0.94 ± 0.51^{b}	1.05 ± 0.29^{b}	2.66 ± 0.27^{a}

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

3.3.6 องค์ประกอบทางเคมีของซากปลาดุกรัสเซีย

องค์ประกอบทางเคมีของซากปลาทั้งตัวที่ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วันพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งทุกระดับมีค่าปริมาณของโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งปริมาณโปรตีนในซากปลามีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่ 3 แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ส่วนอาหารทางค้านั้นมีค่าต่ำสุด สำหรับปริมาณไขมันนั้นชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงสุดส่วนอาหารทางค้านั้นมีค่าต่ำสุดเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 20) ส่วนปริมาณเยื่อใยและเถ้านั้นชุดการทดลองที่ 5 มีค่าสูงสุด จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่ามีแนวโน้มว่าหากเพิ่มระดับของของสาหร่ายก้ามกุ้งในสูตรอาหารก็จะส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและเถ้าในซากของปลามีเพิ่มขึ้น ซึ่งต่างจากการการใช้สาหร่ายขนนก (*Caulerpa racemosa*) ในสูตรอาหารที่ระดับ 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 และ 12.5% ของปลาทับทิม (*Oreochromis* sp.) ซึ่งพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่ายมีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อยกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม (วัฒนาและคณะ, 2559) ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางที่ดีว่าสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบอาหารปลาน้ำจืดของกลุ่มปลากินเนื้อได้อีกชนิดหนึ่ง

ตารางที่ 20 คุณภาพซากของปลาดุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับแตกต่างกันและที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรทางการค้า

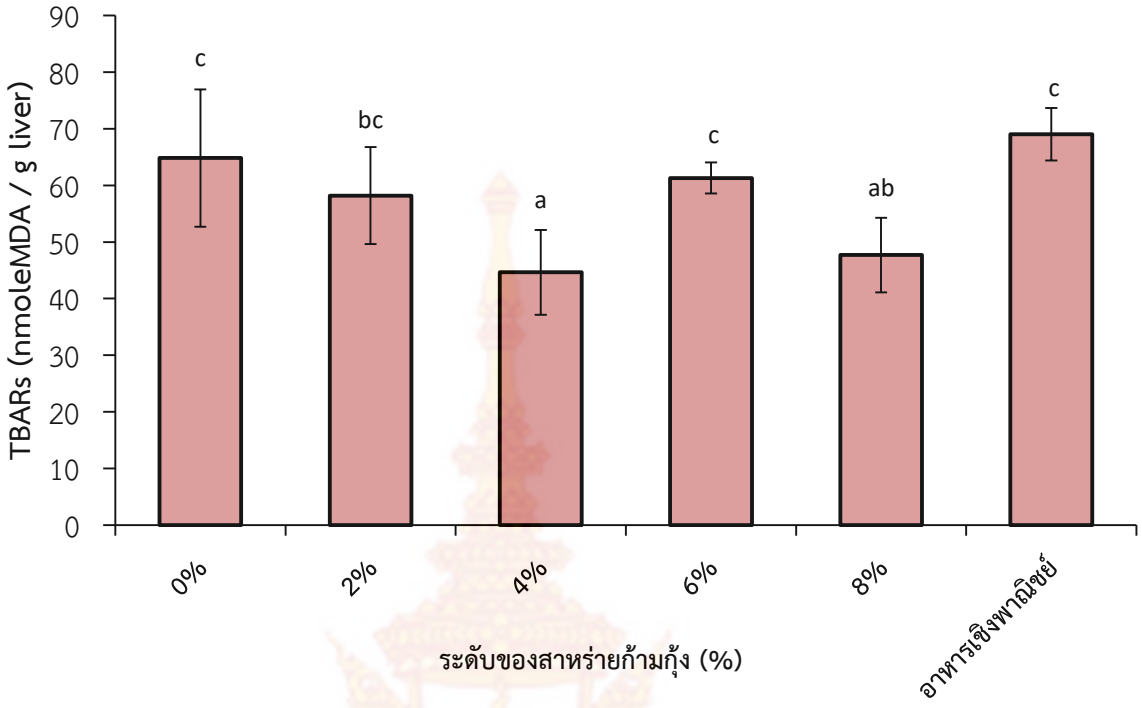
พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง					
	1 (0%)	2 (2%)	3 (4%)	4 (6%)	5 (8%)	สูตรทางการค้า
โปรตีน	53.02±0.25^{a}	50.90±0.37^{c}	53.20±0.16^{a}	51.91±0.32^{b}	53.04±0.14^{a}	45.85±0.08^{d}
ไขมัน	27.17±0.16^{c}	28.54±0.08^{b}	26.59±0.08^{de}	26.24±0.06^{e}	26.70±0.31^{d}	23.72±0.18^{a}
เยื่อใย	1.46±0.29^{ab}	1.78±1.05^{ab}	0.93±10.49^{b}	2.10±0.11^{ab}	2.68±0.40^{a}	2.46±0.95^{ab}
เถ้า	12.95±0.21^{c}	13.45±0.60^{bc}	13.91±0.12^{abc}	14.11±0.25^{ab}	14.73±0.38^{a}	13.63±0.48^{bc}
ความชื้น	0.61±0.01^{b}	0.64±0.02^{b}	0.68±0.05^{b}	0.68±0.03^{b}	0.65±0.01^{b}	0.82±0.05^{a}

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

3.3.7 การป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่น

(1) ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

จากการทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียเป็นระยะเวลา 60 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันโดยวัดระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ที่เป็นผลผลิตของการเกิดลิปิดเบอร์ออกซิเดชันในตัวอย่างตับของปลาดุกรัสเซีย พบว่าการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารมีผลลดปริมาณการเกิด Lipid peroxidation ในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายที่ระดับ 2% 4% และ 8% ซึ่งมีค่าการเกิด Lipid peroxidation ที่ต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารทางการค้า โดยมีค่า 58.20±8.56, 44.63±7.50 และ 47.69±6.57 nmol MDA/ g liver ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายที่ระดับ 4% และ 8% ที่มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารทางการค้า แต่ปลาที่ได้รับสาหร่ายเสริมในอาหรที่ระดับ 6% ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งมีค่า 61.31±2.75 nmol MDA/ g liver ($p>0.05$) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ระดับการเกิด lipid peroxidation ของปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับแตกต่างกัน

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

(2) การวัดปริมาณกลูตาไธโอน

จากการศึกษาปริมาณกลูตาไทโอน (GSH) ในปลาดุกรัสเซียหลังจากได้รับอาหารทดลองที่เสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าระดับของสาหร่ายส่งผลต่อปริมาณกลูตาไทโอน โดยพบว่ามีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเสริมสาหร่ายในอาหารที่ระดับ 6 และ 8% ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ไม่ได้รับการผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง (สูตรควบคุม) และปลาที่ได้รับอาหารเชิงการค้ามีค่า 171.00±23.90 nmol GSH/mL sample และ 184.77±12.52 ตามลำดับ (ตารางที่ 21) แต่การเสริมในระดับต่ำกว่า คือ 2 และ 4% ให้ค่า GSH ที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม มีค่า 133.90±3.13 nmol GSH/mL sample และ 135.08±9.83 nmol GSH/mL sample ตามลำดับ ($p>005$) แต่เมื่อรายงานในหน่วยของกิจกรรมจำเพาะเอนไซม์กลูตาไทโอน พบว่าค่าปริมาณ GSH ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าในช่วง 103.56±5.28 - 116.67±9.29 mmol GSH/mg protein

ตารางที่ 21 ปริมาณกลูตาไทโอน (GSH) ในปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับแตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณกลูตาไทโอน (nmol GSH/mLsample)	กิจกรรมจำเพาะเอนไซม์กลูตาไทโอน (mmol GSH/mg protein)
1. ควบคุม	133.12±4.17^{c}	103.56±5.28^{a}
2. 2%	130.90±3.13^{c}	111.35±7.28^{a}
3. 4%	135.08±9.83^{c}	112.69±20.62^{a}
4. 6%	171.00±23.90^{ab}	116.67±9.29^{a}
5. 8%	184.77±12.52^{a}	107.57±16.79^{a}
6. อาหารทางการค้า	143.94±11.27^{bc}	113.38±14.97^{a}

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

การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียส่งผลต่อระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันโดยการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 2 4 และ 8% มีผลลดการเกิด lipid peroxidation ซึ่งเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์ ซึ่งเป็นผลดีต่อตัวสัตว์น้ำในการเป็นเกราะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชัน ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลาบางชนิด เช่น ในปลาหนังลูกผสม (*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*) ที่พบว่าการเสริมสาหร่ายไก (*Cladophora* spp.) ในอาหาร ที่ระดับ 5-10% มีผลลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 และในปลานิลพบว่าการใช้สาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) ผสมในอาหารที่ระดับเดียวกันคือ 5-10% เป็นระยะเวลา 4 เดือนมีผลลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในไตและตับของปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ธีระวัฒน์ และคณะ, 2555)

การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารมีผลเพิ่มปริมาณ GSH ในตัวอย่างตับของปลาดุกที่ได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยปลาดุกที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับสูงคือ 6-8 % มีระดับ GSH สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับต่ำ คือ 2 และ 4% ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาในปลาหนังลูกผสมที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกระดับ 2.5-10 %ที่ไม่มีผลต่อระดับ GSH ในเม็ดเลือดแดง (ดวงพร และคณะ, 2558) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากอวัยวะที่ใช้ในการวัดที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาโดย Rodriguez-Ariza *et al*., (1994) ที่รายงานว่าตับเป็นอวัยวะที่ตอบสนองต่อ

ระดับ GSH ในปลา โดยกลูตาไทโอนเป็นจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย เป็นตัวช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายของคนหรือสัตว์

จากข้อมูลการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิด GSH พบว่าการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดระดับการเกิด lipid peroxidation ได้ในการเสริมที่ระดับ 4 และ 8% ในขณะที่การเสริมที่ระดับ 6 และ 8% ส่งผลเพิ่มปริมาณ GSH ได้ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีศักยภาพในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้

บทที่ 4

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

1.การพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งแบบอินทรีย์ พบว่าสาหร่างสามารถเจริญเติบโตได้ในการเลี้ยงด้วยปุ๋ยอินทรีย์น้ำในโรงเรือนและเจริญเติบโตได้ในหลายรูปแบบการเลี้ยง การเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งในโรงเรือนโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่ระดับ 0.15 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร มีผลให้สาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และองค์ประกอบทางเคมีเพิ่มมากกว่าสาหร่ายที่เจริญอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติและจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติ นอกจากนี้สีของสาหร่ายก้ามกุ้งที่เลี้ยงมีสีเขียวแบบสว่างมากขึ้น มีลักษณะของแทลลัสที่สะอาดน่ารับประทานมากขึ้น

2.การประยุกต์ใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารของปลาดุกรัสเซีย พบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p>0.05$)กับชุดควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2.0-8.0% ไม่มีผลให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาสูงขึ้น ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาพบว่าสูตรอาหารที่ใช้สาหร่าย 8.0 % มีค่าสูงที่สุดและสูงกว่าชุดควบคุม การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียในการเสริมที่ระดับ 4 และ 8% เลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน สามารถลดระดับการเกิด lipid peroxidation ในตับของปลาได้ ในขณะที่การเสริมที่ระดับ 6 และ 8% ส่งผลเพิ่มปริมาณกลูตาไธโอนได้ แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีศักยภาพในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้ จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลานิลได้ สาหร่ายก้ามกุ้งจึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

บรรณานุกรม

กมลพร ศรีนวล, จารุณี เชี่ยววารีสัจจะ และสมหมาย เชี่ยววารีสัจจะ.2556. การใช้ปุ๋ยอนินทรีย์ไนโตรเจนชนิดต่างกันเลี้ยงสาหร่ายคาบอมม้า(*Cabomba caroliniana* A.Gray) ในห้องปฏิบัติการ. **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ** 16(1): 41-50.

กันย์สินี พันธ์วนิชดำรง. 2552. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm) และวิธีการในการเพาะขยายพันธุ์แบบมหมวล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติมา วานิชกุล, กิตติมา เสลาหอม และอนุสรณ์ คำแป้น. 2553. ผลการใช้สาหร่ายสไปรูไลนาในการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร. ฉบับพิเศษ. 212-217.

กระทรวงสาธารณสุข. 2529. มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปอน. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529). แหลงที่มา: http://newsser.fda.moph.go.th/food/file/Laws /Notification%20of%20 Ministry%20of%20PublicHealth/Law03P98.pdf เขาถึงเมื่อ 6 มีนาคม 2562.

จงกล พรมยะ, ขจรเกียรติ ศรีนวลสม และ ชนกันต์ จิตมนัส. 2552. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไกต่อการเติบโต คุณภาพเนื้อ และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุกรัสเซีย. **วารสารการประมง** 62(6): 511-518.

จารุวัลย์ แสงกระจ่าง และเกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2557. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโต คุณค่าทางโภชนาการแคโรทีนอยด์และสีในเนื้อปลาบึกอายุ 1 ปี, นน. 258-569. *ใน*การประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2551. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1(1): 59-70.

ชนัดดา เกตุมา, ชัชรี แก้วสุรลิขิต, จริยาวดี สุริยพันธุ์, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิด, สาธิต ประเสริฐศรี, เดชานาท ทองพิทักษ์ และประยูร หงส์รัตน์. 2551. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis* Linn.)ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.นน. 200-209 *ใน* มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46, กรุงเทพฯ.

ดวงพร อมรเลิศพิศาล, เมธัส เงินจันทร์, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์. 2558. สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชันของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ.** 38(4): 393-405

ธัชศึก คุ้มพร้อม, จงกล พรมยะ, เกรียงศักดิ เม่งอำพัน, นิวุฒิ หวังชัย และชนกันต์ จิตมนัส. 2554. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไกต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และการปรับปรุงสีของปลาทอง. **KKU Res. J.** 16(6): 612-621

ธีระวัฒน์ รัตนพจน์, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, ชุติมา ศรีมะเริง, รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตาต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 6(2): 23-34

นงลักษณ์ สำราญราษฎร์ และสมถวิล จริตควร. 2556. ศึกษาผลของการเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มสีในปลาการ์ตูนแดง. **วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาส** 11(1): 135-148.

บุหรัน พันธุสวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารตานอนุมูลอิสระ และการวิเคราะหฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี** 21(3): 275-286.

มนต์สรวง ยางทอง. 2557. การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 32(2): 66- 75

มนต์สรวง ยางทอง และนงพร โตวัฒนะ. 2557. ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ขจัดอนุมูล DPPH ของสาหร่ายทะเล 6 ชนิดจากชายฝั่งภาคใต้ของประเทศไทย. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 8(1): 93-104

ยุวดี พีพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่, 434 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล, ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสาหร่ายเตา. **ว.วิทย. มข.** 40(1): 228-235.

รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์, ฐิติพรรณ ฉิมสุข, อรุณี คงดี และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. พฤกษเคมีและผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายเตา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

รัตนสุดา ไชยเชษฐ์, บัณฑิต ยวงสร้อย, ธงชัย จำปาศรี,ชไมพร จำปาศรี และ ศิริภาวี เจริญวัฒนศักดิ์. 2561. ผลของการอดอาหารและการกลับมาให้อาหารต่อการเจริญเติบโตและระดับกลูโคสในเลือดปลาดุกอุย(*Clarias macrocephalus*).**วารสารเกษตรพระวรุณ** 15(1): 144-155.

ระพีพร เรืองช่วย, โชคชัย เหลืองธุวประณีต, นิรัติศัย เพชรสุภา,อมมี คุณอารี และ พายัพ มาศนิยม. 2549. รายงานการวิจัยเรื่องโครงการการเลี้ยงสาหร่ายผมนางเพื่อเป็นอาชีพสำหรับชาวประมงพื้นบ้านในอ่าวปัตตานี จังหวัดปัตตานี. กรุงเทพฯ. สกว.

วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และเจษฎา อิสเหาะ. 2559. ผลของการใช้สาหร่ายขนนกในอาหารต่อการเจริญเติบโตและคุณค่าทางโภชนาการของปลาทับทิม. นน. 883-890. *ใน* การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

วรรณิณี จันทร์แก้ว, ดวงพร อมรเลิศพิศาล, นพรัตน์ มะเห, อุไรวรรณ วัฒนกุล, วัฒนา ณ นคร และ จรินทร์ พูดงาม. 2563. ความหลากหลายของสาหร่ายน้ำจืดกินได้และศักยภาพของสาหร่ายสีแดงและสีเขียวน้ำจืดเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในพื้นที่ภาคใต้ฝั่งตะวันออกตอนบน. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วรรณิณี จันทร์แก้ว, มนต์สรวง ยางทอง และจันทนา แสงแก้ว. 2563. การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารพฤกษเคมีของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina* Klein ex C.L.Willnenow). **วารสารมหาวิทยาลัยนราธวาสราชนครินทร์** 13(2): 296-314.

วริศรา ชื่นอารมณ์, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2553. สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม (*Suaeda maritime*). วิทยาศาสตร์เกษตร 41 (พิเศษ): 621 - 624.

วิรวุฒิ แต้มประสิทธิ์.2557. ผลของการเพิ่มอุณหภูมิจากพลังงานแสงอาทิตย์ในบ่อปลาต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกรัสเซีย. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วสันต์ สุมินทิลี่, ปนิดา บรรจงสินศิริ, จันทนา ไพรบูรณ์ และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2557. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lintillifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*). **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร** 9(1): 63-75.

แวมารือนี มะดีเยาะ, ระพีพร เรืองช่วย และโชคชัย เหลืองธุวปราณีต. 2560. การเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* แบบสเกลใหญ่ในถังที่แตกต่างกัน. **วารสารแก่นเกษตร**, 45 (ฉบับพิเศษ 1): 140-144.

ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร, บุญสม วราเอกศิริ และจงกล พรมยะ. 2553. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวสกุล *Cladophora* (ไก) เพื่อเป็นอาหารปลาบึก (ระยะที่ 2) รายงานฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

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

สุดาพร ตงศิริ, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และยุวดี พีรพรพิศาล. 2555. การศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาบึกที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายสไปรูลินา. **ว.วิทย์.มข.** 40(1) 198-207.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2538. **การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.** ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพเกษตร.กรุงเทพฯ. 291 น.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และศ กดิ์ชัย ชูโชติ. 2557. องค์ประกอบทางเคมีและการเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียว *Cladophora glomerata*. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 32(2): 1- 8

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์, มณฑล แก่นมณี และดุสิต เอื้ออำนวย. 2554. การเพิ่มผลผลิตและคุณภาพเนื้อปลาดุกบิ๊กอุยโดยการเลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียว *Ulva rigida*. รายงานการวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สุวรรณา วรสิงห์. 2551. ผลของความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva rigida* C. Agardh, 1823). เอกสารวิชาการฉบับที่ 35/2551. กรมประมง. 61 น.

อรกัญญา เม่งหยู และอำไพ ล่องลอย.2553. ผลของน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* (C.Agardh) Kützing, F.T., 1845 ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเขากวาง *Caulerppa racemosa* (Forsskal)J. Agardh var. corynephora (Montagne) Weber-van Bosse, 1898. เอกสารวิชาการฉบับที่4/2553. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่, กรมประมง. 30 น.

อดิศักดิ์ เกลี้ยงตะพงศ์, การุณ ทองประจุแก้ว และสมรักษ์ รอดเจริญ. 2561. การเจริญเติบโตของปลาทองออแรนดา (*Carassius auratus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย** 10(3): 356-367.

อัจฉรา นิยมเดชา และมงคล คงเสน. 2558. เมทาบอลิซึมและคุณประโยชน์ของแคโรทีนอยด์ในการเพิ่มความเข้มสีไข่แดง. **วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์** (ฉ.พิเศษ 5): 112 - 121.

อัฏฐพร สิทธิ์วิภูศิริ. 2558. ความหลากหลายของสาหร่ายไฟ (วงศ์ Characeae) ในภาคกลางของประเทศไทย.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อานูวี บากา และวุฒิพร พรหมขุนทอง. 2555. ผลของสาหร่ายไส้ไก่ในอาหารต่อการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของปลานิลแดง, นน. 515-524 *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. 31 มกราคม – 2 กุมภาพันธ์ 2555

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2550. น๊อคตอค สู่ ไข่หิน ภูมิปัญญา สู่ สากล. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 22(2): 55-56.

อุทัยรัตน์ ณ นคร.2544. ปลาดุก. ภาควิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 140 น.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์. 262 น.

AOAC, 2000. Official Method of Analysis: Association of Analytical Chemists. 20th Edition, Washington DC. USA

APHA, AWWA and WPCF. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. Washiton DC.

Becker, E.W. 1994. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. Great Britain. Cambridge University Press

Bennett, A. and Bogorad, L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of Cell Biology** 58: 419-435.

Cai J., Xie, S. and Feng J. 2013. Antimicrobial activities of *Nitellopsis obtuse* (Desvaux) Groves and *Chara vulgaris* L. **Journal of Applied Botany and Food Quality**

86: 24-32

Chandra, S., Chatterjee, Priyanka., Dey, P. and Bhattacharya, S. 2012. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 2(1): S178-S180.

Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East ASIA. **LWT-FOOD SCI TECHNOL** 41:1067-1072.

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

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeda, L.M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amiosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 315: 161-169.El-Nagger, M.E.E.1995. Comparative biochemical studies on the vegetative and reproductive stages of *Chara vulgaris*. **J. King Saud Uvis**. 7(2):191-204.

Ghazala B., Naila B., Mustafa S., Shahzad S. and Leghari, S.M. 2004. Phytochemistry and bioactivity of two stonewort algae (Charophyta) of Sindh. **Pak. J. Bot**. 36(4); 733-743.

Ghazala, B. and Shameel, M. 2005. Phytochemistry and bioactivity of some freshwater green algae from Pakistan. **Pharmaceutical Biology**.43 (4): 358-369.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of National Biochemistry**. 13(10): 572-584

John, D. M., Whitton, B. A. and Brook, A. J. 2002. **The freshwater algae flora of Britishiles**. Cambridge, England.

John, B. Sulaiman, C.T., Gearge, S. and Reddy, V.R.K. 2014. Total phenolic and flavonoids in selected medicinal plants from kerala. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 6(1): 406-408.

.Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolic constituents on the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 33: 213–217.

Kiran, C.R., Madhavi, Y. and Rao, T.R. 2012. Evaluation of phytochemicals and antioxidant activities of *Ceiba pentandra* (Kapok) seed oil. **Journal of Bioanalysis and Biomedicine** 4(4): 066-073.

KMUTT. 2001. Laboratory instruction: A workshop on mass cultivation of Spirulina, 8 – 11 January, 2001. King Monkut's University of Technology, Thonburi, Bangkok, Thailand. pp 14 – 15. อ้างโดย ขจรเกียรติ์ แซตัน. 2550. คูมือปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสาหราย (Algal Culture). คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแมโจ.

Khuangtrairong, T. and Traichaiyaporn, S. 2011. The nutritional value of edible freshwater alga *Chadophora* sp. (Chlorophyta) grown under different phosphorus concentrations. **International journal of agriculture & biology,** 13(2): 297-300.

Khuantrairong, T. and Traichaiyaporn, S. 2012. Enhancement of carotenoid and chlorophyll production in an edible freshwater alga (*Chadophora* sp.) by supplemental inorganic phosphate and investigation of its biomass production. **Maejo Int. J. Sci. Technol** 6(1) : 1-11.

Manosroi, A., Kumguan, K., Chankhampan, C., Manosroi, W. and Manosroi, J. 2012. Nanoscale gelatinase A (MMP-2) inhibition on human skin fibroblasts of Longkong (*Lansium domesticum Correa*) leaf extracts for anti-aging. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology** 12(9): 7187-7197.

Manosroi, A., Ruksiriwanich, W., Abe, M., Sakai, H., Manosroi, W. and Manosroi, J. 2010. Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid. **The Journal of Supercritical Fluids** 54(2): 137-144.

Nakwanit, S., Visoottiviseth, P., Khokiattiwong, S. and Sangchoom, W. 2011. Management of arsenic - accumulated waste from constructed wetland treatment of mountain tap - water. **Journal of Hazardous Materials** 185: 1081 - 1085.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26: 1231–1237.

Reichardt, C.W.T. 2005. **Solvents and solvent effects in organic chemistry**. Edition T, editor. Germany.

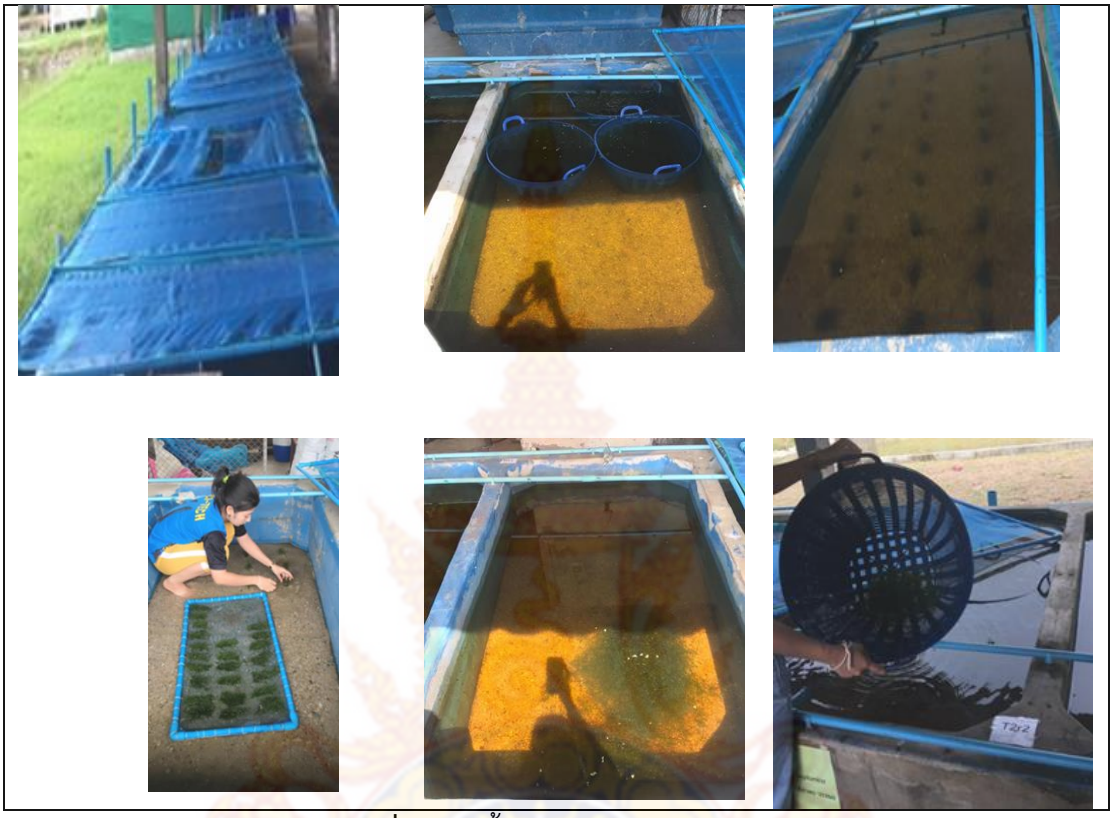
Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D. and Gupta, A. 2013. Phytochemistry of medicinal plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 1: 168 - 182.

Schubert, H. and Blindow, I. 2003. **Charophytes of the Baltic Sea**. A.R.G. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft. Germany.

Shaw, G. R., Moore, D.P. and Garnett, C. 2009. Eutrophication and algal bloom. *In* Sabljic, A. (ed). 1998. Environmental and Ecological Chemistry. Volume 2. EOLSS Publishers Company Limities

Shimada K., Fujikawa K., Yahara K. and Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthome on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 40: 945-948.

ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 การเลี้ยงสาหร่ายก้ามกุ้งในบ่อปูนซีเมนต์

ภาพผนวกที่ 2 การพักสาหร่ายเพื่อปรับสภาพ การเตรียมพันธุ์สาหร่ายสำหรับเลี้ยง การทดลองเลี้ยงในกระบะไฟเบอร์

ภาพผนวกที่ 3 การทดลองเลี้ยงสาหร่ายในตะกร้า

ภาพผนวกที่ 4 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ภาพผนวกที่ 5 การตรวจสอบปริมาณรงควัตถุและสีของสาหร่าย

เก็บสาหร่าย

ตากสาหร่าย

นำสาหร่ายมาอบแห้ง

นำสาหร่ายมาปั่นให้ละเอียด

สาหร่ายที่ปั่นแล้ว

ภาพผนวกที่ 6 การเตรียมสาหร่ายเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารปลาดุกรัสเซีย

ภาพผนวกที่ 7 วัตถุดิบอาหารในการผลิตอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกรัสเซีย

ชั่งวัตถุดิบ

ผสมวัตถุดิบ

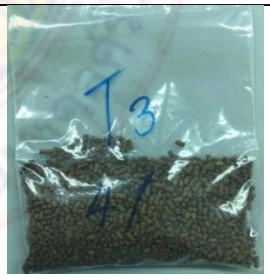
เทวัตถุดิบที่ผสมแล้วใส่เครื่องอัดเม็ดลอย

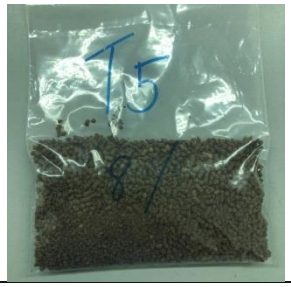
ปล่อยอาหารออกจากเครื่องอัดเม็ดลอย

เทอาหารใส่ถาดเตรียมอบ

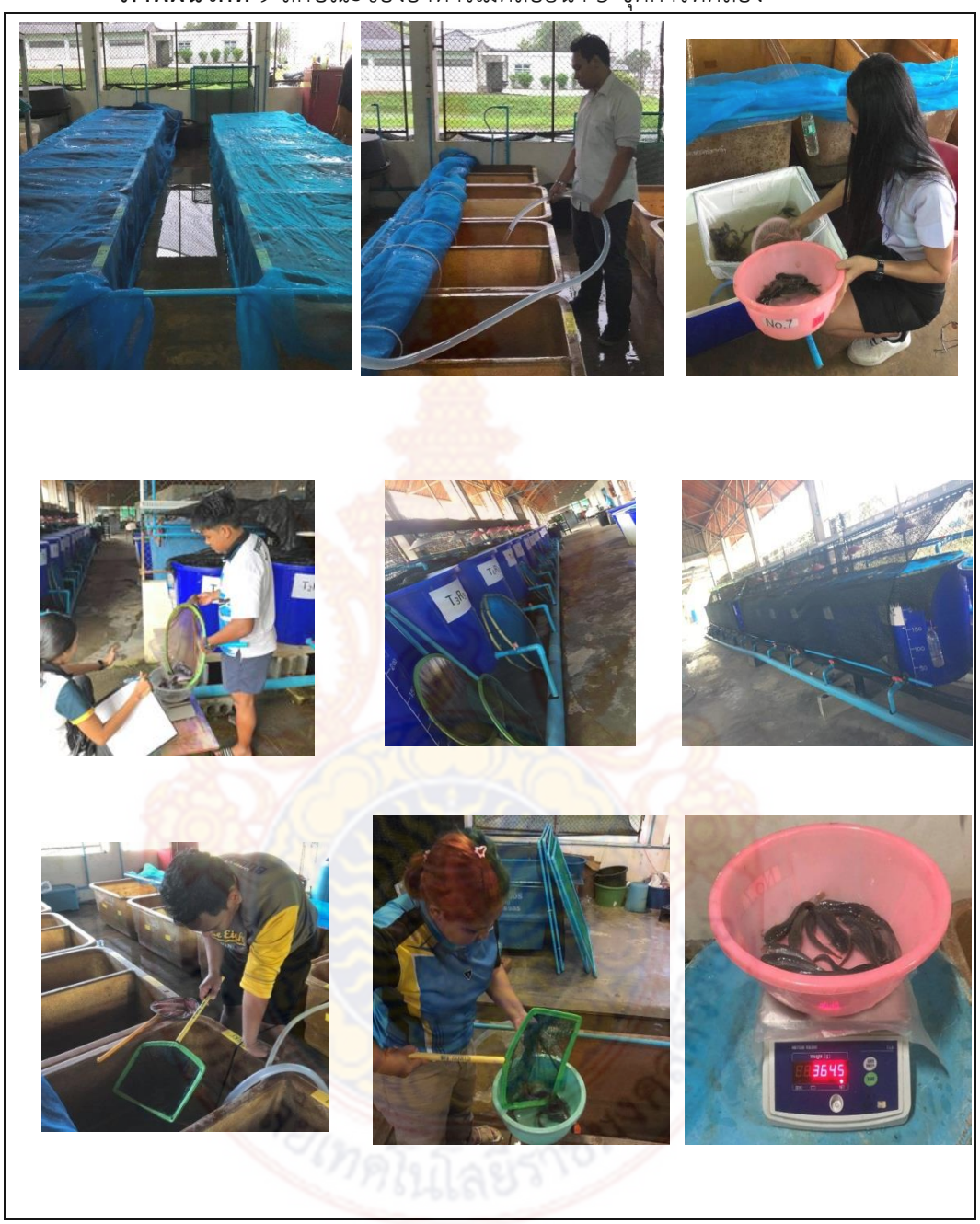
นำถาดอาหารใส่ตู้อบ

ภาพผนวกที่ 8 การผลิตอาหารทดลองชนิดเม็ดลอยน้ำ



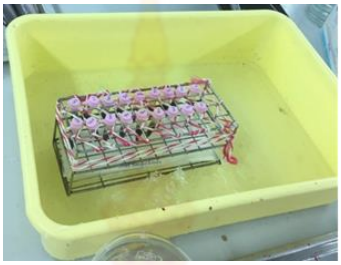


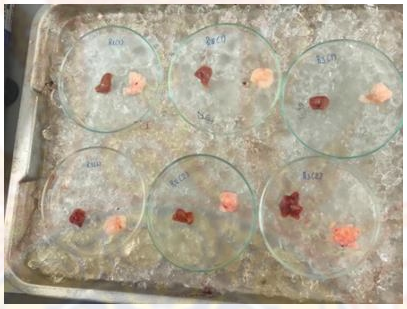
ภาพผนวกที่ 9 ลักษณะของอาหารเม็ดลอยน้ำ 5 ชุดการทดลอง



ภาพผนวกที่ 10 การเตรียมการทดลองและการรวบรวมข้อมูล

..





ภาพผนวกที่ 11 การศึกษาองค์ประกอบของเลือด ดัชนีตับ และดัชนีไขมัน

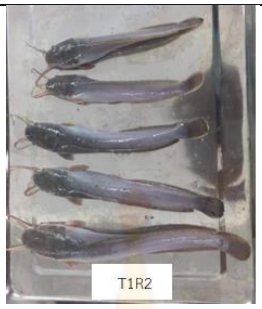
ภาพผนวกที่ 12 การวัดสีและศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

ชั่งน้ำหนักก่อนอบ

นำปลาเข้าตู้อบ

ตู้อบลมร้อน

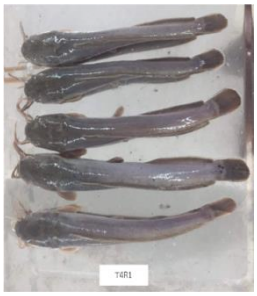
ภาพผนวกที่ 13 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของซากตัวอย่างปลา



ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ 1

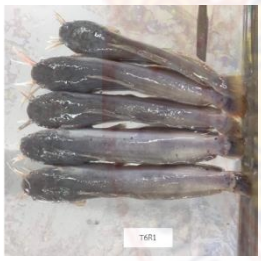
ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ 2

ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ 3



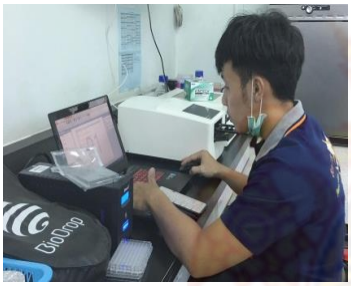
ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ **4**

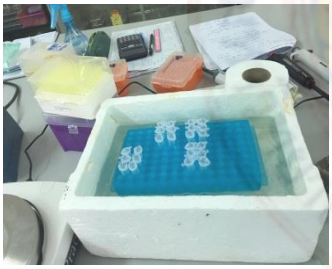
ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ 5

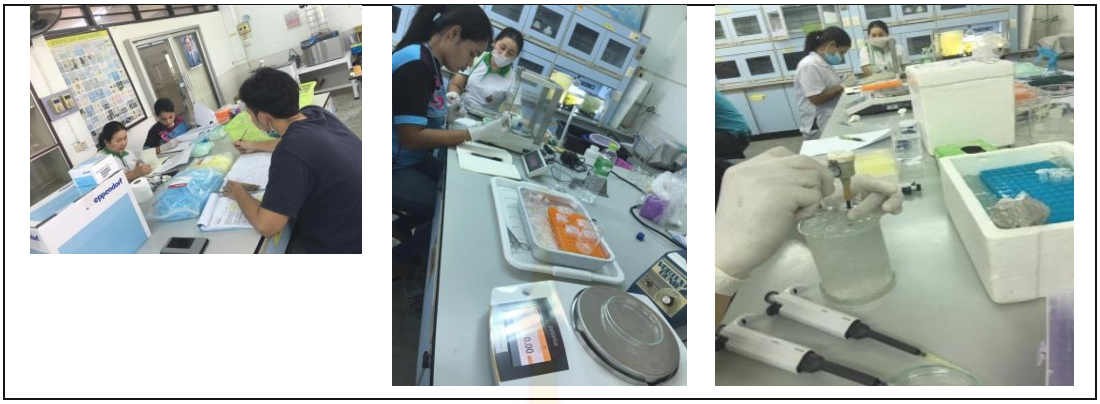


ปลาดุกรัสเซียชุดการทดลองที่ 6

ภาพผนวกที่ 14 ปลาดุกรัสเซียที่ได้จากการทดลอง


BioDrop





ภาพผนวกที่ 15 การศึกษาภาวะป้องกันเครียดออกซิเดชั่นในตับของปลาดุกรัสเซีย