บทที่ 2

การทดลองที่ 1. ศึกษาผลของแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina* sp.) พริกหวาน (*Capsicum annuum* L. var *grossum*) และปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacp.) เปรียบเทียบกับเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด และการเร่งสีตัวกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*)

วิธีการทดลอง

1.1 การเตรียมกุ้งทดลอง

กุ้งขาวขนาด 2-3 กรัม จากฟาร์มเลี้ยงของเกษตรกร ที่ไม่มีรายงานการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสมาก่อนจำนวน 1,000 ตัว นำมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ที่บรรจุน้ำทะเล 5 ตัน เตรียมสีและคุณภาพน้ำโดยเติมปูนโดโลไมท์เพื่อปรับค่าความเป็นด่างให้มีค่าอยู่ในช่วง 80-120 พีพีเอ็ม และความเป็นกรด-ด่างช่วง 7.5-8.5 เลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป 2- 3 วัน หลังจากนั้นจึงทำการคัดแยกกุ้งลงเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 250 ลิตร จำนวน 20 ตู้ๆ ละ 30 ตัว แล้วเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปชุดควบคุมเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้กุ้งคุ้นเคยกับสภาพการเลี้ยงในตู้ทดลองจึงทำการชั่งน้ำหนักกุ้งทุกตู้ก่อนเริ่มให้อาหารทดลองชุดต่างๆ

1. 2 การสกัดแคโรทีนอยด์

แหล่งของแคโรทีนอยด์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ สาหร่ายสไปรูไลนา พริกหวาน และปาล์มน้ำมัน การสกัดสารสีจากวัตถุดิบข้างต้นดำเนินการโดยนำพริกหวานและปาล์มน้ำมันผ่าครึ่งแกะเม็ดออก นำไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และบดหยาบๆ นำตัวอย่างทั้งหมดมาสกัดแคโรทีนอยด์ โดยแช่วัตถุดิบแต่ละชนิดในอะซีโตน (acetone) ให้ท่วมในภาชนะปิดฝาสนิทที่บแสง หรือหุ้มภาชนะด้วยกระดาษทึบแสง หลังทิ้งไว้ 3-5 วัน กรองแยกสารละลายออก ส่วนกากทำการสกัดซ้ำด้วยสารชนิดเดียวกันตามขั้นตอนข้างต้นจนกระทั่งไม่พบสารสีละลายออกมา ส่วนสารละลายที่กรองได้แต่ละครั้งนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งภายใต้สูญญากาศ (rotary vacuum evaporator) รวบรวมสารสกัดที่ระเหยแห้งทั้งหมดใส่กรวยแยก แล้วเติมเฮกเซน (hexane) กับน้ำจนกระทั่งสารละลายแยกชั้น จึงนำสารละลายส่วนบนมาระเหยแห้งด้วยแก๊ส

ไนโตรเจน สารสกัดแคโรทีนอยด์จากพริกหวานนำมาวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีการของ Yamada และคณะ (1990) ส่วนสารสกัดแคโรทีนอยด์จาก สไปรูไลนา และปาล์มน้ำมัน นำมาสปอนนิฟิเคชั่น (sponnification) เพื่อกำจัดคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ไขมัน (fat) และน้ำมัน (oil) ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมในเอทธิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ในที่มืด หลังจากนั้นนำสารละลายมาแยกชั้นด้วยเฮกเซนและน้ำ เช่นเดียวกับสารสกัดจากพริกหวาน นำสารละลายส่วนบนมาระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน จึงทำการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีการของ Yamada และคณะ (1990) ต่อไป

1.3 การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลอง 5 สูตร ให้มีชนิดขององค์ประกอบอาหารตามรายละเอียดที่รายงานใน Boonyarapalin และคณะ (2001) โดยอาหารมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย และพลังงานในอาหารใกล้เคียงกันทุกสูตร โดยอาหารทดลองสูตรที่ 1 เป็นสูตรควบคุม อาหารสูตรที่ 2-5 มีระดับของสารสกัดแคโรทีนอยด์รวมที่แตกต่างกันจากแต่ละแหล่งคือ เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ แคโรทีนอยด์สกัดจากสไปรูไลนา พริกหวาน และปาล์มน้ำมัน ตามลำดับ รวมทั้งทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารสูตรต่างๆ ตามรายละเอียดในตารางที่ 1

1.4 แผนการทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยตู้ทดลอง 4 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยต่างๆ ด้วย Duncan' s multiple range test (DMRT) (Zar, 1984) ให้อาหารแก่กุ้งทดลองวันละ 4 มื้อโดยให้จนอิ่ม ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ จะทำการเก็บรวบรวมข้อมูลดังนี้

1.4.1 ศึกษาการเจริญเติบโตและอัตรารอดตาย

ดำเนินการเก็บข้อมูลโดยชั่งน้ำหนักกุ้งขาวเริ่มต้นก่อนให้อาหารทดลอง และหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุกช่วง 2 สัปดาห์ บันทึกน้ำหนักอาหารที่ใช้ในแต่ละตู้แต่ละมื้อ จดบันทึกจำนวนกุ้งตาย จนสิ้นสุดการทดลองที่สัปดาห์ที่ 8 จึงนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตายโดยใช้สมการต่างๆ คือ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, %)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100}{\text{จำนวนกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR, % ต่อวัน)

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100}{\text{ระยะเวลา (วัน)}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate: FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake, % /น้ำหนักตัว/ วัน)

$$= \frac{F \times 100}{\frac{(W_0 + W_t)}{2} \times \frac{(N_0 + N_t)}{2} \times t}$$

เมื่อ F = น้ำหนักอาหารแห้งที่กุ้งกินทั้งหมด (กรัม)

N_o = จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)

N_t = จำนวนกุ้งสุดท้าย (ตัว)

W_o = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)

W_t = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)

t = ระยะเวลา (วัน)

อัตรารอดตาย (survival rate %)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}}$$

ตารางที่ 1 อาหารทดลองผสมแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ สำหรับเลี้ยงกุ้งขาว และผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองสูตรต่างๆ

ส่วนประกอบอาหาร	สูตรอาหาร				
(กรัม / 100 กรัม)	1	2	3	4	5
ปลาป่น	28	28	28	28	28
หมึกป่น	15	15	15	15	15
กากถั่วเหลือง	10	10	10	10	10
แป้งสาลี	20	20	20	20	20
แป้งข้าวเจ้า	9.93	9.83	9.541	9.586	1.581
วีทกลูเตน	6	6	6	6	6
เลซิติน	2	2	2	2	2
น้ำมันปลา	2	2	2	2	2
วิตามินรวม*	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
วิตามินซี	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
แร่ธาตุรวม**	4	4	4	4	4
โคลีนคลอไรด์	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
โคเลสเตอรอล	1	1	1	1	1
ซีโอไลท์	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
BHT	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
แคโรทีนอยด์	0[1]	0.1[2]	0.389[3]	0.344[4]	8.349[5]
รวม	100	100	100	100	100
คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลอง (% น้ำหนักแห้ง)					
โปรตีน	42.44 ± 0.90	42.53 ± 0.26	42.01 ± 1.74	42.85 ± 0.47	42.74 ± 1.04
ไขมัน	12.60 ± 0.90	12.07 ± 1.47	13.79 ± 0.63	11.97 ± 1.02	17.26 ± 0.88
เถ้า	8.02 ± 0.42	8.08 ± 0.20	8.83 ± 0.11	8.21 ± 0.05	9.01 ± 0.11
พลังงาน (กิโลแคลอรี/อาหาร 100 กรัม)	350.33 ± 3.78	347.59 ± 9.18	355.94 ± 5.46	346.59 ± 5.78	371.89 ± 5.27
แคโรทีนอยด์รวม (มก./ กก.)	00.00 ± 0.00	91.15 ± 2.99	81.53 ± 1.56	97.98 ± 2.08	110.14 ± 1.45

หมายเหตุ [1] = ไม่เติมแคโรทีนอยด์

[2] = เติมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์

[3] = เติมแคโรทีนอยด์จากสารสกัดสไปรูไลนา

[4] = เติมแคโรทีนอยด์จากสารสกัดพริกหวาน

[5] = เติมแคโรทีนอยด์จากสารสกัดปาล์มน้ำมัน

* Vitamin / kg diet: Thiamine (B_1) 10 mg ; Riboflavin (B_2) 20 mg ; Pyridoxine (B_6) 10 mg; Cobalamin (B_{12}) 2 mg; Retinal (A) 4 mg; Cholecalciferol (D_3) 0.4 mg; Phylloquinone (K_1) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; Tocopherol (E) 60 mg; Choline 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg

** Mineral/ kg diet: NaCl 0.25 g; $MgSO_4$ 3.75 g; KH_2PO_4 8 g; $Ca(H_2PO_4)$ 5 g; $FeSO_4$ 0.72 g; $(CH_3COO)_2Ca.5H_2O$ 0.88 g; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 g; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 g; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 g; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 g; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 g

1.4.2 การวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบทางโภชนาการในกุ้งทั้งตัว

นำตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ ครบ 8 สัปดาห์ ชุดการทดลองละ 10 ตัว นำมาชั่งน้ำหนักเริ่มต้น แล้วนำมาอบให้แห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 1-3 วัน ชั่งน้ำหนักสุดท้ายจึงนำมาคำนวณหาความชื้นทั้งหมดในตัวอย่าง กุ้งตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งจำนวน 10 ตัว จากแต่ละสูตรทำให้แห้งภายใต้สภาวะแช่เยือกแข็ง (freeze dry) บดให้ละเอียดแล้วจึงนำมาคำนวณหาปริมาณเถ้า โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) แล้วนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) โดยใช้สมการดังนี้

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

$$= \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่กุ้งกิน (กรัม)}}$$

1.4.3 การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวกุ้งขาว

นำตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ ครบ 8 สัปดาห์ ชุดการทดลองละ10 ตัว มาถ่ายรูปก่อนและหลังต้ม แล้วเปรียบเทียบสีด้วยพัดสี (color fan) และวัดสีด้วยเครื่องคัลเลอร์มิเตอร์โดยรายงานค่าความสว่าง (L) ค่าสีแดง (a) และค่าสีเหลือง (b) ตามวิธีการของ Choubert และ Heirich (1993) นำตัวอย่างกุ้งอีก 10 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองมาทำให้แห้งภายใต้สภาวะแช่เยือกแข็ง แล้วบดให้ละเอียดแล้วจึงนำมาวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีการของ Chien และ Jeng (1992)

1.4.4 การศึกษาองค์ประกอบเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากกุ้งตัวอย่างที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรต่างๆ ครบ 8 สัปดาห์ ชุดการทดลองละ 10 ตัว โดยใช้เข็มขนาด 20-25G ยาว 1 นิ้ว และกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร เจาะเลือดจากบริเวณขาเดินคู่ที่ 3 ถ่ายเลือดทั้งหมดจากหลอดฉีดยาใส่หลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ใช้ปิเปตปรับปริมาตรอัตโนมัติดูดเลือดมา 50 ไมโครลิตร เติมในสารละลายทริปแพนบลู 0.45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปนับจำนวนเม็ดเลือดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์และคำนวณผลตามวิธีการที่รายงานในกิจการ และ สิทธิ (2538) เลือดที่เหลือนำมาเติมสารละลาย K-199 พีเอช 7.4 (Itami *et al*, 1992) ที่มีส่วนผสมของสารป้องกันเลือดแข็งตัวเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จนได้ปริมาตรครบ 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยกลับหลอดไปมาเบาๆ นำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์เม็ดเลือดที่ความเร็ว 8,497xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ดูดสารละลายทิ้ง คงไว้เฉพาะเม็ดเลือดแล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จึงเก็บตัวอย่างเม็ดเลือดในไนโตรเจนเหลว เพื่อทำการวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสตามวิธีการที่รายงานในกิจการและคณะ (2543)

ผลการทดลองที่ 1

1.1 ผลการเจริญเติบโตและอัตรารอดตาย

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเมื่อเริ่มทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ สารสกัดจากสไปรูลินา 100 พีพีเอ็ม และสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) โดยหนักเฉลี่ยต่อตัวมีค่าอยู่ในช่วง 8.73$\pm$0.61 ถึง 8.96$\pm$0.31กรัม เปอร์เซ็นต์น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้นมีค่าอยู่ในช่วง 259.01$\pm$24.46 ถึง 269.73$\pm$14.95 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งมีค่าอยู่ในช่วง 2.28$\pm$0.12 ถึง 2.33$\pm$0.07 ต่อตัวต่อวัน แต่ผลการทดลองพบกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม มีการเจริญเติบโตต่ำสุด โดยกุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 7.82$\pm$0.45 กรัม มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น 220.75$\pm$18.90 เปอร์เซ็นต์และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 2.08$\pm$0.11 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ซึ่งต่ำกว่ากุ้งขาวทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนอัตรารอดตายของกุ้งขาวทุกชุดการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 85.83$\pm$5.69 ถึง 93.33$\pm$7.20 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวหลังได้รับอาหารทดลองที่มีแหล่งของสารสีต่างกันนาน 8 สัปดาห์ *

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (g)	น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (g)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/ วัน)	อัตรารอดตาย (%)
ควบคุม	2.43 ± 0.02^{ns}	8.73 ± 0.61^{b}	259.01 ± 24.46^{b}	2.28 ± 0.12^{b}	85.83 ± 5.69^{ns}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	2.44 ± 0.02^{ns}	8.89 ± 0.26^{b}	264.47 ± 7.81^{b}	2.31 ± 0.04^{b}	89.17 ± 6.87^{ns}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	2.43 ± 0.02^{ns}	8.84 ± 0.14^{b}	264.15 ± 4.02^{b}	2.31 ± 0.02^{b}	86.67 ± 2.72^{ns}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	2.42 ± 0.03^{ns}	8.96 ± 0.31^{b}	269.73 ± 14.95^{b}	2.33 ± 0.07^{b}	89.17 ± 14.24^{ns}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	2.44 ± 0.02^{ns}	7.82 ± 0.45^{a}	220.75 ± 18.90^{a}	2.08 ± 0.11^{a}	93.33 ± 7.20^{ns}

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

1.2 อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองที่ผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่า กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสีที่สกัดจากพริกหวานมีอัตราการกินอาหารสูงสุด 18.34±0.99 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน แตกต่างทางสถิติ กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อาหารผสมสารสกัดจากสไปรูไลนาและปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่า 17.28±0.37, 17.02±0.36 และ 16.92±0.22 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่า 17.93±0.24 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 3)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม มีค่าสูงสุดโดยมีค่า 2.10±0.15 และแตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนาที่มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าทุกชุดการทดลองโดยมีค่า 1.86±0.08 ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อาหารผสมสารสกัดจากพริกหวานและเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่า 1.93±0.11, 1.93±0.17 และ 1.91±0.1 ตามลำดับ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม ต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง โดยมีค่า 1.12±0.08 ซึ่งแตกต่างจากกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่าสูงสุด 1.86±0.06 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็มและสูตรควบคุม ซึ่งมีค่า 1.21±0.10, 1.23±0.07 และ 1.22±0.07 ตามลำดับ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน*

ชุดการทดลอง	อัตราการกินอาหาร (%/ วัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน
ควบคุม	17.28 ± 0.37^{ab}	1.93 ± 0.11^{ab}	1.22 ± 0.07^{ab}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	17.93 ± 0.24^{bc}	1.91 ± 0.10^{ab}	1.23 ± 0.07^{ab}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	17.02 ± 0.36^{a}	1.86 ± 0.08^{a}	1.28 ± 0.06^{b}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	18.34 ± 0.99^{c}	1.93 ± 0.17^{ab}	1.21 ± 0.10^{ab}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	16.92 ± 0.22^{a}	2.10 ± 0.15^{b}	1.12 ± 0.08^{a}

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p > 0.05$)

1.3 ความชื้นและองค์ประกอบทางโภชนาการของกุ้งทั้งตัว

ความชื้นในกุ้งขาวทั้งตัวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม มีค่า 75.25±1.98 ซึ่งต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม อาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนาและปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 76.58±0.74 ถึง 77.69±1.77 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ปริมาณโปรตีนและไขมันในกุ้งขาวทั้งตัวทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 68.57±0.73 ถึง 69.77±0.49 และ 6.05±0.87 ถึง 7.21±1.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณเถ้าในกุ้งชุดควบคุม และกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่า 8.80±0.12 และ 8.79±0.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่แตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ สารสกัดจากพริกหวานและปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่าอยู่ในช่วง 9.12±0.02 ถึง 9.20±0.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางโภชนาการของกุ้งที่ได้รับอาหารแตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ *

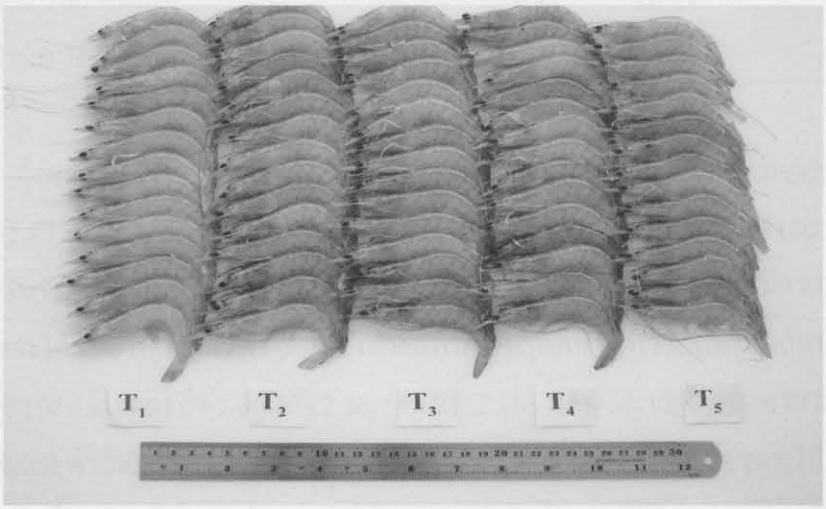
ชุดการทดลอง	ความชื้น (%)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เถ้า (%)
ควบคุม	76.97 ± 1.33^{ab}	69.77 ± 0.49^{a}	6.56 ± 0.08^{a}	8.80 ± 0.12^{a}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	77.99 ± 0.33^{b}	68.57 ± 0.73^{a}	6.36 ± 0.59^{a}	9.12 ± 0.02^{b}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	76.58 ± 0.74^{ab}	68.65 ± 0.96^{a}	6.05 ± 0.87^{a}	8.79 ± 0.06^{a}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	75.25 ± 1.98^{a}	69.51 ± 0.28^{a}	6.16 ± 0.44^{a}	9.17 ± 0.03^{b}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	77.69 ± 1.77^{ab}	69.50 ± 0.68^{a}	7.21 ± 1.23^{a}	$9.20 \pm + 0.14^{b}$

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากตัวอย่างรวมที่มีการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

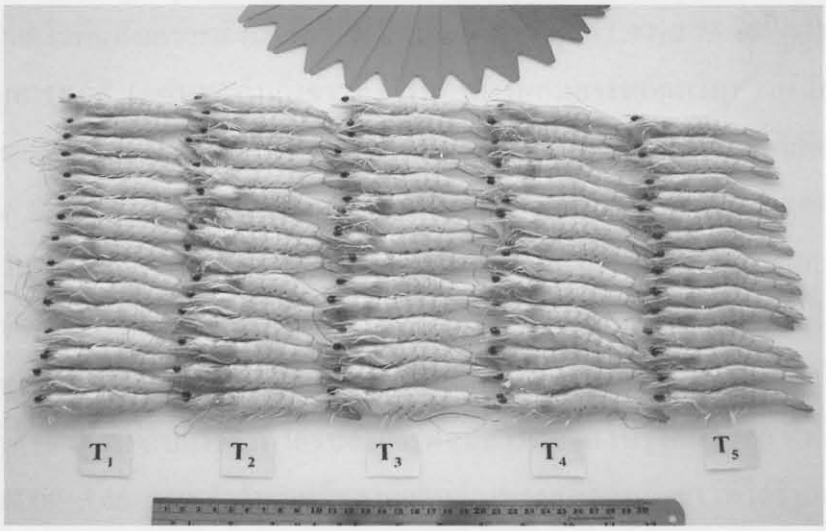
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

1.4 การเปลี่ยนแปลงของสีตัวและปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งขาว

การเปลี่ยนแปลงของสีตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองผสมสารสีที่สกัดจากวัตถุดิบแหล่งต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ก่อนต้มและหลังต้มเมื่อนำมาเทียบกับพัดสี พบว่าในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองทุกชุดที่ผสมสารสีมีสีตัวเข้มกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ภาพที่ 4-5) โดยเมื่ออ่านค่าจากพัดสีพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ ทั้ง 4 สูตรมีค่าสีอยู่ในช่วง 20-21 ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าสีอยู่ในช่วง 19-20 (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 4 กุ้งขาวก่อนต้มที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 5 กุ้งขาวหลังต้มที่ได้รับอาหารทดลองผสมแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 5 ปริมาณสีของกุ้งขาวทดลองเมื่อเทียบกับพัดสีหลังจากได้รับอาหารทดลองผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ นาน 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ปริมาณสี
ควบคุม	19-20
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	20-21
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	20-21
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	20-21
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	20-21

กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม มีค่าความสว่างของสีตัว 55.80±2.85 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง ($p<0.05$) และไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่า 57.72±1.77 แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวได้รับอาหารสูตรควบคุม อาหารผสมสารสกัดพริกหวานและปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าความสว่างของสีตัว 60.03±2.26, 60.07±2.16 และ 58.12±2.53 ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ค่าสีแดงของกุ้งขาวจากการวัดด้วยอุปกรณ์ดังกล่าวพบกุ้งชุดที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าต่ำที่สุดและไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม โดยมีค่า 7.09±2.06 และ 8.97±1.93 ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม มีค่าสีแดงสูงที่สุด 11.97±2.73 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่าสีแดงเฉลี่ย 9.23±2.25 แต่ไม่แตกต่างกับกุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมสารสีที่สกัดจากสไปรูไลนา ที่มีค่าสีแดงเฉลี่ย 10.57±3.10 ($p>0.05$) ส่วนค่าสีเหลืองที่อ่านได้ต่ำสุดพบในกุ้งขาวชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ย 13.24±2.19 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่าสีเหลือง 15.26±3.11 ค่าสีเหลืองสูงสุดในการทดลองนี้พบในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม อยู่ที่ระดับ 18.01±2.19 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม ที่มีค่าสีเหลืองเฉลี่ย 17.09±3.06 ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และผสมสารสกัดพริกหวานอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ค่าสีตัวกุ้งขาว (L, a, b) จากการวัดโดยใช้เครื่องคัลเลอร์มิเตอร์หลังจากกุ้งทดลองได้รับอาหารทดลองผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ *

ชุดการทดลอง	ความสว่างของสีตัว (L)	ค่าสีแดง (a)	ค่าสีเหลือง (b)
ควบคุม	60.03 ± 2.26^{c}	7.09 ± 2.06^{a}	13.24 ± 2.19^{a}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	55.80 ± 2.85^{a}	11.97 ± 2.73^{c}	18.01 ± 2.19^{c}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	57.22 ± 1.77^{ab}	10.57 ± 3.10^{bc}	17.09 ± 3.06^{bc}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	58.12 ± 2.53^{bc}	9.23 ± 2.25^{b}	15.26 ± 3.11^{ab}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	60.07 ± 2.16^{c}	8.97 ± 1.93^{ab}	15.97 ± 2.81^{bc}

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากข้อมูล 4 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$)

การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งขาวทดลองที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสะสมในตัวสูงที่สุด 92.71$\pm$2.68 พีพีเอ็ม รองลงมาได้แก่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ สารสกัดปาล์มน้ำมันและพริกหวาน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 85.70$\pm$4.99, 75.45$\pm$2.32 และ 49.84$\pm$3.60 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ส่วนกุ้งชุดที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสะสมในตัวต่ำสุด 30.19$\pm$4.23 พีพีเอ็ม ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสะสมในตัวกุ้งจากแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตาราง 7)

ตารางที่ 7 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสะสมในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ นาน 8 สัปดาห์*

ชุดการทดลอง	ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม (พีพีเอ็ม)
ควบคุม	30.19 ± 4.23^{a}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	85.70 ± 4.99^{d}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	92.71 ± 2.68^{e}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	49.84 ± 3.60^{b}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	75.45 ± 2.32^{c}

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ข้อมูล 4 ซ้ำ)
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$)

1.5 องค์ประกอบเลือดกุ้ง

จากการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบต่างๆ ในกุ้งทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารสีที่สกัดจากวัตถุดิบแหล่งต่างกัน พบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม มีค่าสูงสุดเฉลี่ย 480.54±223.39 ยูนิต/นาที/มก. โปรตีน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกุ้งทุกชุดการทดลอง รองลงมาได้แก่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุ้งชุดควบคุมและกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม โดยกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีค่าเฉลี่ย 331.35±307.09, 232.86±151.67 และ 234.35±118.03 ยูนิต/นาที/มก. โปรตีน ตามลำดับ ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดปาล์มน้ำมันมีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในเม็ดเลือดต่ำสุดเฉลี่ย 141.10±141.95 ยูนิต/นาที/มก.โปรตีน ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์และสารสกัดสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ปริมาณเม็ดเลือดรวมและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในเม็ดเลือดกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ นาน 8 สัปดาห์*

ชุดการทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดรวม ($x10^6$ เซลล์/มล.)	กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (ยูนิต/นาที/มก.โปรตีน)
ควบคุม	20.47 ± 9.66^{a}	232.86 ± 151.67^{ab}
เบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม	20.89 ± 13.20^{a}	331.35 ± 307.09^{b}
สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม	29.20 ± 11.50^{a}	480.54 ± 223.39^{c}
สารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม	30.20 ± 9.88^{a}	234.35 ± 118.03^{ab}
สารสกัดปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็ม	26.50 ± 13.00^{a}	141.10 ± 141.95^{a}

* ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ข้อมูล 4 ซ้ำ)
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$)

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 1

ผลการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

จากการทดลองครั้งนี้พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมสารสีจากแหล่งวัตถุดิบธรรมชาติคือ สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนา 100 พีพีเอ็ม และสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม นาน 8 สัปดาห์ มีการเจริญเติบโตและอัตรารอดตาย ไม่แตกต่างจากกุ้งที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม และอาหารสูตรควบคุมที่ไม่ผสมสารสี แสดงให้เห็นว่าแหล่งของสารสีที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ทั้งแหล่งที่ได้จากวัตถุดิบธรรมชาติ หรือการสังเคราะห์ไม่มีผลในการเร่งการเจริญเติบโตของกุ้งขาวได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลอง 4 สูตรแตกต่างกันข้างต้น มีอัตราการกินอาหาร การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนได้ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าสารสีจากแหล่งต่างๆ ข้างต้นไม่มีประสิทธิภาพในการเร่งการเจริญเติบโตของกุ้งขาว เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Pan และคณะ (2001) ที่ไม่พบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารที่ผสมแอสตาแซนทีน และจากการศึกษาของ Boonyaratpalin และคณะ (2001)

ที่พบว่าการผสมเบตาแคโรทีนที่เป็นรงควัตถุหลักของสาหร่ายดูนาเรลลา (*Dunaliella salina*) เข้มข้น 125 และ 175 พีพีเอ็ม ในอาหารให้กุ้งกุลาดำกินติดต่อกันนาน 10 สัปดาห์ ไม่มีผลไปเร่งการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับอาหารชุดควบคุม เช่นเดียวกับผลการศึกษาผสมสารสีสังเคราะห์คือแคนตาแซนทีนเข้มข้น 50 และ 100 พีพีเอ็ม หรือแอสตาแซนทีนเข้มข้น 25, 50 และ 100 พีพีเอ็ม ในอาหารให้กุ้งกุลาดำขนาด 3.7-4 กรัม นาน 8 สัปดาห์ พบว่าไม่ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตหรือมีประสิทธิภาพในการใช้อาหารได้มากกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารไม่ผสมสารสี (Boonyaratpalin *et al.*, 1994) เช่นเดียวกับกุ้งกุลาดำขนาดเฉลี่ย 2.5 กรัม ที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีนที่สกัดจากยีสต์ (*Phaffia rhodozyma*) เข้มข้น 39, 78.65 และ 161.60 พีพีเอ็ม ติดต่อกัน 3 เดือน มีอัตรารอดการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างจากกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม (Kittipreechakul, 2002) จากรายละเอียดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสีจากแหล่งต่างๆ ไม่มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวหรือกุ้งกุลาดำ ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Petit และคณะ (1997 อ้างโดย Pan *et al.*, 2001) ที่ทำการทดลองในกุ้งคุรูมา (*P. japonicus*) พบว่ากุ้งระยะวัยอ่อน (postlarva) ที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีนมีอัตราการเจริญเติบโต และมีวงจรการลอกคราบสั้นลง โดยที่กุ้งคุรูมาระยะวัยอ่อน (postlarva) ที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีนเข้มข้น 5, 15, 60 และ 300 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 วัน มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นโดยอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนในอาหารมีระดับสูงขึ้น และพบว่ากุ้งลอปสเตอร์ (*Homarus americanus*) ระยะวัยรุ่น (juvennile) ที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีนที่สกัดจากเปลือกกุ้งเครย์ฟิชมีการเจริญเติบโตสูงกว่ากุ้งชุดควบคุม (Bordner *et al.*, 1986 อ้างโดย Boonyaratpalin *et al.*, 2001) ส่วน Chien และ Jeng (1992) พบว่ากุ้งชนิดเดียวกันที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีนมีอัตรารอดตายสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีน และสาหร่ายดูนาเรลลา ส่วน Yamada และคณะ (1990) พบว่ากุ้งระยะวัยรุ่น (juvennile) ที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทีน 50, 100, 200 และ 400 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีอัตรารอดตายสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารไม่ผสมแอสตาแซนทีนทุกความเข้มข้น จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าสารสีอาจมีผลในการเร่งการเจริญเติบโต หรือเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารในสัตว์น้ำบางชนิดเท่านั้น

สำหรับผลการทดลองพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสีที่สกัดจากปาล์มน้ำมันเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองที่มีการผสมสารสีจากแหล่งอื่นๆ นั้น อาจเกิดขึ้นเนื่องจากสารสกัดที่ได้จากปาล์มน้ำมันมีองค์ประกอบไขมันสูง ทำให้เมื่อนำสารสกัดจากปาล์มน้ำมันผสมในอาหารกุ้งขาวเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ส่งผลให้องค์ประกอบของไขมันในอาหารสูงถึง 17.26 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่องค์ประกอบดังกล่าวในอาหารสูตรที่ใช้แหล่งสารสีอื่นในปริมาณเท่ากันมีปริมาณไขมันระหว่าง 11.97-13.79 เปอร์เซ็นต์

โดยทั่วไปแล้วปริมาณไขมันเหมาะสมในอาหารสัตว์น้ำควรอยู่ในช่วง 5-9 เปอร์เซ็นต์ (Reigh and Stickney, 1989; Wu *et al.*, 2000) ปริมาณไขมันที่สูงเกินระดับความต้องการในอาหารจะส่งผลให้สัตว์น้ำรวมทั้งกุ้งใช้ประโยชน์สารอาหารชนิดอื่นๆ ได้น้อยลง โดยวุฒิพรและคณะ (2541) กล่าวว่า การเพิ่มระดับพลังงานในอาหารปลาโดยเพิ่มปริมาณไขมันจนมากจนเกินไปจะทำให้สัดส่วนของโปรตีนและระดับของพลังงานไม่สมดุล จึงทำให้ความสามารถในการนำเอาไขมันและสารอาหารอื่นๆ ไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง ส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง ส่วน Barbosa และคณะ (1999) รายงานว่าระดับไขมันในอาหารมีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากกับการดูดซึมแอสตาแซนทีนของปลาเรนโบว์เทราท์ ทั้งนี้ในอาหารที่มีไขมันสูงปลาจะสามารถดูดซึมและนำเอาแอสตาแซนทีนเอสเทอร์ไปใช้ได้มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากแอสตาแซนทีนอิสระ แต่ในกรณีที่อาหารมีไขมันน้อยปลาเรนโบว์เทราท์จะนำแอสตาแซนทีนอิสระไปใช้ประโยชน์ได้มากกว่า ในขณะที่ Reigh และ Stickney (1989) และ Wu และคณะ (2000) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารที่มีระดับของไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ขณะที่กุ้งกลับมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อได้รับอาหารที่มีระดับไขมันเกิน 10 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ สุพิศ (2535) พบว่าการเพิ่มปริมาณไขมันในอาหารกุ้งเกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตช้า พบตับและตับอ่อนมีลักษณะผิดปกติเนื่องมาจากมีไขมันสะสมอยู่มาก ซึ่งการสะสมไขมันไว้จำนวนมากในตับจะนำไปสู่กระบวนการเกิดไลปิดเปอร์ออกซิเดชั่นมากขึ้น ส่งผลให้อนุมูลอิสระถูกผลิตออกมามากซึ่งมีผลยับยั้งกระบวนการต่างๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน มีผลทำลายผนังเซลล์ต่างๆ (Yu, 1994) รวมทั้งเซลล์ตับ ทำให้ตับที่ทำหน้าที่หลักในการผลิตน้ำย่อย ดูดซึม และจัดเก็บสารอาหารมีประสิทธิภาพการทำงานลดลงด้วย สอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่พบกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากปาล์มน้ำมันมีอัตราการกินอาหารต่ำ และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่ากุ้งชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่พบว่ามีแนวโน้มลดลงต่ำกว่าทุกชุดการทดลองอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ความชื้นและองค์ประกอบทางโภชนาการของกุ้งทั้งตัว

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนของกุ้งขาวในแต่ละชุดการทดลองหลังได้รับอาหารที่ผสมสารสีจากแหล่งต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ พบว่าการที่กุ้งขาวได้รับอาหารผสมสารสีแหล่งต่างๆ ทั้งเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ สารสกัดสไปรูไลนา พริกหวาน และปาล์มน้ำมัน 100 พีพีเอ็มนั้น ไม่มีผลต่อการสะสมปริมาณโปรตีนในซากกุ้งเมื่อเทียบกับกุ้งในชุดควบคุมที่ได้รับอาหารไม่ผสมสารสี ซึ่งสอดคล้องกับผลที่พบว่า กุ้งที่ได้รับสารสีต่างแหล่งกันมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารได้ไม่ต่างกัน แสดงว่าสารสีไม่ได้เป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้กุ้งขาวมีประสิทธิภาพในการใช้

หรือเก็บสะสมโปรตีนไว้ในตัวได้มากขึ้น เช่นเดียวกับองค์ประกอบของไขมันที่มีปริมาณไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง สำหรับค่าความชื้นในกุ้งที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ 100 พีพีเอ็ม มีปริมาณความชื้นสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดพริกหวาน 100 พีพีเอ็ม ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสีจากสารสกัดพริกหวาน ปาล์มน้ำมันรวมทั้งเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ มีปริมาณเถ้าในตัวสูงกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ไม่ผสมและผสมสารสีจากสาหร่ายสไปรูไลนา ซึ่งเป็นได้ว่าปริมาณเถ้าที่สูงในกุ้งทดลองข้างต้นเป็นเพราะกุ้งขาวจำเป็นต้องใช้พลังงานมากในกระบวนการเปลี่ยนแคโรทีนอยด์จากแหล่งวัตถุดิบต่างๆ ข้างต้นให้อยู่ในรูปแอสตาแซนทีนที่ใช้ประโยชน์และเก็บสะสมได้ จึงเหลือพลังงานน้อยลงสำหรับการสร้างกล้ามเนื้อ ลอกคราบหรือสังเคราะห์องค์ประกอบอื่นๆ ของร่างกาย ในขณะที่ใช้พลังงานในการเปลี่ยนสารสีที่ได้จากสารสกัดจากสไปรูไลนาน้อยกว่า อย่างไรก็ตาม Nandeesha และคณะ (1998) กล่าวว่าหากใช้เซลล์สไปรูไลนาทั้งเซลล์ผสมอาหารในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น ปริมาณเถ้าในตัวสัตว์น้ำก็เพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากสัตว์น้ำต้องใช้พลังงานในกระบวนการย่อยและเผาผลาญกรดอะมิโนไม่จำเป็นที่มีอยู่เป็นปริมาณมากในสาหร่ายสไปรูไลนา หรือในกรณีของกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสีจากปาล์มน้ำมัน พบว่าปริมาณเถ้าในตัวสูง ขณะที่การเจริญเติบโตต่ำกว่ากุ้งชุดอื่นๆ อาจอธิบายได้ว่าระดับของไขมันที่สูงเกินไปในอาหาร ทำให้กุ้งกินอาหารน้อยลงและได้รับสารอาหารอื่นๆ ในการเจริญเติบโตน้อยลง ขณะเดียวกันปฏิกิริยาไลปิดออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นทำให้ร่างกายอ่อนแอลง การย่อยและดูดซึมสารอาหารอื่นๆ ก็ลดลงด้วย มีผลต่อการสร้างกล้ามเนื้อ การขนถ่ายแร่ธาตุจากเปลือกเก่า รวมทั้งการสะสมแร่ธาตุเพื่อสร้างเปลือกใหม่ที่สมบูรณ์เกิดขึ้นช้า จึงไม่สามารถลอกคราบได้ตามปกติ และการที่คราบใหม่อาจสร้างขึ้นมาในขณะที่คราบเดิมที่ไม่สามารถลอกหลุดไปก็นำมาซึ่งปริมาณเถ้าที่สูงขึ้น สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น เพราะจากการเจริญเติบโตของกุ้งจะเกิดขึ้นต่อเมื่อมีการลอกคราบเท่านั้น

การเปลี่ยนแปลงของสีตัวและปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในกุ้งขาว

การเสริมแคโรทีนอยด์จากแหล่งต่างๆ ในอาหารกุ้งขาวจากข้อมูลข้างต้นแม้ไม่พบว่ามีผลเสริมการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามจากการเทียบค่าสีด้วยพัดสีพบว่าแคโรทีนอยด์ที่เสริมในอาหารทั้ง 4 แหล่งมีผลให้สีตัวของกุ้งเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับกุ้งที่ได้รับอาหารไม่ผสมสารสี ในขณะที่การวัดค่าสีจากเปลือกกุ้ง พบว่ากุ้งขาวที่กินอาหารผสมเบตาแคโรทีนสังเคราะห์และสารสกัดสไปรูไลนามีค่าความสว่างของสีตัวต่ำ ในขณะที่สีแดงและสีเหลืองมีค่าสูงกว่ากุ้งที่กินอาหารผสมสารสกัดปาล์มน้ำมัน สารสกัดพริกหวาน และสูตรควบคุม หรืออีกนัยหนึ่งอาจกล่าวได้ว่ากุ้งทั้ง 2 ชุดการทดลองข้างต้นสามารถนำแคโรทีอยด์ไปใช้และสะสมได้มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับ

ผลการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่สะสมอยู่ในเนื้อกุ้ง พบว่าปริมาณในกุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดสไปรูไลนา และเบตาแคโรทีนสังเคราะห์มีค่าสูงกว่ากุ้งในชุดการทดลองอื่นๆ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสีจากการสังเคราะห์และที่สกัดจากสไปรูไลนามีประสิทธิภาพในการเร่งสีในกุ้งขาวได้ดีกว่าแหล่งอื่นๆ ซึ่งการที่แคโรทีนอยด์แหล่งต่างกันมีผลให้สีตัวของกุ้งขาวเข้มขึ้นมากน้อยต่างกันนั้น อาจเป็นเพราะชนิดของสารสีต่างๆ ที่มีอยู่ในแหล่งของวัตถุดิบต่างกัน รวมทั้งอาจอยู่ในรูปแบบที่ต่างกัน และกุ้งขาวมีความสามารถในการใช้สารสีชนิดต่างๆ ได้ไม่เท่ากัน เช่นเดียวกับการศึกษาทดลองในกุ้งคุรูมาที่พบว่ากุ้งสามารถนำแอสตาแซนทีนไปใช้เป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ได้ดีกว่าเบตาแคโรทีน (Yamada *et al.*, 1990; Chein and Jeng, 1992) ส่วน Liao และคณะ (1993) พบว่ากุ้งกุลาดำสามารถนำเบตาแคโรทีนและเซียแซนทีนจากสาหร่ายสไปรูไลนาไปใช้ได้ดีกว่าเบตาแคโรทีนสังเคราะห์ ยีสต์ และน้ำมันจากกุ้งเคย (krill oil) ซึ่งมีแอสตาแซนทีนอยู่มาก ในขณะที่ปลาเรนโบว์เทร้าท์และแซลมอนสามารถนำแอสตาแซนทีนไปใช้ได้ดีกว่าแคนทาแซนทีน (Storebakken *et al.*, 1987; Baker *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตามแม้ว่าแคโรทีนอยด์แหล่งต่างๆ ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีรูปแบบที่ต่างกัน แต่หากปริมาณของชนิดสารสีที่กุ้งขาวสามารถนำไปใช้ได้ดีมีไม่เท่าก็ทำให้กุ้งมีสีที่แตกต่างกันได้ ซึ่ง Boonyaratpalin และคณะ (2001) พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีน 125 หรือ 175 พีพีเอ็ม มีปริมาณแคโรทีนอยด์สะสมในเนื้อกุ้งมากกว่ากุ้งที่ได้รับแอสตาแซนทีน 50 พีพีเอ็ม แม้แต่กุ้งต่างชนิดกันก็มีรูปแบบของการนำสารสีไปใช้และสะสมที่แตกต่างกันดังรายงานของ Yanar และคณะ (2004) รายงานว่ากุ้งที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำกร่อย 4 ชนิดได้แก่ *Metapenaeus affinis*, *M. dopsoni*, *P. indicus*, *Parapenaeopsis stylifera* มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวเฉลี่ย 13.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในขณะที่กุ้ง *M. monoceros* มีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวเฉลี่ย 4.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วน Negre-Sadargues และคณะ (2000) ทำการเปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ในกุ้งที่อาศัยอยู่ในทะเลลึกพบว่ากุ้ง *Rimicaris exculata* มีปริมาณของแคโรทีนอยด์สะสมมากกว่ากุ้ง *Chorocaris chacei* และกุ้ง *Alvinocaris markensis* อย่างไรก็ตามปริมาณแคโรทีนอยด์ในระดับที่สูงเกินไปก็อาจมีผลให้สัตว์น้ำ นำไปใช้และสะสมได้น้อยลงได้ ดังรายงานของ Storebakken and Goswami (1996) พบว่าปลาแอตแลนติกแซลมอน (*Salmo salar*) ที่กินอาหารผสมแอสตาแซนทีน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะมีความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนในพลาสมา 1 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร ในขณะที่ปลาที่กินอาหารผสมแอสตาแซนทีน 60 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม จะมีความเข้มข้นของแอสตาแซนทีนในพลาสมาเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า ดังนั้นถ้าจะให้สัตว์น้ำได้รับแคโรทีนอยด์ติดต่อกันเป็นเวลานานควรให้ที่ความเข้มข้นต่ำจะมีประสิทธิภาพมากกว่าที่ความเข้มข้นสูง

องค์ประกอบเลือดกุ้ง

ผลการศึกษาแหล่งของแคโรทีนอยด์ต่อการเปลี่ยนองค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว พบว่ากุ้งชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารสีทั้ง 4 แหล่ง มีปริมาณเม็ดเลือดรวมในระบบไหลเวียนไม่แตกต่างกับกุ้งชุดควบคุมที่ได้รับอาหารไม่ผสมแคโรทีนอยด์ แต่เมื่อพิจารณาจากค่าของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในเม็ดเลือด พบว่ากุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสารสกัดสไปรูไลนามีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ดีที่สุด ซึ่ง Lee (1999) กล่าวว่าสาหร่ายสไปรูไลนามีสารประกอบหลายชนิด เช่น แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน รวมทั้งรงควัตถุอื่นๆ ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำได้ ดังนั้นเมื่อนำสาหร่ายสไปรูไลนาผงมาเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กุ้งมีระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้นโดยพบว่าเม็ดเลือดกุ้งมีประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมโดยวิธีการโอบล้อม (phagocytotic activity) สูงกว่าเม็ดเลือดกุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุม เช่นเดียวกับเม็ดเลือดกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยสาหร่ายสไปรูไลนามีปฏิกิริยาการโอบล้อมสิ่งแปลกปลอมได้ดีกว่ากุ้งชุดควบคุม รวมทั้งทำให้กุ้งมีความสามารถในการต้านทานโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ได้ดีกว่ากุ้งชุดควบคุมถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (Lee *et al.*, 2003) ส่วน Estrada และคณะ (2001) กล่าวว่าในสารสกัดสาหร่ายสไปรูไลนามีองค์ประกอบของไฟโคไบลิโปรตีน (phycobiliprotein) ซึ่งประกอบด้วยไฟโค-ไซยานิน (phycocyanin) และแอลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) ที่มีคุณสมบัติในกำจัดอนุมูลอิสระที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล รวมทั้งยับยั้งกระบวนการไมโครโซมอลไลปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (microsomal lipid peroxidation) ได้ สำหรับกุ้งขาวชุดที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์หรือเบตาแคโรทีน พบเม็ดเลือดมีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสต่ำกว่ากุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากสไปรูไลนา ซึ่ง Lastcha (1991) และ Hunter (2000) กล่าวว่าแคโรทีนอยด์เป็นสารที่จำเป็นสำหรับสัตว์เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอและเรทินอล (retinal) ซึ่งมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ ส่วนกุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากพริกหวานมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในเม็ดเลือดไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แสดงว่ากุ้งขาวมีข้อจำกัดในการนำแคโรทีนอยด์จากสารสกัดพริกหวานไปใช้ ซึ่ง Arredondo-Figueroa และคณะ (2003) กล่าวว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมแคโรทีนอยด์จากสารสกัดพริกหวานที่ผ่านและไม่ผ่านการสปอนนิฟิเคชั่นเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม เท่ากัน มีการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวต่ำกว่ากุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมเบตาแคโรทีน 100 พีพีเอ็ม อย่างไรก็ตามหากใช้ปริมาณแคโรทีนอยด์จากสารสกัดที่ไม่ผ่านการสปอนนิฟิเคชั่นเข้มข้น 250 พีพีเอ็ม การสะสมสารสีในตัวเพิ่มสูงขึ้นกว่าการใช้ผสมเบตาแคโรทีน 100 พีพีเอ็ม ผสมในอาหาร แสดงให้เห็นว่าแม้ว่าแคโรทีนอยด์มีความจำเป็นในการเพิ่มสีหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ แต่ชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ก็มีข้อจำกัดในการที่

สัตว์น้ำจะนำไปใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน สำหรับกุ้งชุดที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากปาล์มน้ำมันมีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง ซึ่งน่าจะสอดคล้องกับการที่กุ้งชุดดังกล่าวได้รับอาหารที่มีระดับของไขมันที่สูงเกินไปทำให้ระดับของโปรตีนและพลังงานไม่สมดุล ส่งผลให้ประสิทธิการใช้สารอาหารอื่นๆ ลดลงส่งผลให้การเจริญเติบโต รวมทั้งระบบภูมิคุ้มกันลดลงในที่สุด