บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพของอาหาร

จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า การเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมคาโรทีนอยด์สังเคราะห์ 3 ชนิด และเสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ในแต่ละระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการรอดตายของปลา อยู่ในเกณฑ์ดีไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ทั้งนี้ชุดควบคุมเป็นสูตรที่ใช้เลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศในการทดลองที่ผ่านมาและปลามีการเจริญเติบโตดี (วุฒิพร และอัจฉริยา, 2548) แสดงว่าการเสริมคาโรทีนอยด์จากคาโรทีนอยด์สังเคราะห์และการเสริมจากสไปรูไลนาแห้งไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลา สอดคล้องกับการทดลองของ ดาราวรรณ และคณะ (2546) ที่ทำการทดลองผลของแอสตา-แซนทินในปลากระแหที่ระดับ 25, 50, 100 และ 200 ppm พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของปลากระแห ส่วน พิชญา และคณะ (2544) ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินในปลากะพงแดง ที่ระดับ 0, 50, 100 และ150 ppm ก็พบว่าไม่ส่งผลต่อน้ำหนักเฉลี่ย, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และ อัตราการรอดตายของปลา นอกจากนี้จากการศึกษาในปลาเรนโบว์ เทราท์ที่เสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 0, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ppm เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับแคนตาแซนทินที่ระดับเดียวกันก็พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลา (Choubert and Storebakken, 1989) ในปลา red porgy (*Pagrus pagrus*) ที่เสริมแอสตา-แซนทินที่ระดับ 20 และ 40 ppm และเสริมแคนตาแซนทิน 40 และ 100 ppm ก็พบว่าไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลา (Kalinowski *et al,.* 2005) ในปลารันชูที่ใช้คาโรที-นอยด์ที่ได้จากการเสริมสไปรูไลนาในปริมาณ 0, 8, 10, 12 และ 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอด (วันเพ็ญ และกาญจนา, 2547) ส่วนการทดลองในกุ้งก็ให้ผลเช่นเดียวกับในปลา โดยพบว่าในกุ้งคุรูม่าที่ได้รับอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินที่ระดับ 0, 50, 100, 200 และ 400 ppm พบว่าไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (Yamada *et al.,* 1990; Chien and Jeng, 1992; Negre-Sadargues *et al.,* 1993) ถึงแม้ว่าในการทดลองครั้งนี้มีการเสริมสไปรูไลนาแห้งในระดับที่เพิ่มสูงขึ้นลงไปในอาหารมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนจากพืชเพิ่มขึ้นและปริมาณโปรตีนจากสัตว์ในแต่ละสูตรอาหารลดลง จะเห็นได้ว่า

จากการที่ปริมาณโปรตีนจากสัตว์ในอาหารลดลงไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโต อัตราการรอดตายของปลานิลลดลง การที่ปลาได้รับอาหารเสริมสไปรูไลนาแห้ง สามารถเจริญเติบโตได้ดีเท่ากับปลาในกลุ่มควบคุม แสดงว่าปลาสามารถใช้โปรตีนจากสไปรูไลนาทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ ดังนั้นการเลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศโดยให้อาหารที่เสริมคาโรที-นอยด์โดยใช้สไปรูไลนาแห้งเป็นส่วนประกอบเพื่อพัฒนาสีของปลานิลแดงแปลงเพศ จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต Ehrenberg (1980) กล่าวว่าสไปรูไลนาเป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพในอาหารสัตว์ เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่จำเป็น อีกทั้งยังประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังไม่มีผนังเซลล์จึงไม่มีเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบ (Hill, 1980; Nakamura, 1982) ทำให้ง่ายต่อการย่อย และดูดซึมไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้พบว่าการเสริมคาโรทีนอยด์ทำให้ปลามีอัตราการกินอาหารเพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่เสริมคาโรทีนอยด์ที่ได้จากการเสริมสไปรูไลนาแห้ง เนื่องจากส-ไปรูไลนามีกลิ่นที่ดึงดูดให้ปลายอมรับอาหารได้มากขึ้นแต่ต้องเสริมในระดับที่เหมาะสมด้วย โดย Hirano และ Suyama (1985) รายงานว่าการเสริมสไปรูไลนาในอาหารปลาอายูจะช่วยปรับปรุงรสและกลิ่นของอาหารปลาได้ นอกจากนี้พบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุมยกเว้นชุดที่เสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ในระดับ 50 ppm และ 200 ppm สำหรับประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่าทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุมยกเว้น ชุดที่เสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ในระดับ 50 ppm ส่วนการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิพบว่าในสูตรควบคุมจะมีค่าสูงกว่าในชุดการทดลองอื่นๆ และในสูตรที่เสริมสไปรูไลนาแห้ง พบว่าการเสริมถึงระดับ 10 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มของการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิดี ยกเว้นในสูตรที่ 8 ที่เสริมสไปรูไลนาประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำ สอดคล้องกับการทดลองของ วุฒิพร และอัญชลี (2548) ทดลองโดยใช้สไปรูไลนาทดแทนปลาป่นในอาหารปลาดุกพันธุ์ผสมที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การทดแทนปลาป่นด้วยสไปรูไลนาในอาหารปลาดุกพันธุ์ผสมตั้งแต่ 15 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปมีผลทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาไม่ดี แต่ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์จะทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดี เช่นเดียวกับ Olvera-Novoa และคณะ (1998) ทดลองเสริมสไปรูไลนาทดแทนปลาป่นในอาหารปลาหมอเทศที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการใช้สไปรูไลนาทดแทนปลาป่นในอาหารปลาหมอเทศ ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาดีที่สุด และการเสริมสไปรูไลนาทดแทนปลาป่นเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของอาหารลดลง เป็นไปได้ว่าการเสริมสไป-รูไลนาลงไปในระดับที่สูงเกินไปมีผลต่อความสมดุลของกรดอะมิโนรวมในอาหาร เช่นในสไป-รูไลนาจะมีไลซีนน้อยกว่าในปลาป่น เมื่อเพิ่มสไปรูไลนาและลดปลาป่นจะทำให้ไลซีนในอาหารต่ำลง (Olvera-novoa *et al*., 1998) มีผล

ทำให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง (Halver *et al*., 2002) อย่างไรก็ตามระดับการเสริมสไปรูไลนาในอาหารปลาแต่ละชนิดมีระดับแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการกินอาหารของปลา การย่อยโปรตีนจากพืชของปลา และความต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็นของปลาแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน (De Silva and Anderson, 1995)

4.2 องค์ประกอบเลือด

ค่าองค์ประกอบเลือด พบว่า ค่าฮีโมโกลบินรวม ค่าฮีมาโตคริต ค่าพลาสมาโปรตีน และ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของปลาปกติและมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของนิรุทธ์ (2544); วุฒิพร และคณะ (2547); Li และ Robinson (1997); Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2000) โดยค่าฮีโมโกลบินรวม ค่าฮีมาโตคริต ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ส่วนค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเสริมคาโรทีนอยด์ จากแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ซีแซนทินสังเคราะห์ และสไปรูไลนา เนื่องจากคาโรทีนอยด์ช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์เม็ดเลือดขาว จากกระบวนการออกซิเดชัน เม็ดเลือดขาวจึงถูกทำลายน้อยลง นอกจากนี้คาโรทีนอยด์จะส่งผลให้ร่างกายมีการสร้างเซลล์ชนิดกรานูลาร์ (granular) เพิ่มขึ้น เช่น แมคโครฟาจ, ที ลิมโฟไซท์ และ บี ลิมโฟไซท์ (Gabaudan, 1996) ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่าชุดที่ไม่เสริมคาโรทีนอยด์ สอดคล้องกับการทดลองของ Duncan และ Klesius (1996) พบว่าเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซท์ (lymphocyte) เพิ่มขึ้นเมื่อปลากดอเมริกัน ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูไลนา 2.7 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ วุฒิพร และอัญชลี (2548) ทดลองเสริมสไปรูไลนาทดแทนปลาป่น ที่ระดับ 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลาดุกพันธ์ผสม ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีแนวโน้มสูงขึ้นในชุดการทดลองที่เสริมสไปรูไลนาทุกระดับ นอกจากนี้การทดลองของ มะลิ และคณะ (2543) ที่พบว่าการเสริมแอสตาแซนทิน ส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนเลือดของกุ้งกุลาดำสูงขึ้น

4.3 ค่าสีของตัวปลาและคาโรทีนอยด์รวมในตัวปลา

ค่าสีของตัวปลา พบว่า การเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ ซีแซนทินสังเคราะห์ และเสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ในระดับต่างๆ ทำให้สีของตัวปลาเพิ่มขึ้น ยกเว้นชุดการทดลองที่เสริมเบตา-แคโรทีนสังเคราะห์ที่ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม โดยทำให้ปลามีสีแดงและสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้สีขาวหรือความสว่าง (L) ลดลง โดยการเพิ่มขึ้นของค่าระดับสี

แดง-เขียว (a) และเหลือง-น้ำเงิน (b) จะสัมพันธ์กับสีแดงและสีเหลืองที่เพิ่มขึ้นของตัวปลา สอดคล้องกับการทดลองของ Smith และคณะ (1992) ที่ทำการเสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์ที่ระดับ 0, 15, 30, 45 และ 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ในปลาโคโฮ แซลมอน ซึ่งทำการวัดค่าระดับสีแดง-เขียว (a) เหลือง-น้ำเงิน (b) และค่าความสว่าง (L) ในเนื้อปลาพบว่า ค่าสีแดงและสีเหลืองเพิ่มขึ้นตามระดับของแอสตาแซนทินที่เพิ่มขึ้น จากการทดลองครั้งนี้ชุดการทดลองที่เสริมแอสตาแซนทินปลาจะมีค่าความแดงและความเหลืองสูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากแอสตาแซนทินจะให้สีเหลืองส้มและแดงในเนื้อ ผิวหนัง และ ครีบ (NRC, 1993) ส่วนชุดการทดลองที่เสริมซีแซนทินและคาโรทีนอยด์ที่ได้จากการเสริมสไปรูไลนา ซึ่งมีเบตา-แคโรทีน เบตา-คริปโตแซนทิน และซี-แซนทินเป็นคาโรทีนอยด์ที่เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเบตา-แคโรทีน, เบตา-คริปโตแซนทิน และซี-แซนทินจะให้สีเหลือง ซึ่งปลานิลแดงแปลงเพศนั้นสามารถเปลี่ยนแปลงคาโรทีนอยด์จากอาหารและสะสมในรูปของโรโดแซนทิน (rhodoxanthin) จึงทำให้เกิดสีแดงที่ตัวปลา (Katsuyama and Matsuno, 1988) ทำให้ปลามีสีเหลืองและสีแดงแตกต่างกับชุดควบคุม สอดคล้องกับ Ohkubo และคณะ (1999) รายงานว่า ปลาทองจะเปลี่ยนแปลงคาโรทีนอยด์ในอาหารและสะสมในรูปแอสตา-แซนทิน และ เบตา-แคโรทีนเป็นหลักจึงทำให้เกิดสีส้ม-เหลืองในตัวปลาทอง สอดคล้องกับการทดลองของ สุภฎา และคณะ (2548) ที่ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหาร 4 สูตร คือ อาหารที่ไม่เสริมสไปรูไลนา และอาหารที่เสริมสไปรูไลนาแห้ง 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าค่า L ในชุดที่ไม่เสริมสไปรูไลนาแห้งมีค่าสูงที่สุด ส่วนค่า a และ ค่า b ในชุดที่เสริมสไปรูไลนาแห้งมีค่าสูงขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของสไปรูไลนาแห้งในอาหาร 3-5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Kalinowski และคณะ (2005) พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินทำให้สีของปลา red porgy ดีขึ้น และผลดังกล่าวก็สอดคล้องกับการรายงานที่พบในปลาเรดซีบรีม เช่นเดียวกัน (Katayama *et al.,* 1965: Tanaka *et al.,* 1976: Nakazoe *et al.,* 1984) และในการทดลองในปลารันชูก็พบว่า การเสริมสไปรูไลนาเป็นแหล่งคาโรทีนอยด์ทำให้ความเข้มของสีปลาเพิ่มขึ้นตามปริมาณสไปรูไลนาที่ประกอบในอาหารและระยะเวลาการเลี้ยง (วันเพ็ญ และกาญจนา, 2547) ทิพวรรณ และคณะ (2541) ทำการทดลองเสริมแอสตาแซนทินในอาหารสำหรับปลาเงินปลาทองที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าแอสตาแซนทินที่ปริมาณ 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะสามารถกระตุ้นให้ปลาเงินปลาทองเกิดสีได้ดี นอกจากนี้ในชุดการทดลองที่เสริมเบตา-แคโรทีน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี เป็นไปได้ว่าปลานิลไม่สามารถเปลี่ยนแปลงเบตา-แคโรทีนในอาหารไปใช้ในร่างกายได้ เช่นเดียวกับในปลาเรดซีบรีม สามารถเมแทบอไลซ์ (metabolize) ลูทีน หรือ ซีแซนทินได้แต่ไม่สามารถเมแทบอไลซ์เบตา-แคโรทีน หรือแคนตาแซนทิน ไปเป็นทูน่าแซน-ทิน หรือแอสตาแซนทินได้ (Simpson, 1982) เหมือนกับปลาแฟนซี คาร์ปมีการรายงานว่าไม่สามารถเมแทบอไลซ์เบตา-แคโร

ทีนได้ แต่สามารถเปลี่ยนซีแซนทินหรือลูทีนไปเป็นแอสตาแซน-ทินได้ (Boonyaratpalin, 2000) โดย Chein และ Jeng (1992) รายงานว่าจะต้องมีกระบวนการหลายขั้นตอนในการเปลี่ยนเบ-ตาแคโรทีนเป็นแอสตาแซนทิน ซึ่งขั้นตอนของวิธีเมแทบอลิซึมดังกล่าวจะเป็นเหตุให้การเปลี่ยนรูปของคาโรทีนอยด์เป็นไปอย่างช้าๆ ทำให้ระดับความเข้มข้นของคาโรที-นอยด์ในอาหารไม่มีผลโดยตรงต่อระดับของแอสตาแซนทิน ทั้งนี้คาโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการใช้งานในสัตว์น้ำ (bioavailability) แตกต่างกัน

คาโรทีนอยด์รวมในตัวปลามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเสริมคาโรทีนอยด์จาก แอสตา-แซนทินสังเคราะห์ ซีแซนทินสังเคราะห์ และเสริมสไปรูไลนาลงไปในอาหาร ยกเว้นสูตรอาหารที่เสริมเบตา-แคโรทีน โดยพบว่าค่าคาโรทีนอยด์รวมในตัวปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมซีแซนทิน 200 ppm และการเสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 150 ppm มีค่าใกล้เคียงกัน การเสริมคาโรทีนอยด์ในอาหารให้ปลากินจะทำให้มีการสะสมคาโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการทดลองของ วุฒิพร และอัญชลี (2548) ที่เสริมสไปรูไลนาในปลาดุกพันธุ์ผสมทำให้คาโรทีนอยด์รวมในตัวปลาเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Smith และคณะ (1992) ศึกษาระดับแอสตาแซนทินเสริมในอาหาร โดยทดลองในปลาโคโฮ แซลมอน พบว่า การสะสมแอสตาแซนทินเพิ่มขึ้นตามระดับของแอสตาแซนทินที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ส่วน Kalinowski และคณะ (2005) ที่ทดลองเสริมแอสตา-แซนทินในปลา red porgy ทำให้สีของปลาแดงสดขึ้น โดยแอสตาแซนทินที่เสริมอยู่ในรูปเอสเธอร์ทำให้ปลาชนิดนี้มีการนำแอสตาแซนทินไปใช้ประโยชน์ได้ดี ส่วนในปลาเรดซีบรีม ก็เช่นเดียวกัน (Katayama *et al.,* 1965: Tanaka *et al.,* 1976: Nakazoe *et al.,* 1984) โดยพบว่าแอสตาแซนทินในรูปเอสเธอร์ มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับสะสม และเร่งสีของผิวหนังในปลาเรดซีบรีม ได้ดีกว่าแอสตาแซนทินอิสระ (Lorenz, 1998) อย่างไรก็ตามปริมาณคาโรทีนอยด์ในระดับที่สูงเกินไปก็อาจมีผลให้สัตว์น้ำ นำไปใช้และสะสมได้น้อยลงได้ดังรายงานของ Storebakken และ Goswami (1996) พบว่า ปลาแอตแลนติก แซลมอน (*Salmo salar*) ที่กินอาหารผสมแอสตา-แซนทิน 5 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะมีความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในพลาสมา 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ปลาที่กินอาหารผสมแอสตาแซนทิน 60 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะมีความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในพลาสมาลดลงถึง 3 เท่า โดยในชุดการทดลองที่เสริมสไป-รูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 200 ppm มีค่าคาโรทีนอยด์รวมต่ำกว่าชุดการทดลองที่เสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 150 ppm ซึ่งการลดลงของคาโรทีนอยด์รวมในตัวปลาหรือประสิทธิภาพการนำคาโรทีนอยด์ไปสะสมในตัวสัตว์น้ำ อาจเนื่องมาจากประสิทธิภาพการย่อยและข้อจำกัดของอัตราการดูดซึม ซึ่งอาหารที่เสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 200 ppm จะมีเยื่อใยสูงกว่าอาหารที่เสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 150 ppm จึงทำให้ปลาย่อย

ได้น้อยกว่าทำให้คาโรทีนอยด์สะสมในร่างกายน้อยลง ส่วนArredondo-Figueroa และคณะ (2003) รายงานว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมสารสีที่สกัดจากพริกหวานนาน 28 วัน มีปริมาณคาโร-ทีนอยด์รวมในเนื้อต่ำกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรเดียวกันนาน 14 วัน โดยเป็นไปได้ว่าเมื่อกุ้งได้ใช้และสะสมสารสีในกล้ามเนื้อจนถึงระดับที่อิ่มตัวแล้ว กลไกของร่างกายจะแสดงออกโดยหยุดการสะสมสารสีในเนื้อลง และกุ้งมีการนำสารสีที่สะสมถูกใช้ประโยชน์ในกระบวนการที่เกี่ยวข้องอย่างต่อเนื่องต่อไป ทำให้คาโรทีนอยด์ในตัวลดลง นอกจากนี้ความเพียงพอของคาโรทีนอยด์ที่ปลาได้รับ (Torrissen and Naevdal, 1984; Torrissen *et al.,* 1990; Kalinowski *et al.,* 2005) ปัจจัยที่มีผลต่อความเพียงพอของคาโรทีนอยด์ที่ปลาได้รับ จะขึ้นกับ พันธุกรรม ปัจจัยทางชีววิทยา เช่น ขนาดและชนิดของสัตว์และสารอาหาร (Torrissen, 1985) โดยเฉพาะกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวจะช่วยในการดูดซึมคาโรทีนอยด์เนื่องจากคาโรทีนอยด์ละลายได้ในไขมัน (Fox and Vevers, 1960) ด้วยเหตุนี้การดูดซึมและเมแทบอลิซึมอาจจะสัมพันธ์กับระดับของไขมันในอาหาร โดย Babosa และคณะ (1999) รายงานว่าระดับไขมันในอาหารมีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากในการดูดซึมแอสตาแซนทินของปลาเรน-โบว์เทราท์ ทั้งนี้ในอาหารที่มีไขมันสูงปลาจะสามารถดูดซึมและนำเอาแอสตาแซนทินเอสเธอร์ไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่แตกต่างกับแอสตาแซนทินอิสระ และจากอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าอัตราการได้รับและอัตราการสะสมคาโรทีนอยด์ในตัวปลา (Menasveta *et al.,* 1993) ก็ทำให้การสะสมคาโรทีนอยด์ลดลงเช่นกัน โดยในปลาเรดซีบรีม ที่ได้รับอาหารที่เสริม เบตา-แคโรทีน หรือ แคนตาแซนทิน จะทำให้ระดับคาโรทีนอยด์ที่สะสมในผิวหนังลดลง (Lorenz, 1998) และพบในปลา red porgy หลังจากให้อาหารผสมคาโรทีนอยด์ไป 105 วัน ปลาจะมีสีแดงลดลง (Kalinowski *et al.,* 2005) และในกุ้งกุลาดำก็เช่นเดียวกันจะมีระดับคาโรทีนอยด์ลดลงเมื่อน้ำหนักเพิ่มขึ้น (Menasveta *et al*., 1993) โดย Pan และคณะ (2001) กล่าวว่ากุ้งกุลาดำที่มีน้ำหนัก 4 มิลลิกรัมและเพิ่มเป็น 36 มิลลิกรัม ทำให้ความเข้มข้นของแอสตาแซนทินในตัวลดลง 1.27 ไมโครกรัม/กรัม ดังนั้นถ้าจะให้สัตว์น้ำได้รับคาโรทีนอยด์ติดต่อกันเป็นเวลานานควรให้ที่ความเข้มข้นต่ำจะมีประสิทธิภาพมากกว่าที่ความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ Hata และ Hata (1975) ทดลองนำ เบตา-แคโร-ทีน, ลูทีน และ ซีแซนทีน ที่มีคาร์บอนกัมมันตรังสี (radioactive carbon) ผสมในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ จากนั้น 48 ชั่วโมง สามารถตรวจพบคาโรทีนอยด์ทั้ง 3 ชนิด ที่บริเวณผิวหนัง, เนื้อ, ตับ และ ระบบทางเดินอาหาร สอดคล้องกับ Liao และคณะ (1993) และ Latscha (1991) กล่าวว่าสาหร่าย สไปรูไลนามีผลต่อการเกิดสีในผิวหนัง และเนื้อของสัตว์น้ำ โดยขึ้นอยู่กับปริมาณและระยะเวลา (Cuzon *et al.,* 1985) และคาโรทีนอยด์มีผลต่อสุขภาพของปลา โดยสามารถลดความเครียด ทำให้ปลามีสุขภาพดี สามารถทนต่อเชื้อก่อโรคต่างๆได้ดีขึ้น (Nakano *et al*, 2003)

4.4 ภูมิคุ้มกัน

จากการศึกษาพบว่าการเสริมคาโรทีนอยด์ในอาหารปลานิลแดงแปลงเพศ มีผลในการเพิ่มระดับแอนติบอดี โดยเมื่อปลานิลแดงแปลงเพศได้รับอาหารที่เสริมแอสตาแซนทิน ซีแซนทิน เบตา-แคโรทีน และสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ในระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และทำการฉีดวัคซีนเชื้อตายของ *Streptococcus agalactiae* เพื่อศึกษาค่าแอนติบอดี ไตเตอร์ พบว่าปลาทดลองที่ได้รับอาหารทดลองสริม แอสตาแซนทินสังเคราะห์ ซีแซนทินสังเคราะห์ และคาโรทีนอยด์จากสไปรูไลนาแห้ง มีค่าแอนติบอดี ไตเตอร์สูงกว่าค่าของปลาที่ได้รับอาหารทดลองในชุดควบคุม (ไม่เสริมคาโรทีนอยด์) ยกเว้นชุดการทดลองที่เสริม เบตา-แคโรทีนพบว่า ไม่มีผลต่อค่าแอนติบอดี ไตเตอร์ โดยคาโรทีนอยด์จะช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น เซลล์เม็ดเลือด เม็ดเลือดขาวชนิดบี และที มาโครฟาจ ฟิกฟาโกซัย เป็นต้น ช่วยส่งเสริมให้เซลล์เหล่านี้รวมทั้งสารน้ำอื่นๆ ในระบบทำงานได้ดีขึ้น แอนติบอดีเกิดจากบีเซลล์แบ่งตัวเป็นพลาสมาเซลล์แล้วสร้างแอนติบอดีขึ้นมา เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายเป็นครั้งที่ 2 โดยเมื่อสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายอีก พลาสมาเซลล์จะทำการสร้างแอนติบอดี ขึ้นมาจับกับสิ่งแปลกปลอมเกิดเป็นแอนติเจนแอนติบอดีคอมเพล็ก ต่อจากนั้นระบบคอมพลีเมนต์ จะทำงานเกิดการทำลายสิ่งแปลกปลอม (Belay, 2002) สอดคล้องกับการทดลองของ Direkbusarakom และ Danayadol (1999) ที่ศึกษาการเสริมสาหร่าย สไปรูไลนาในอาหารปลากะพงขาว (seabass, *Lates calcarifer*) ขนาด 200 กรัม พบว่าเมื่อเสริมสาหร่ายสไปรูไลนา 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดการตกตะกอนระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจนต่อเชื้อ *Streptococcus* sp. ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งชลธิชา (2541) รายงานว่าปลานิลสีแดงที่ได้รับแอสตาแซนทินจะมีความต้านทานต่อโรคสูงขึ้น โดยจะไปเพิ่มปริมาณของ มาโครฟาจ, ที ลิมโฟไซท์ และ บี ลิมโฟไซท์ ให้มากขึ้นก็จะส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันมีประสิทธิภาพในการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมสูงขึ้น เช่นเดียวกันกับ Duncan และ Klesius (1996) พบว่าเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซท์ (lymphocyte) เพิ่มขึ้นเมื่อปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูไลนา 2.7 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหาร และ Lee (1999) ที่พบว่าเมื่อเสริมสาหร่ายสไปรูไลนาผง 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ส่งผลให้กุ้งมีระบบภูมิต้านทานดีขึ้น โดยมีค่าการจับกินโดยวิธีการโอบล้อม (phagocytotic activity) สูงขึ้น จากการทดลองของ Peto และคณะ (1981) อ้างโดย Hughes (2001) พบว่าคาโรทีนอยด์สามารถป้องกันการเกิดมะเร็ง และเบตา-แคโรทีนรวมทั้งคาโรทีนอยด์ตัวอื่นๆ สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันป้องกันและกำจัดเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น

ในกระบวนการออกซิเดชันภายในร่างกายทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น ออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยว (singlet oxygen), ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide), เปอรอกซิล (peroxyl) และไฮดรอกซิล (hydroxyl) ซึ่งจะมีผลทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย รวมทั้งเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากกระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมในร่างกายทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น เซลล์สิ่งแปลกปลอมรวมทั้งเซลล์ร่างกายจะถูกทำลายด้วย แต่ร่างกายจะมีกลไกการป้องกันโดยใช้สารต้านอนุมูลอิสระไปจับกับอนุมูลดังกล่าวเพื่อลดความเป็นพิษ สารต้านอนุมูลอิสระจะได้จากอาหารที่กินเข้าไป ซึ่งอยู่ในรูปของสารอาหารที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อย (micronutrients) และพวกที่ไม่ใช่สารอาหาร (non-nutrients) (Hughes, 2001) เช่น วิตามินเอ, วิตามินอี, วิตามินซี และ คาโรทีนอยด์ เป็นต้น สารเหล่านี้สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ (Gemma *et al.,* 2002) โดยพบว่า คาโรทีนอยด์มีความสำคัญต่อกระบวนการทางชีวเคมี คือ สามารถป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ โดยช่วยทำลายอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่มีพิษซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการทำงานของเซลล์ (Miki, 1991) และป้องกันมิให้องค์ประกอบเซลล์ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระโดยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) (Gabaudan, 1996) นอกจากนี้ยังมีผลในการเพิ่มปริมาณของ แมคโครฟาจ, ที ลิมโฟไซท์ และ บี ลิมโฟไซท์ เมื่อแมคโครฟาจ, ที ลิมโฟไซท์ และ บี ลิมโฟไซท์ เพิ่มมากขึ้น ก็จะส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคสูงขึ้น และป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์เม็ดเลือดขาว จากกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งในกระบวนการนี้มักจะก่อให้เกิดฟรีเรดดิเคิล (free radical) ซึ่งมีผลในการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ (Miki, 1991 อ้างโดย Thompson *et al*, 1995) นอกจากนี้จากการทดลองนำสาหร่ายชนิดอื่นมาเป็นแหล่งคาโรทีนอยด์ โดย Amar และคณะ (2004) พบว่า เมื่อนำเบตา-แคโรทีนที่สกัดจากสาหร่าย ดูนาลิเลลลา และแอสตาแซนทินจากยีสต์ฟาฟเฟีย (*Phaffia rhodozyma*) เสริมในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ในปริมาณ 100 และ 200 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยค่า lysozyme activity, phagocytic activity หรือการจับกินเชื้อโรค ฮิวมูรอลเฟกเตอร์ และ ซีรัมอัลเตอร์เนทีพคอมพลีเมนต์เอกติวิตี (serum alternative complement activity) ของปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมคาโรทีนอยด์มีค่าสูงกว่าปลาชุดควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Thompson และคณะ (1995) ที่พบว่าการเสริมแอสตาแซนทินและวิตามินเอในอาหารทำให้ความว่องไวของซีรัม แอนติโปรติเอส (serum antiprotease) และซีรัมคอมพลีเมนต์ (serum complement) ในปลาเรนโบว์เทราท์เพิ่มมากขึ้น โดยจะทำหน้าที่ในการกำจัดเอนไซม์โปรติเอสที่ขับออกมานอกเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรค ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถย่อยสลายเนื้อเยื่อของเจ้าบ้านได้

นอกจากนี้ Richmond (1986) ยังพบว่าที่บริเวณผนังเซลล์ของสาหร่ายสไปรูไลนามีโพลีแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีลักษณะเหมือนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นเมื่อร่างกายได้รับสาหร่ายสไปรูไลนา ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันกระตุ้นการสร้าง บี ลิมโฟไซท์ ที่บริเวณม้ามและ

ไขสันหลัง เพื่อกำจัดและจดจำ (memory) เมื่อได้รับเชื้อโรค ก็จะส่งผลให้กระบวนการ กำจัดเชื้อเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว มีการจับกินหรือค่าฟาโกซัยติก แอคติวิตีเพิ่มขึ้น (Sakai, 1999) ดังนั้นในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมคาโรทีนอยด์ที่ได้จากการเสริมสไปรูไลนาแห้งจึงมีค่าแอนติบอดี ไตเตอร์สูงกว่าในชุดที่เสริมแอสตาแซนทินสังเคราะห์และซีแซนทินสังเคราะห์ เนื่องจากมีส่วนอื่นของสไป-รูไลนาช่วยในการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันได้ จากการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมสไปรูไลนาแห้งให้มีคาโรทีนอยด์ที่ระดับ 150 และ 200 ppm ส่งผลให้แอนติบอดีมีค่าเจือจางที่สุดที่สามารถเกิดตะกอนกับแอนติเจนได้