KKU Res J. 2011; 16(6): 612-621
http://resjournal.kku.ac.th

ผลของสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไกต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการปรับปรุงสีของปลาทอง

Effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* sp. on Immunity Stimulating Capacity and Color Improvement of Goldfish (*Carassius auratus*)

ธัชศึก คุ้มพร้อม, จงกล พรมยะ, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, นิวุฒิ หวังชัย และชนกันต์ จิตมนัส*

Tutsuk Kumprom, Jongkon Promya, Kriangsak Meng-Umphan, Niwooti Whangchai and Chanagun Chitmanat*

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่
**Correspondent author: tutsuk_kumprom@hotmail.com*

Received march 7, 2011
Accepted July 19, 2011

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเติบโต การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและการปรับปรุงสีของปลาทองโดยใช้อาหารที่ผสมด้วยสาหร่าย 2 ชนิด และแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ คือ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสำเร็จรูปหรือชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายสไปรูลินาผงร้อยละ 6 และร้อยละ 12 ชุดการทดลองที่ 4 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่ายไกผงร้อยละ 6 เลี้ยงปลาทองน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 13.9 ± 0.73 กรัม ระยะเวลาการทดลอง 60 วัน พบว่าการเติบโตของปลาในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ย Haematocrit ของปลาในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 44.0 ± 0.6 และค่าเฉลี่ย Phagocytosis ของปลาในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 62.7 ± 1.4 ส่วนการเกิดสีพบว่าในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าเฉลี่ยของความสว่างต่ำที่สุดเท่ากับ 47.4 ± 1.4 ค่าเฉลี่ยของสีแดงมีค่าสูงที่สุดในชุดการทดลองที่ 3 เท่ากับ 33.7 ± 1.8 และค่าเฉลี่ยของสีเหลืองในชุดการทดลองที่ 4 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 49.9 ± 0.9 จากการทดลองสรุปได้ว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดให้ผลไม่แตกต่างกันต่อการเติบโต แต่สามารถช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและปรับปรุงสีทำให้สีบนตัวปลาทองมีสีแดง และสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น

Abstract

The aim of this study were to determine the growth, immunity stimulating capacity, and color improvement of goldfish, *Carassius auratus*, when feeding with two types of algae. The experiments were divided into 4 treatments with 3 replications each: treatment 1 the goldfish was fed with commercial diet, while treatments 2 and 3 were with commercial diets supplemented with 6 and 12% of *Spirulina platensis* powder, and treatment 4 with commercial diets supplemented with 6% of *Cladophora* sp. powder. Goldfish with the initial average weight of 13.9 ± 0.73 g were fed with these diets for 60 days. It was found that

growth performance of fish in all treatment were not significantly different. The average haematocrit of fish in treatment 2 was highest (44.0 ± 0.6 percent). The average phagocytosis activity of fish in treatment 3 was highest (62.7 ± 1.4 percent). According to their coloration, the average brightness of the treatment 2 was least (47.4 ± 1.4). The average red color was highest in treatment 3 (33.7 ± 1.8), and the average yellow in treatment 4 (49.9 ± 0.9). In conclusion, both *Spirulina platensis* and *Cladophora* sp. supplementary diets had no effect on the fish growth rate but they can stimulate the immune system and improve the red and yellow color in goldfish.

คำสำคัญ: สาหร่ายสไปรูลินา สาหร่ายไก ภูมิคุ้มกัน ปลาทอง
Keywords: *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp., immunity, goldfish

1. บทนำ

ปลาทองเป็นปลาสวยงามที่ได้รับความนิยมเลี้ยงไว้เพื่อดูเล่นและเป็นงานอดิเรก เนื่องจากปลาทองมีเสน่ห์สามารถดึงดูดความสนใจให้หลงใหลทางด้านการมอง ((11) และยังมีลีลาในการแหวกว่ายน้ำที่พลิ้วไหว ในส่วนของช่วงโคนหางหรือที่เรียกว่าสะโพกของปลาทองในตอนที่ว่ายน้ำนั้นดูสวยงามปราดเปรียว และดูมีชีวิตชีวา (2) สีสันตามธรรมชาติของปลานั้นเกิดมาจากการสะสมเม็ดสี (pigment) ในกลุ่มของแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งปลาไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่กินเข้าไป (3) สาหร่ายสไปรูลินาสามารถเร่งสีของปลาทองให้มีสีเหลือง และสีแดงเพิ่มมากขึ้น (4) ซึ่งในการเลี้ยงปลาสวยงามยังพบกับการเกิดโรคต่างๆมากมายไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก เชื้อรา เชื้อไวรัส หรือเชื้อแบคทีเรีย (5) แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ช่วยให้มีการสร้างแอนติบอดีต่อต้านเชื้อ *Streptococcus agalactiae* และยังช่วยให้ปริมาณเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวของปลานิลแดงเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ (6)

สาหร่ายสไปรูลินา (*Spirulina platensis*) และสาหร่ายไก (*Cladophora* sp.) จัดเป็นแหล่งอาหารที่คุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ ซึ่งสาหร่ายสไปรูลินา (โดยน้ำหนักแห้ง) ประกอบด้วยโปรตีน ร้อยละ 54.4 ไขมัน ร้อยละ 1.9 ความชื้น ร้อยละ 10.9 เถ้า ร้อยละ 3.9 ใยอาหาร ร้อยละ 2.1 คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 26.8 แคโรทีนอยด์ 4,000 ไมโครกรัมต่อกรัม และไฟโคไซยานิน 6,490 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด (7-8) สำหรับสาหร่ายไกนั้นจะประกอบด้วย (โดยน้ำหนักแห้ง) โปรตีน ร้อยละ 10.7-17.7 ไขมัน ร้อยละ 2.0-2.5 เถ้า ร้อยละ 14.7-16.8 ใยอาหารร้อยละ 20.6-26.1 คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ52.5-60.9 แคโรทีนอยด์ 953.7-1,728.9 ไมโครกรัมต่อกรัม และเบต้าแคโรทีน 20.0-91.9 ไมโครกรัมต่อกรัม นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วย วิตามินเอ ซี อี บี1 และบี2 อีกด้วย (9-10)

ที่ผ่านมามีนักวิจัยหลายท่านนำสาหร่ายมาเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำ Kiriratnikom และคณะ (4) ใช้สาหร่ายสไปรูลินาแห้งร้อยละ 1, 3 และ 5 ผสมในอาหารเลี้ยงปลาทอง Meenakarn และ Jirapunpipat (11) ใช้อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา ร้อยละ 0, 8, 10, 12 และ 14 เลี้ยงปลาทองสายพันธุ์รันชู นอกจากนี้ Promya and Chitmanat (12) ได้ใช้สาหร่ายสไปรูลินา ร้อยละ 3 และ 5 และสาหร่ายไกร้อยละ 5 ผสมในอาหารเลี้ยงปลาปลาดุกแอฟริกา จาก

คุณค่าทางโภชนาการและรงควัตถุชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ในสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไก ทำให้ผู้วิจัยสนใจในการใช้สาหร่าย 2 ชนิดนี้มาทำการเสริมในอาหารเพื่อทดลองเลี้ยงปลาทอง โดยศึกษาการเติบโต การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้มีความต้านทานโรคได้เพิ่มขึ้น การเกิดสีสันที่เข้มสดใสขึ้น และสร้างศักยภาพให้สามารถแข่งขันทางด้านการตลาดของปลาสวยงามทั้งใน และต่างประเทศต่อไป

โดยในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการเติบโต การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน และเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาทองมาจากร้านขายปลาสวยงามในอำเภอเมืองเชียงใหม่มาพัก เพื่อให้ปลาปรับสภาพให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมของการวิจัยเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยให้อาหารในชุดควบคุมวันละ 2 ครั้ง คือ 08.30 น. และ 16.30 น. หลังจากนั้นคัดปลาทองที่มีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13.9±0.73 กรัม และสีที่ใกล้เคียงกันจำนวน 11 ตัวต่อตู้ มาทำการทดลองในตู้ทดลองขนาด 24x15x12 นิ้ว ระดับน้ำสูง 23 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด(Completely randomized design: CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองๆ 3 ซ้ำ ดังต่อไปนี้ การทดลองที่ 1 ใช้อาหารลูกกบสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำหรือชุดควบคุม การทดลองที่ 2 และ 3 ใช้อาหารลูกกบสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำผสมสาหร่ายสไปรูลินาผงร้อยละ6 และ 12 การทดลองที่ 4 ใช้อาหารลูกกบสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำผสมสาหร่ายไกผง 6 เปอร์เซ็นต์

2.2 การเตรียมอาหารทดลอง

นำอาหารลูกกบสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำมาคลุกผสมกับสาหร่ายผงทั้ง 2 ชนิด ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงของฐานการเรียนรู้แพลงก์ตอนและสาหร่าย คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตามปริมาณที่กำหนดไว้ คือ ผสมสาหร่ายสไปรูลินาผง ร้อยละ 6 และ 12 และผสมสาหร่ายไกผงร้อยละ 6 โดยใช้ไข่ขาวเป็นตัวประสานปริมาณ 60 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อาหารที่เตรียมเสร็จแล้วเก็บไว้ในกล่องพลาสติกไม่ให้โดนแสง และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารเคลือบสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองคือ โปรตีนโดยใช้ Micro Kjeldahl ไขมันโดยวิธี Dichloromethane extraction ความชื้นโดยการอบแห้ง 105°ซ เถ้าโดยการเผาใน Muffle furnace 550°ซ ใยอาหารโดยวิธี Fritted glass crucible (13) และปริมาณแคโรทีนอยด์รวมโดยใช้เอทานอล และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อตรึงเซลล์แล้วทำให้เซลล์แตกด้วย Sonicator ตามวิธีการของ AOAC (14) ดังแสดงในตารางที่ 1

2.3 การเก็บข้อมูลเกี่ยวกับปลา

หลังจากการเลี้ยงระยะเวลา 60 วัน ชั่งน้ำหนักปลาเพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์การเติบโต เก็บตัวอย่างเลือด แยกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากไตส่วนหน้า เพื่อวิเคราะห์การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และวัดการเปลี่ยนแปลงของสีบนตัวปลา ก่อนการเก็บข้อมูลทำการสลบปลาด้วยสาร 2 phenoxy ethanol ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.4 การเติบโตของปลา

สุ่มตัวอย่างในแต่ละหน่วยการทดลองมาร้อยละ 10 และนำมาชั่งน้ำหนักจากนั้นนำไปหาค่าเฉลี่ยเพื่อไปประเมินค่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain: WG) อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain rate: WGR) อัตราการเจริญเติบโต (average daily growth: ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio: PER)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate: FCR) อัตราการรอดตาย (survival rate: SR) ตามสูตรดังต่อไปนี้ (15)

1) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น; กรัม (weight gain; gram)
= น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง

2) อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น; ร้อยละ (weight gain rate; percent)
= {(น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) / น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง} x 100

3) อัตราการเจริญเติบโต; กรัม/ตัว/วัน (average daily growth; gram /fish/day)
= (น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) / จำนวนวันที่ทำการทดลอง

4) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ; กรัม/วัน (specific growth rate; gram /day)
= {(ln น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – ln น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) / จำนวนวันที่ทำการทดลอง} x 100

5) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน; หน่วย (Protein efficiency ratio; unit)
= น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น / ปริมาณโปรตีนของอาหาร

6) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ; หน่วย (feed conversion rate; unit)
= น้ำหนักอาหารทั้งหมดที่ให้ / น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

7) อัตราการรอดตาย; ร้อยละ (survival rate; percent)
= (จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) x 100

2.5 ฮีมาโตคริต (Haematocrit)

ใช้วิธี microhaematocrit method โดยเก็บตัวอย่างเลือดปลาจากเส้นเลือด caudal vein บรรจุเลือดปลาเข้าไปในหลอด capillary ความยาว 7 เซนติเมตรในปริมาณ 2 ใน 3 ของความยาวหลอด แล้วปิดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน จากนั้นนำหลอดไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาคำนวณร้อยละฮีมาโตคริตโดยวัดสัดส่วนของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่อปริมาตรของเลือดทั้งหมดตามสูตร (16)

Percent haematocrit = (ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น/ปริมาตรเลือดทั้งหมด) x100

2.6 การแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวจากไตส่วนหน้า

ตัดไตส่วนหน้าเกลี่ยผ่านตะแกรงลวดลงในจานแก้วที่มีอาหาร (RPMI1640) อยู่ 3 มิลลิลิตร ดูดส่วนใสจากจานแก้วผ่านผ้ากรองขนาดตา 100 ไมครอน ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ปริมาณ 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารแยกเม็ดเลือดขาว histopaque 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร อีกหลอดแล้วดูดส่วนที่ได้จาก

ตารางที่ 1. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละชุดการทดลอง

Treatments	Total Carotenoids (µg/g)	Moisture (%)	Ash (%)	Fat (%)	Protein (%)	Fiber (%)
T1 (Control)	7.3±0^{d}	9.2±0.23^{b}	12.1±0.40^{c}	13.6±0.65^{a}	30.0±1.40^{ns}	2.3±0.13^{a}
T2 (6% *Spirulina*)	67.1±0^{b}	11.2±0.07^{a}	12.4±0.17^{bc}	13.0±0.43^{ab}	31.7±4.03^{ns}	1.0±0.06^{c}
T3 (12% *Spirulina*)	149.0±0^{a}	8.2±0.10^{c}	13.4±0.60^{b}	14.6±1.01^{a}	33.2±1.15^{ns}	0.9±0.03^{c}
T4 (6% *Cladophora*)	30.1±0^{c}	6.8±0.14^{d}	15.1±0.36^{a}	11.5±0.02^{b}	30.2±1.89^{ns}	1.6±0.14^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ ($p<0.05$) และ ns แสดงว่าไม่ความแตกต่างทางสถิติที่ ($p>0.05$)

การกรอง 3 มิลลิลิตรเติมลงในหลอดทดลองที่มีสารแยกเม็ดเลือดขาว จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที แล้วแยกเม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะสีขาวขุ่นๆ อยู่ตรงกลางออกมาใส่ในหลอดทดลองอีกหลอด เติม RPMI1640 3 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที แล้วดูดส่วนที่ใสด้านบนทิ้งทำซ้ำ 2 ครั้งเพื่อล้างเซลล์ นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วย hemacytometer แล้วปรับความเข้มข้นเซลล์ให้ได้ 4 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร วิธีการดัดแปลงมาจาก (17-19)

2.7 การเตรียมยีสต์

ละลายผงยีสต์ (*Saccaromyces cerevisae*) ที่ได้มาจากห้างหุ้นส่วนจำกัดเวชวิทย์ อำเภอเมืองเชียงใหม่ ลงในน้ำกลั่นแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) เพื่อใช้แทนสิ่งแปลกปลอมให้เซลล์เม็ดเลือดขาวจับกิน และปรับความเข้มข้นเซลล์ให้ได้ 2x10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยวิธีการดัดแปลงจาก Kledmanee (18)

2.8 การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity)

นำเม็ดเลือดขาวความเข้มข้น 4 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ผสมกับยีสต์ความเข้มข้นเข้มข้น 2 x10^7เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วน 2 ต่อ 3 ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าที่ 50 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดกระบวนการการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว ดูดส่วนผสมดังกล่าว 200 ไมโครลิตร หยดลงบนสไลด์บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 45 นาที เทของเหลวที่อยู่ด้านบนสไลด์ออก แล้วล้างด้วย RPMI1640 2 ครั้งเพื่อล้างเซลล์ที่ไม่ติดสไลด์ออก ย้อมเซลล์ด้วยวิธี diff quick ด้วยชุดน้ำยา Wright instant stain set โดยนำสไลด์จุ่มลงใน fixative solution และจุ่มลงใน Wright stain A แล้วจุ่มลงใน Wright stain B ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นรอให้แห้งจากนั้นนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งที่จับกินจับกินยีสต์และไม่กินยีสต์จำนวนเซลล์ 200 เซลล์ต่อสไลด์ เพื่อคำนวณหาร้อยละการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว โดยวิธีการดัดแปลงมาจาก (17-19)

Phagocytic activity = (จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่กินเซลล์ยีสต์/จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดที่นับ) x100

2.9 การวัดการเปลี่ยนแปลงสี

วัดการเปลี่ยนแปลงของสีบนตัวปลาที่บริเวณด้านล่างของครีบหลังถัดมาทางด้านหน้าทั้ง 2 ด้านด้วยเครื่อง KONIKI MINOLTA Color Reader รุ่น CR – 10 มีระบบการอ่านแบบ L*a*b* โดยค่าความสว่าง (L* value) มีค่าสูงหมายถึงสีมีความสว่าง และมีค่าต่ำหมายถึงสีมีความทึบ ค่าสีแดง (a* value) มีค่าสูงหมายถึงสีแดงเข้ม และมีค่าต่ำหมายถึงสีแดงอ่อน ค่าสีเหลือง (b* value) มีค่าสูงหมายถึงสีเหลืองเข้มและมีค่าต่ำหมายถึงสีเหลืองอ่อน (20)

2.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง เช่น ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย ฮีมาโตคริต การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว และการเปลี่ยนแปลงของสีบนตัวปลามาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ ONE WAY ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างหน่วยการทดลองจากนั้นใช้ Tukey's-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่นที่ $p<0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 16.0

3. ผลการวิจัย

3.1 การเติบโต

จากการทดลองเลี้ยงปลาทองเป็นระยะเวลา 60 วัน ด้วยอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกัน คือ อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินาผงร้อยละ 6 และ12 และอาหารผสมสาหร่ายไกผง 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ไม่มีความแตกต่างจากปลาทองที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม (ตารางที่ 2)

3.2 ฮีมาโตคริต (Haematocrit)

จากการทดลอง พบว่าค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตของปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายไปรูลินาผง ร้อยละ 6 และ 1 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดไม่มีความแตกต่างกับกันปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายไกผง ร้อยละ 6 ($p>0.05$) แต่จะแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด ($p<0.05$) (ตารางที่ 3)

3.3 การจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity)

ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่ายแตกต่างกัน พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดมีค่าเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุมโดยอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินาผง ร้อยละ 12 มีค่าเฉลี่ยการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวสูงที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันกับปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไกผง ร้อยละ 6 ($p>0.05$) ซึ่งจะแตกต่างกันกับปลาทองที่ได้อาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินาผง ร้อยละ 6 ($p<0.05$) (ตารางที่ 3)

3.4 การเปลี่ยนแปลงของสี

การเปลี่ยนแปลงสีบนผิวหนังของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกัน พบว่าค่าความสว่าง (L* value) ของปลาทองที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดแตกต่างจากปลาทองที่ได้อาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินาผง 6 เปอร์เซ็นต์ ที่มีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย

ตารางที่ 2. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกันระยะเวลา 60 วัน

Parameter	Treatments			
	T1 (Control)	T2 (6% *Spirulina*)	T3 (12% *Spirulina*)	T4 (6% *Cladophora*)
WG (%)	55.9±5.5^{ns}	55.6±7.9^{ns}	55.4±2.6^{ns}	46.8±2.2^{ns}
WGR (%/D)	0.9±0.1^{ns}	0.9±0.1^{ns}	0.9±0.0^{ns}	0.9±0.0^{ns}
ADG (g/F/D)	0.1±.0.0^{ns}	0.1±0.0^{ns}	0.1±0.0^{ns}	0.1±0.0^{ns}
SGR (%/D)	0.7±0.1^{ns}	0.7±0.1^{ns}	0.7±0.0^{ns}	0.7±0.0^{ns}
PER (U)	0.2±0.0^{ns}	0.2±0.0^{ns}	0.2±0.0^{ns}	0.2±0.0^{ns}
FCR (U)	1.4±0.1^{ns}	1.4±0.2^{ns}	1.4±0.1^{ns}	1.3±0.0^{ns}
SR (%)	81.8±0.0^{ns}	81.8±0.0^{ns}	81.8±0.0^{ns}	81.8±0.0^{ns}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ns ในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ($p>0.05$) D = วัน F = ตัว U = หน่วย

ตารางที่ 3. ค่าเฉลี่ยของ Haematocrit และ Phagocytosis ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกันระยะเวลา 60 วัน

Treatments	Haematocrit (%)	Phagocytosis (%)
T1 (Control)	37.8±2.9^{b}	51.9±1.1^{c}
T2 (6% *Spirulina*)	44.0±0.6^{a}	58.8±0.0^{b}
T3 (12% *Spirulina*)	43.6±2.2^{a}	62.7±1.4^{a}
T4 (6% *Cladophora*)	41.8±2.2^{ab}	61.0±1.9^{ab}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4. ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงสี ความสว่าง (L value) สีแดง (a value) และสีเหลือง (b value) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกันระยะเวลา 60 วัน

Treatments	L* value	a* value	b* value
T1 (Control)	51.2±1.4^{a}	28.5±0.1^{b}	46.3±0.3^{b}
T2 (6% *Spirulina*)	47.4±1.4^{b}	31.8±0.6^{a}	48.6±0.9^{a}
T3 (12% *Spirulina*)	48.3±1.0^{ab}	33.7±1.8^{a}	49.3±1.0^{a}
T4 (6% *Cladophora*)	50.1±0.9^{ab}	31.3±1.0^{ab}	49.9±0.9^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ ($p<0.05$)

สไปรูลินาผง ร้อยละ 12 และสาหร่ายไกผงร้อยละ 6 ($p>0.05$) ส่วนของการเกิดสีแดง (a* value) ปลาทองที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุดแตกต่างปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินาผงร้อยละ 6 และ 12 ($p<0.05$) โดยที่ไม่แตกต่างจากปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไกผง ร้อยละ 6 ($p>0.05$) ในส่วนของการเกิดสีเหลือง (b* value) ปลาทองที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยต่ำที่สุดแตกต่างปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา ร้อยละ 6 และ 12 และอาหารที่ผสมสาหร่ายไกร้อยละ 6 ($p<0.05$) (ตารางที่ 4)

4. สรุปและอภิปราย

จากการศึกษาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างจากปลาทองที่รับอาหารในชุดควบคุม เนื่องจากอาหารที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าปริมาณของใยอาหารในอาหารที่ผสมสาหร่ายไกนั้นมีค่าสูงกว่า อาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินา แต่อาหารที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด นั้นมีปริมาณใยอาหารต่ำกว่าอาหารในชุดควบคุม โดยปริมาณใยอาหารยังสอดคล้องกันกับอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินาร้อยละ 3 และ 5 และสาหร่ายไกร้อยละ 5 ที่ใช้เลี้ยงปลาปลาดุกแอฟริกา (12) และรวมไปถึงปริมาณของความชื้น เถ้า ไขมัน และแคโรทีนอยด์รวมมีอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกันก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการปรับปรุงคุณภาพปลารันชูโดยใช้รงควัตถุแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูลินา ซึ่งมีปริมาณของสาหร่ายสไป-รูลินาในอาหารที่แตกต่างกันพบว่าการเสริมสาหร่ายลงในอาหารไม่มีผลต่อการเติบโต อัตราการรอดและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (11) โดยต่างจากผลของการใช้สาหร่ายสไปรูลินาสดเป็นส่วนผสมในการเลี้ยงปลานิลแดง ต่อการเจริญเติบโตคุณค่าทางโภชนาการ และแคโรทีนอยด์ซึ่งพบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลินาสดร้อยละ 55 มีอัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีที่สุด (15)

การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกัน ค่าฮีมาโตคริตของปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดมีค่าสูงกว่าปลาทองในชุดควบคุม ต่างจากผลการศึกษาของ Phrom-

kunthong และคณะ (21) ได้การศึกษาในเรื่องผลของแคโรทีนอยด์จากสไปรูลินาต่อการสะสมแคโรทีนอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่าค่าฮีมาโตคริตของปลานั้นมีค่าไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาโดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ35.5 ลูกปลาบึกเท่ากับ ร้อยละ 20.6-35.7 (22) ปลาดุกลูกผสมเท่ากับร้อยละ 34.1 (23) ทางด้านความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงกว่าทองที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม สอดคล้องกับรายงานของ Hironobu *et al.* (24) ซึ่งได้ศึกษาผลของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาคาร์ฟ *Cyprinus carpio* ด้วยอาหารที่เสริมสาหร่ายสไปรูลินา พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินาที่ 1 และ 10 มิลลิกรัม เป็นเวลา 3 วันมีความสามารถในการการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวสูงกว่าปลาคาร์ฟในชุดควบคุม

การเปลี่ยนแปลงสีบนผิวหนังของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่แตกต่างกัน ปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด มีค่าของสีแดง (a* value) และค่าของสีเหลือง (b* value) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม นอกจากนั้นปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายยังมีค่าความสว่าง (L* value) ต่ำกว่าชุดควบคุมอีกด้วย สอดคล้องกับการศึกษาระดับของสาหร่ายสไปรูลินาในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการเร่งสีปลาทอง พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาแห้งในอาหารที่ระดับ ร้อยละ 1, 3 และ 5 มีผลทำให้สีของปลาทองมีสีเหลือง และสีแดงเพิ่มมากขึ้นตามระดับของสาหร่ายสไปรูลินาที่เสริมในอาหาร (4) เช่นเดียวกันกับการทดลองของ Meenakarn และ Jirapunpipat (11) ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพปลารันชูโดยใช้รงควัตถุแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูลินา พบว่าปลารันชูที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูลินาเป็นส่วนผสมจะมีสีเข้มกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีสาหร่ายเป็นส่วนผสม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลินาในปริมาณ ร้อยละ 12 และ 14 จะมีความเข้มของสีมากที่สุด Promya และคณะ (25) พบว่าปริมาณของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินาร้อยละ 15 สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลินา 10 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ผสมสาหร่ายสไปรูลินา Phrom-kunthong และคณะ (21) พบว่าค่าความสว่าง (L* value) ของปลานิลแดงแปลงเพศที่รับอาหารเสริมแคโรทีนอยด์จากทุกแหล่งมีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมยกเว้นจากเบต้าแคโรทีนสำหรับค่าสีแดง (a* value) และค่าสีเหลือง (b* value) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริม แคโรทีนอยด์จากทุกแหล่งสูงกว่าชุดควบคุม Sae-tan และคณะ (26) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายยูกลีนาในการเพิ่มสีปลานิลแดง พบว่าค่าความสว่าง (L* value) มีค่าสูงที่สุดในปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารในชุดควบคุม ส่วนของค่าสีแดง (a* value) และค่าสีเหลือง (b* value) มีค่าสูงที่สุดในปลานิลแดงที่เลี้ยงอาหารที่เสริมสาหร่ายยูกลีนาสดร้อยละ 15 ทั้งนี้เนื่องมาจากสัตว์น้ำสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในสาหร่ายที่ได้รับจากอาหารให้อยู่ในรูปของเบต้าแคโรทีนและแอสตาแซนทีน มาใช้ประโยชน์จึงทำให้เกิดสีแดง และสีเหลืองบนตัวของสัตว์น้ำได้ (27)

สรุปได้ว่าสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดให้ผลไม่แตกต่างกันต่อการเติบโต แต่สามารถช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และโดยเฉพาะสาหร่ายสไปรู-ลินาช่วยปรับปรุงสีทำให้สีบนตัวปลาทองมีสีแดง แต่ส่วนของสาหร่ายไกนั้นช่วยปรับปรุงให้ตัวปลามีสีเหลืองเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นในการนำสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดไปใช้นั้นขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้เลี้ยงในการปรับปรุงสีของปลา ถ้าต้องการปรับปรุงให้ปลามีสีแดงก็เลือกใช้สาหร่ายสไปรูลินา แต่ถ้า

ต้องการปรับปรุงให้ปลามีสีเหลืองก็ควรเลือกใช้สาหร่ายไก

5. เอกสารอ้างอิง

(1) Ritthisong T, Goldfish and commercial culture. 2002. 189 p. Thai.

(2) Punsiam S. Ornamentalfish aquarium farming manual. Bangkok: pailinbook-net; 2010. 126 p. Thai.

(3) Goodwin TW. The biochemistry of the carotenoids. vol. II. Animals, 2nd edn. London: Chapman and Hall; 1984. 224p.

(4) Kiriratnikom S, Zaau R, Suwanpugdee A. Effects of various levels of *Spirulina* on growth performance and pigmentation in Goldfish (*Carassius aurarus*). Songkla-nakarin J Sci Technol. 2005;27(Suppl 1): S133-9. Thai.

(5) Chitmanat C. Ornamentfish diseases. [Internet]. 2011 [cited 2011 May 6] Available from: http:// www.fishtech. mju.ac.th/FishNew1 /OSS/index.php?action=main&id=16&os_c_id=15&Category=. Thai.

(6) Udom U. Effects of synthetic carotenoids and *Spirulina* on growth performance carotenoid deposition and immunity in sex-reversed Red tilapia [MSc thesis]. Songkla: Songkla University; 2006. Thai.

(7) Peerapornpisal Y. The cultivation of *Spirulina.* Chiangmai: Department of Biology, Faculty of Science, Chiangmai University; 2003. 72p. Thai.

(8) Promya J, Traichaiyaporn S, Deming R. Phytoremediation of kitchen waste-water by *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geiteler: pigment content, production variable cost and nutritional value. Maejo Int J Sci Technol. 2008; 2(01): 159-71.

(9) Peerapornpisal Y. The cultivation of *Cladophora*: General information and its processing. Bangkok: The thailand research fund (TRF); 2007. 32p. Thai.

(10) Traichaiyaporn S. Commercial cultivation of algae. Chiangmai University; 2009. 47p. Thai.

(11) Meenakarn W, Jirapunpipat K. An application of carotenoid pigment from blue green algae (*Spirulina* spp.) for Ranchu fish quality improvement. Thai Fisheries gazette. 2004; 57(2): 107-115. Thai.

(12) Promya J, Chitmanat C. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). Int J Agr Biol. 2011; 13(1): 77–82.

(13) AOAC. Official method of analysis of the association of official analytical chemists. Washington DC: 1970; 1015p.

(14) Sommer TR, D'Souz FML, Morrisy NM. Pigmentation of adult rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* using the green algae *Haematococcus pluvialis*. Aqua-culture. 1992; 106: 63-74.

(15) Promya J, Ungsethaphand T, Sae-tan K. Effect of raw *Spirulina* on growth performance nutrition valued and carotenoid in Red tilapia (*Oreochromis*

sp.). J Fishsies Technol Res. 2007; 1(1): 30-41. Thai.

(16) Sukrakanchana N. Fish diseases laboratory manual. Songkhla: Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University; 2006. 103 p. Thai.

(17) Tondiew C. Effect of Noni (*Morinda citrifolia*) and Fahtalaijons (*Andrographis paniculata*) on pigmentation and phagocytosis in goldfish (*Carasius auratus*) [MSc thesis]. Bangkok: Kasetsart University; 2007. Thai.

(18) Kledmanee K. Immune response of Asian seabass (*Lates calcarifer*, Bloch) following diet supplementation with chitosan [MSc thesis]. Chonburi: Burapha University; 2010. Thai.

(19) Danayadol T, Uraiprasit D, Phuvanath S, Direkbussarakom S. An applied phagocytosis assay in fish. Thai Fisheries gazette. 2000; 53(5): 461-466. Thai.

(20) Jintasataporn O, Yuangsoi B, Stoner GR, Smithiwong P, Gabaudan J. Optimal concentration of total carotenoids on color intensity of fancy carp (*Cyprinus carpio*). Proceedings of the 43rd Kasetsart University Annual Conference; 2005, Bangkok, Thailand. Thai.

(21) Phromkunthong W, Udom U, Supamattaya K, Kiriratnikom. Effects of *Spirulina* carotenoid on carotenoid deposition and immunity in sex-reversed red tilapia. Songklanakarin J Sci Technol. 2007; 29(5): 1301-19.Thai.

(22) Phoonsamran K, Pimpimol T, Mengumpan K, Chitmanat C, Hamatology profile of the Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*) Juveniles. Chiang Mai Vet J. 2008; 6(2): 153-63. Thai.

(23) Phromkunthong W, Pipattanawattanakul A. Effects of *Spirulina* sp. on growth performance and antibody levels in hybrid catfish *Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus* (Burchell). Songklanakarin J Sci Technol. 2005; 27(Suppl1): S115-32. Thai.

(24) Hironobu W, Kazuki O, Tassaakka A, Toshimitsu K, Masahiro S. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp *Cyprinus carpio*. Aquaculture. 2006; 258: 157–63.

(25) Promya J, Hongvityakorn P, Chitmanat C. Development of native *Spirulina platensis* to serve as feed pigment increament in Red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). Abstract in proceedings of Agriculture and Technology Fair; 2003 Dec 5-6; Mahasarakham, Thailand. Thai.

(26) Sae-tan K, Somsorn P, Supan T, Montien-Art B, Promya J. The utilization of *Euglena sanguinea* Ehrenberg in enhancing red tilapia (*Oreochomis* sp.) color. J Sci Res. 2007; 6(supp l): S349-54. Thai.

(27) Ohkubo M, Miyuki T, Takashi M, Takao M. Carotenoids and their metabolism in the goldfish *Carassius auratus* (Hibuna). Comp Biochem Physiol. 1999; 124: 333–340.