รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การเพิ่มมูลค่าปลาหนังลูกผสมด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไก

Value added of hybrid catfish strain with *Cladophora* spp. supplemented pellet feed

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2557

งบประมาณ 160,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นางดวงพร อมรเลิศพิศาล

ผู้ร่วมโครงการ นายเกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน

นางสาวชุติมา ศรีมะเริง

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

31/ ตุลาคม/ 2557

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความอนุเคราะห์และความร่วมมือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ซึ่งทางคณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2557

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และนักวิจัยทุกท่านที่เป็นเครือข่ายงานวิจัย โดยเฉพาะจากภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ วิธีการวิเคราะห์ทางชีวเคมี ขอบคุณ นายเมทัส เงินจันทร์ นักศึกษาปริญญาโท และนายธีระวัฒน์ รัตนพจน์ นักศึกษาปริญญาเอก จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่ช่วยงานวิจัยนี้ตลอดโครงการ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ให้การสนับสนุนอนุเคราะห์สถานที่ และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย จนงานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
บทนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	13
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	21
สรุปผลการวิจัย	28
เอกสารอ้างอิง	30

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไกต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม 7

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	สาหร่ายไก	5
ภาพที่ 2	ปลาหนังลูกผสมบึกสยาม	8
ภาพที่ 3	แสดงที่มาของปลาหนังลูกผสม (ปลาบึกสยาม)	9
ภาพที่ 4	บทบาทของกลูตาไทโอนในการปกป้องหมู่ไทออนของโปรตีน	12
ภาพที่ 5	ผลของสาหร่ายไกต่อลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดปลาหนังลูกผสมบึกสยาม	22
ภาพที่ 6	ระดับของกลูตาไทโอนในเลือดของปลาหนังฯ ให้อาหารผสมสาหร่ายไก	23

การเพิ่มมูลค่าปลาหนังลูกผสมด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไก

Value added of hybrid catfish strain with *Cladophora* spp. supplemented pellet feed

ดวงพร อมรเลิศพิศาล[1] เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน[1] และชุติมา ศรีมะเริง[2]

Doungporn Amornlerdpison [1], Kriangsak Mengumphan [1]

and Chutima Srimaroeng [2]

[1]คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 50290

[2]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

ไกเป็นสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ถูกนำมาประเมินผลการเจริญเติบโตในปลาหนังลูกผสมด้วยการเสริมสาหร่ายไกในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10% ผลจากการเลี้ยงปลาในกระชังเป็นระยะเวลา 7 เดือน พบว่า ปลาหนังลูกผสมในหน่วยทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไกระดับ 5 และ 10% นั้นมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่สาหร่ายไกทั้ง 2 ระดับนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติส่วนการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก และการเจริญเติบโตต่อวัน พบว่ามีค่าสูงสุดในเดือนที่ 7ในหน่วยทดลองที่ได้รับสาหร่ายไกระดับ 10% และยังมีค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อน้อยที่สุดอีกด้วยด้านการประเมินผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น พบว่า ปลาหนังที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกที่ระดับ 5 และ 10% สามารถลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในเลือดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 ซึ่งผลสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อย่างไรก็ตามการเสริมสาหร่ายไกไม่มีผลต่อระดับกลูต้าไทโอนในเลือด ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สาหร่ายไกมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ โดยการเสริมสาหร่ายไกในระดับ 5% มีความเหมาะสมที่สุดเนื่องจากให้ผลการเจริญเติบโตและต้นทุนการผลิตอาหารดีที่สุด

คำสำคัญ: สาหร่ายไก ปลาหนังลูกผสม การเจริญเติบโตภาวะเครียดออกซิเดชั่น

ABSTRACT

Cladophora spp., a freshwater macroalga,was evaluated for growth performancein hybrid catfish.Fish-feed supplemented with 0, 2.5, 5 and 10% alga were fed to hybrid catfish and these catfish were cultured in cage for 7 months. The results revealed that the fish treated with 5 and 10% alga increased body weight, significantly different from those of other groups ($p < 0.05$), however bothlevels of supplementation were not significantly different. At seventh month,10% alga supplement-treated groupshowed the maximum weight gain (WG) as well as average daily gain (ADG)and performed the lowest the feed conversion rate (FCR).The assessment of oxidative stress, the fish treated with 5% and 10% alga supplemented were significantly decreased the level of lipid peroxidation in liver at the 5 and 7 month period.These result found that correlate with the increase of WG and ADG. However, all groups received alga supplement were not significantly change the level of glutathione in erythrocyte. The findings can be concluded that *Cladophora* spp. indicate potential for a feed supplement in aquaculture.The 5% alga in pellet feed formulation is an optimal level when consider both of growth performance and cost.

Keywords : *Cladophora* spp., hybrid catfish, growth performance, oxidative stress

คำนำ

สาหร่ายไก (*Cladophora*spp.) เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวขนาดใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นสายยาวสีเขียวสด พบมากในฤดูหนาวจนถึงฤดูฝนมี 2 แหล่งที่พบคือ ลำน้ำน่าน จังหวัดน่าน และ ลำน้ำโขงจังหวัดเชียงรายซึ่งพบบริเวณแหล่งน้ำที่ค่อนข้างไหลเอื่อย จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไกพบว่ามีโปรตีน21% คาร์โบไฮเดรต 31% ไขมัน 6%ในส่วนกลุ่มสารสำคัญที่พบในสาหร่ายไกคือ สารประกอบฟีโนลิกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(ยุวดีและคณะ, 2552) โดยอนุมูลอิสระมีบทบาทในการเกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ ทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆ มีรายงานการวิจัยพบว่า สารสกัดน้ำของสาหร่ายไกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบในการทดลองฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ฤทธิ์กำจัดอนุมูล superoxide และฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาวอีกด้วย (ยุวดี และคณะ, 2555; Peerapornpisal et al., 2006;Amornlerdpison et al., 2011)

ปัจจุบันตลาดกลุ่มปลาหนังเป็นที่รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีน วิตามิน แร่ธาตุและกรดไขมันที่ดีโดยเฉพาะไขมันกลุ่มโอเมก้า3 ซึ่งไขมันกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสมอง ส่วนปลาบึกสยามเป็นปลาหนังลูกผสมรุ่นที่ 2 ที่เกิดจากการผสมกันระหว่างพ่อปลาบึกกับแม่ปลาสวาย ได้เป็นปลาลูกผสม รุ่นที่ 1 (F1) ที่สามารถเจริญพันธุ์ได้ และนำพ่อและแม่ปลาลูกผสมรุ่นที่ 1 มาผสมพันธุ์กันได้เป็นรุ่นลูกปลาลูกผสม รุ่นที่ 2 (F2) หรือปลาหนังลูกผสมบึกสยาม ซึ่งในปัจจุบันปลากลุ่มนี้กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเป็นอาหารสุขภาพที่มีรสชาติอร่อย เนื้อมีคุณภาพดี และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง (เกรียงศักดิ์, 2555) อย่างไรก็ตามเกษตรกรยังประสบปัญหาการผลิตปลาหนังลูกผสมบึกสยามอยู่ โดยปริมาณการผลิตยังไม่เพียงพอกับความต้องการที่มากขึ้น

ภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมีมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress)เกิดขึ้น โดยอาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น หรือมีการลดลงของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระลดลงในตัวปลา โดยภาวะ oxidative stress มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปนเปื้อนจากสารพิษหรือโลหะหนัก การได้รับอาหารไม่มีคุณค่าหรือไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic effect) ทำให้ปลาสุขภาพไม่ดี กินอาหารได้น้อย โตช้า และเป็นโรคง่าย

ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงนำสาหร่ายไกมาเสริมในอาหารปลาหนัง เนื่องจากคุณสมบัติของสาหร่ายไกที่ช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจะช่วยทำให้ปลามีสุขภาพดี ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ ทำให้ไม่เป็นโรคง่าย มีอัตราการรอดสูง ส่งผลต่อการผลิตปลาที่มีคุณภาพ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหากลุ่มสารสำคัญของสาหร่ายไกโดยเปรียบเทียบระหว่างการเก็บจากธรรมชาติและการเลี้ยง
2. ศึกษาผลการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม
3. ศึกษาผลการเสริมสาหร่ายไกต่อระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาหนังลูกผสม

ประโยชน์คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรอาหารปลาเสริมสาหร่ายไก ซึ่งช่วยเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์ให้กับปลาหนังและสาหร่าย
2. เป็นการสร้างโอกาส อาชีพ เพิ่มรายได้ให้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาโดยตรง และส่งผลทางอ้อมในการช่วยให้กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาหนังและสาหร่ายเป็นทางเลือกอาชีพที่มั่นคงต่อไป
3. กระตุ้นให้ผู้บริโภคชาวไทยหันมาบริโภคปลาหนังและสาหร่ายให้มากขึ้นซึ่งจะเป็นผลดีทั้งในด้านการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชนและทำให้ประชาชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

การตรวจเอกสาร

สาหร่ายไก เป็นสาหร่ายน้ำจืดที่ขึ้นอยู่บนก้อนหินในน้ำไหลช้าๆ เป็นน้ำที่มีคุณภาพดี และใส สาหร่ายไกมีลักษณะเป็นเส้นสายยาวสีเขียวสด พบมากระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนพฤษภาคมของทุกปี เป็นช่วงฤดูหนาวถึงต้นฤดูฝน ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของสาหร่ายไกที่ขึ้นในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งแหล่งน้ำบริเวณที่มีสาหร่ายไกมากเป็นพิเศษในประเทศไทยมี 2 แหล่ง คือ แม่น้ำน่าน จังหวัดน่าน ตั้งแต่ต้นน้ำที่อำเภอทุ่งช้างไปจนถึงแม่น้ำน่านอำเภอเวียงสา แต่จะมีมากที่สุดที่อำเภอท่าวังผา แม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย โดยมีการจัดลำดับทางด้านอนุกรมวิธานของสาหร่ายไกดังนี้ (Kütz., 1843)

Kingdom Plantae

Division Chlorophyta

Class Ulvophyceae

Order Cladophorales

Family Cladophoraceae

Genus *Cladophora*

ภาพที่ 1 สาหร่ายไก

สาหร่ายไกพบมากในลำน้ำน่านและลำน้ำโขง จึงทำให้เกิดภูมิปัญญาชาวบ้าน โดยนำสาหร่ายเหล่านี้ไปแปรรูปเป็นอาหาร อาหารดั้งเดิมที่ชาวบ้านทั้ง 2 แหล่งน้ำ คือ ไกยี และ ห่อนึ่งไก ทั้ง 2 ชุมชนจะคล้าย ๆ กันไกยี ทำได้โดยนำสาหร่ายไกมาตากให้แห้ง แล้วนำมาผิงไฟให้กรอบ จากนั้นก็ใช้มือบดให้สาหร่ายแตกออกเป็นแผ่นเล็ก ๆ หรือป่น หลังจากนั้นนำมาปรุงรสทานกับข้าวเหนียว ส่วนห่อนึ่งไกนั้นทำคล้ายกับห่อหมก เพียงแต่เปลี่ยนจากปลามาเป็นสาหร่าย

ยุวดี และคณะ (2550) ได้ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไกไว้อย่างละเอียดดัง แสดงในตารางที่ 1 พบว่า สาหร่ายไกมีโปรตีนประมาณ 20% มีเส้นใยอยู่ในปริมาณ 21% มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 31 % และมีวิตามินบีหลายชนิดสาหร่ายไกจึงมีคุณค่าทางโภชนาการ และยังสามารถใช้ทดแทนเป็นอาหารกลุ่มที่ให้โปรตีน เส้นใย และวิตามิน ที่ดีได้ นอกจากนั้นในสาหร่ายไกยังมีซีลีเนียมซึ่งเป็นเกลือแร่ (trace element) ที่มีความสามารถต้านการเกิดอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูงอีกด้วยโดยซิลีเนียมเป็นสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระสูงมาก มีเบต้าแคโรทีนที่มากกว่าแครอทถึง 4 เท่า ช่วยลดคลอเลสเตอรอลจึงไม่ทำให้อ้วน ด้านสรรพคุณทางยาพบว่าสาหร่ายไก มีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ขยายหลอดลม ต้านการอักเสบ ระงับอาการปวด

ชาวบ้านมีความเชื่อว่าสาหร่ายไกทำให้สุขภาพแข็งแรง อายุยืนยาว มีการนำมาใช้เป็นยาบรรเทาอาการโรคได้หลายชนิด เช่น โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โรคผิวหนัง รักษาบาดแผล จากความเชื่อดังกล่าวนี้ทำให้มีชาวบ้านนิยมนำไกมาประกอบอาหารโดยใช้ไกทั้งสดและแห้งทำเป็นอาหารพื้นเมืองแบบง่าย ๆ เช่น ไกยี แกงไก เจียวไก ห่อหมกไก ยำไก และแปรรูปเพื่อจำหน่าย เช่น ไกอบแห้ง ข้าวเกรียบไก น้ำพริกไก เครื่องดื่มสาหร่ายไก

ฤทธิ์ชีวภาพของสาหร่ายไก

มีการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นทางเภสัชวิทยาของสาหร่ายไกพบว่า สารสกัดแอลกอฮอล์ของสาหร่ายไกมีฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ขยายหลอดลม ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ต้านการอักเสบ ระงับปวดและลดความดันโลหิต (Peerapornpisan et al., 2006) สารสกัดน้ำของสาหร่ายไกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบในการทดลอง 3 การทดลอง คือฤทธิ์กำจัดอนุมูลDPPH ฤทธิ์กำจัดอนุมูล superoxide และฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาวอีกด้วย (ยุวดี และคณะ, 2552; Peerapornpisal et al., 2006; Amornlerdpison et al., 2011)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไกต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม

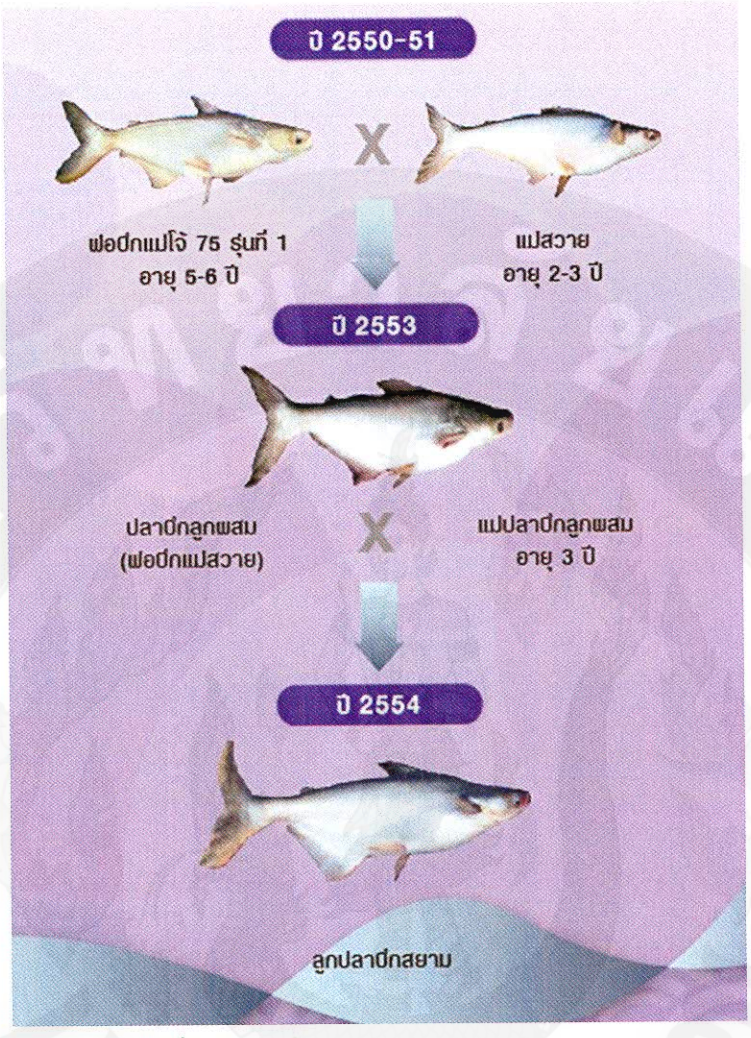
ตัวแปรที่ทำการศึกษา	ปริมาณ
สารอาหารพื้นฐาน (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	
โปรตีน	20.60
ไขมัน	6.14
กาก (ใยอาหาร)	21.20
เถ้า	14.20
คาร์โบไฮเดรต	31.25
วิตามิน (ไมโครกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	
กรดโฟลิก	128.20
วิตามิน B1	87.30
วิตามิน B2	355.60
กรดแพนโทธีนิก	349.30
สารอาหารอื่นๆ (กรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	
แคลเซียม	0.76
โซเดียม	0.47
โพแทสเซียม	2.61
แมกนีเซียม	194.80
แมงกานีส	21.20
เหล็ก	195.20

ปลาหนังลูกผสม

ในปี พ.ศ. 2553 ประเทศไทยมีอัตราการบริโภคปลาน้ำจืดเพิ่มขึ้นเป็น 14 กก./คน/ปี ทำให้อัตราการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดเพิ่มขึ้นประมาณ 10%/ปี (กรมประมงและสมาคมผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, 2554) ในตลาดต่างประเทศมีความต้องการบริโภคปลาหนังเนื้อขาวเช่น ปลาสวายเนื้อขาว ปลาลูกผสมระหว่างพ่อปลาบึกกับแม่ปลาสวาย และปลาลูกผสมระหว่างพ่อปลาเผาะกับแม่ปลาสวาย เป็นต้น ประมาณ 1-2 ล้านตัน/ปี จากสถิติการนำเข้าและส่งออก ปี 2553 ประเทศไทยได้มีการส่งออกปลาแล่เนื้อแช่แข็ง คิดเป็นมูลค่า 4,700 ล้านบาท และมีการนำเข้าปลาหนังกลุ่มปลาสวายในชื่อการค้า ปลาดอลลี่ (dolly) จากประเทศเวียดนามประมาณ 12,000 ตัน/ปี (กองประมงต่างประเทศ, 2554) ดังนั้นหากมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาหนังลูกผสมให้กับกลุ่มเกษตรกรรายเล็กที่มีอาชีพเลี้ยงปลาอยู่แล้ว จึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีให้กับอาชีพที่มั่นคง เนื่องจากเป็นปลาที่มีคุณภาพเนื้อเป็นที่ต้องการของตลาด สายพันธุ์โตเร็ว เลี้ยงง่าย ทนโรค และได้ผลผลิตดี และยังส่งผลทางอ้อมในการช่วยลดการนำเข้าปลาหนังจากต่างประเทศอีกด้วย

ภาพที่ 2 ปลาหนังลูกผสมบึกสยาม

ปลาหนังลูกผสมบึกสยามเป็นปลาหนังลูกผสมที่นำมาใช้ในการทดลองแสดงในภาพที่ 2 เป็นปลาหนังลูกผสมรุ่นที่ 2 ที่เกิดจากการผสมระหว่างพ่อปลาบึกกับแม่ปลาสวาย ได้เป็นปลาลูกผสม รุ่นที่ 1 (F1) ที่สามารถเจริญพันธุ์ได้ และนำพ่อแม่ปลาลูกผสมรุ่นที่ 1 มาผสมพันธุ์กันได้เป็นรุ่นลูกปลาลูกผสม รุ่นที่ 2 หรือบึกสยาม (F2) โดยภาพที่ 3 แสดงที่มาของปลาหนังลูกผสม ปัจจุบันปลากลุ่มนี้กำลังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเป็นอาหารสุขภาพที่มีรสชาติอร่อย เนื้อมีคุณภาพดี และมีคุณค่าทางโภชนาการสูงในตารางที่ 2 แสดงคุณค่าทางโภชนาการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มปลา 2 ชนิด โดยพบว่ากลุ่มปลาหนังให้ปริมาณไขมันที่มากกว่า



ภาพที่ 3 แสดงที่มาของปลาหนังลูกผสม (ปลาบึกสยาม)

อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ถูกปล่อยออกมาในรูปของโมเลกุลที่ไม่ครบวงจรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงพร้อมที่จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวอื่น มีการทำลายเนื้อเยื่อส่งผลให้เซลล์ได้รับความเสียหาย ทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรค(Halliwell et al., 1992; Vajraguta et al., 2007)ในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมีมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดขึ้น ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ เกิดการอักเสบและทำให้ปลาเป็นโรคง่าย เกิดการตายของปลาขึ้นสาเหตุที่ทำให้ปลาเกิดความเครียด ได้แก่ อาหารคุณภาพน้ำ ความหนาแน่นในการปล่อยปลาในกระชัง และสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ความเครียดมีผลทำให้อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ถูกปล่อยออกมาในรูปของโมเลกุลที่ไม่

ครบวงจรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงพร้อมที่จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวอื่น มีบทบาทในการก่อให้เกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมของเซลล์ ทำให้เกิดการตายของปลา ในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) เกิดขึ้น โดยอาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และ/หรือมีการลดลงของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระลดลงในตัวปลา ภาวะ oxidative stress มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปนเปื้อนจากสารพิษหรือโลหะหนัก การได้รับอาหารไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic effect) หรือต่อ membrane phospholipids ที่มีทั่วตัวปลา อาทิเช่น การเกิด lipid peroxidation ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่ในเซลล์และที่อยู่ที่ผนังของเซลล์ได้ เช่น ภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระตัวหนึ่ง ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของภาวะ lipid peroxidation จากสาเหตุดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการทำลายของไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอขึ้น โดยปกติในตัวปลาจะมีกลไกที่จะลดสารอนุมูลอิสระ โดยอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับการทำลายสารอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GSH-Px) เพื่อปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress ได้ (Van der Oost, et al, 2003).

ปฏิกิริยา Lipid peroxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ประกอบด้วยลิปิด 2 ชั้น การเกิดลิปิดออกซิเดชันกับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก Lipid peroxidation ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีทีน และเพนเทน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดิไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) Lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิปิดและทำให้เกิดอนุมูลลิปิด ($L^{\cdot}$ หรือ $R^{\cdot}$) Lipid peroxidation (โอภา และคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

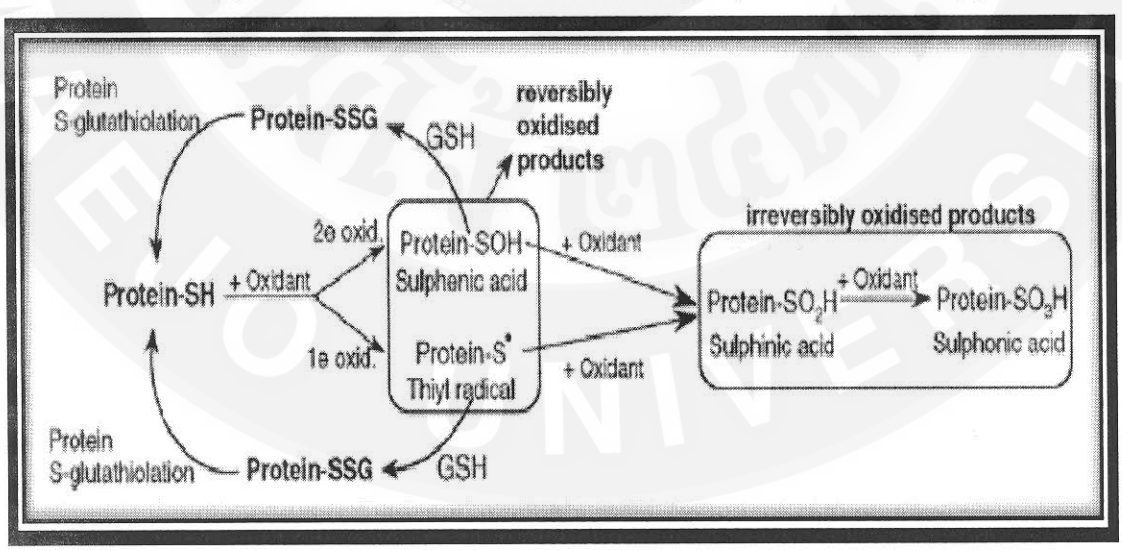
สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบเช่นดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในเซลล์สามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิดเช่นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (catotinoid) (Velioglu*et al.*, 1998) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆในภาวะปกติร่างกายจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วนคือส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุลและส่วนที่สองคือกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอซีอีหรือเบต้าแคโรทีน (β- carotenoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (Shapoval and Gromovaia, 2003) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายเช่นเอนไซม์คะตะเลส (catalase) กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือสารประกอบ/โปรตีนบางอย่างเช่นอัลบูมิน (albumin) บิลิรูบิน (bilirubin) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) กลูตาไธโอน (glutathione) ทรานสเฟอริน (transferrin) ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้นสารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆให้อยู่ในระดับพอเหมาะแต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stressขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆของรางก่ายซึ่งถ้าสะสมมากๆอาจน่าไปสู่ความผิดปกติหลายอย่าง

กลูตาไทโอน (GSH)

กลูตาไทโอนเป็นกรดอะมิโนโปรตีน ประเภท tripeptide (3 สายโมเลกุล) แสดงในภาพที่ 7 ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ตัวได้แก่ cysteine, glycine และ glutamic acid cysteine มี sulfur (กำมะถัน) เป็นองค์ประกอบชื่อย่อของกลูตาไทโอนคือGSH (Glutathione sulfhydryl) SH หมายถึงกลุ่มไทออล ที่มี sulfur (กำมะถัน) ทำให้เป็นantioxidant ที่ทรงอานุภาพ ทำงานได้ในเอนไซม์หลายระบบ หลังจากทำงานแล้วกลูตาไทโอนจะถูกออกซิไดส์กลายเป็น GSSH คือ มีอะตอมของกำมะถัน (S) เกาะติดเพิ่มเข้ามา GSSH จะกลับคืนสภาพเป็น GSH โดยการรีดิวส์ หรือ ได้รับอิเลคตรอน หรือถูกเติมอิเลคตรอนด้วยเอนไซม์ glutathione reductaseเมื่อ GSH ถูกออกซิไดส์ หรือ ถูกแย่งอิเลคตรอน หรือเป็น antioxidant ที่ให้อิเลคตรอนไป ก็เข้าสู่สภาพเป็น GSSH (ภาพที่ 4)

กลูตาไทโอนมีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะถูกออกซิไดส์ คือ

1. เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิดที่ทำหน้าที่กำจัดนุมูลและการเกิดออกซเดชั่น ได้แก่ GPX (กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดชั่น) และ GST (กลูตาไทโอนทรานเฟอเรส) เป็นต้น
2. ช่วยในการขนส่งกรดอะมิโนผ่านพาสมาเมมเบรน
3. ขจัดหรือสลายอนุมูลไฮดร็อกซีโดยตรง และเร่งการทำงานของเอนไซม์ในการกำจัดอนุมูลลิพิดเปอร์ออกไซด์ และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์โดยตรง
4. รีดิวซ์ อนุมูลวิตามินซีและอนุมูลวิตามินอีให้กลับอยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 4บทบาทของกลูตาไทโอนในการปกป้องหมู่ไทออนของโปรตีน

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1.การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายไก

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 สาหร่ายไกแห้ง

1.1.2 Spectrophotometer

1.1.3 Rotary evaporator

1.1.4 Freeze dryer

1.1.5 Water bath

1.1.6 ผ้าขาวบาง

1.1.7 หลอดทดลอง

1.1.8 ตู้อบ

1.2 สารเคมี

1.2.1 2, 2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline -6-sulfonic acid (ABTS)

1.2.2 trolox

1.2.3 Folin-Ciocalteu

1.2.4 โซเดียมคาร์บอเนต

1.2.5 gallic acid

2.การศึกษาการเจริญเติบโตของปลาหนังในกระชัง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 กระชังขนาด 1.2 ลูกบาศก์เมตร

2.1.2 สาหร่ายไกผงละเอียด

2.1.3 อาหารปลาดุกไฮเกร์ดชนิดเม็ด

2.1.4 ไม้ไผ่

2.1.5 ปลาหนังลูกผสม(ปลาบึกสยาม)

2.1.6 เครื่องบดอาหาร

2.1.7 เครื่องบดสาหร่าย

2.1.8 เครื่องอัดอาหารเม็ด

2.1.9 เชือก

2.1.10อิฐถ่วงก้นกระชัง

2.1.11แผ่นป้ายฟิวเจอร์บอร์ด

2.2ด้านการวัดการเจริญเติบโต

2.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.2กะละมัง

2.2.3เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 1 ตำแหน่ง

2.2.4 สวิง

2.2.5 ไม้บรรทัด

3. ด้านการประเมินระบบการทำงานของเอนไซม์ปลาหนังลูกผสม (บึกสยาม)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 กรรไกร

3.1.2 ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส (Hitachi)

3.1.3 ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

3.1.4 ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส

3.1.5 ปากคีบ

3.1.6 ชุดเครื่องมือผ่าตัด

3.1.7 หลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

3.1.8 เข็มฉีดยาเบอร์ 20, 21, 23

3.1.9 Autoclave (Becthai hirayama)

3.1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง

3.1.11 Micro tubes

3.1.12 อลูมิเนียมฟอยล์

3.1.13 Pipet tips

3.1.14 micro Pipet

3.1.15 นาฬิกาจับเวลา

3.1.16 เครื่องให้สารผสม (Vortex)

3.1.17 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.1.18 Tissue Ruptor (Qiagen)

3.2 สารเคมี

3.2.1 น้ำมันกานพลู

3.2.2 Protinase inhibitors

3.2.3 EDTA

3.2.4 RIPA Buffer

3.2.5 น้ำกลั่น

3.2.6 Mycophenolic acid (MPA)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสาหร่ายไก

นำสาหร่ายไกจากกลุ่มแม่บ้าน อำเภอท่าวังผา จังหวัดน่าน และจากฐานเรียนรู้สาหร่าย คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ มาล้างด้วยน้ำจนสะอาด จากนั้นนำมาผึ่งลมให้มีความหมาดพอสมควร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C ประมาณ 48 ชม.จนกว่าสาหร่ายจะแห้ง

2. การเตรียมสารสกัดน้ำของสาหร่ายไก

โดยนำสาหร่ายไกแห้งจำนวน 200 กรัมมาต้มในน้ำปริมาตร 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนสารละลายน้ำที่แยกกากออก มาระเหยเอาน้ำออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 60°C จากนั้นทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer ได้เป็นสารสกัดน้ำของสาหร่ายไก

3. การตรวจหากลุ่มสารประกอบฟีโนลิกในสาหร่ายไก

โดยอ้างอิงจากวิธีการของ Hammerschmidt และ Prat (1978)ดังนี้ ผสมสารสกัด 0.2 มล. กับ 10% Folin-Ciocalteu solution 1 มล. และ 7.5%sodium carbonate solution 0.8 มล. ทิ้งส่วนผสมที่ได้ไว้นาน 1 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตรคำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกโดยเปรียบเทียบ gallic acid (กรัม/100กรัม)โดยเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีโนลิกที่ตรวจพบในสาหร่ายไกที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติ และที่เก็บจากการเพาะเลี้ยงจากฐานเรียนรู้สาหร่ายฯ

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายไก

ใช้การทดลอง ABTS Scavenging activityในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งดัดแปลงวิธีการมาจากRe et al. (1999)ดังนี้ผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 5 มิลลิลิตรกับสารละลาย $K_2S_2O_8$ ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 88 ไมโครลิตร ในขวดสีชาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จะได้ stock ABTS radical cationโดยก่อนการทดสอบเจือจาง stockABTS radical cation ด้วย 95% แอลกอฮอล์ ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.700 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรเริ่มการทดสอบโดยเตรียมสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง และใช้ 95% แอลกอฮอล์ เป็นชุดควบคุมต่อมาเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) ตามสมการดังนี้

% Inhibition = $[(Abs._{control} - Abs._{test\ sample}) / Abs._{control}] \times 100$

$Abs._{control}$คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

$Abs._{test\ sample}$คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

ทำการเปรียบเทียบผลการต้านอนุมูลอิสระระหว่างไกที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติ และที่ทำการเพาะเลี้ยง

5.การเตรียมอาหารปลาเสริมสาหร่ายไก

ทำการเตรียมอาหารปลาเสริมสาหร่ายไกแห้ง3 ขนาดคือ 2.5, 5 และ 10% โดยใช้วัตถุดิบในการทำอาหารปลาซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลายข้าว และรำข้าว โดยมีปริมาณโปรตีนที่ระดับ 30 % อัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลอง 3 % ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09.00-10.00 น. และ 15.00-16.00 น.)

6. การเตรียมปลาหนังลูกผสม

ปลาหนังลูกผสมอายุ 1-2 เดือน น้ำหนักประมาณ 50-60 กรัม จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำปลามาพักให้ปรับตัวในกระชังก่อน โดยให้อาหารสำเร็จรูปปลากินเนื้อเอย่างน้อย 7 วันเพื่อให้ปลาปรับสภาพ

7. การเตรียมกระชัง

ใช้มุ้งอวนฟ้าทำกระชังขนาด 1.2 ลูกบาศก์เมตร และติดตั้งกระชังโดยแขวนให้กระชังลึก 1 เมตร และห่างกันประมาณ 1 เมตร จำนวน 12 กระชังโดยปล่อยปลาหนังจำนวน 20 ตัว /กระชัง

8. ศึกษาผลการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมในกระชัง(ทำการวิจัยในปีที่ 1)

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) แบ่งการทดลองเป็น 4 หน่วยการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

หน่วยการทดลองที่ 1 อาหารปลาเสริมสาหร่ายไก 0%ใช้เป็นกลุ่มควบคุม

หน่วยการทดลองที่ 2 อาหารปลาเสริมสาหร่ายไก2.5%

หน่วยการทดลองที่ 3 อาหารปลาเสริมสาหร่ายไก 5.0%

หน่วยการทดลองที่ 4 อาหารปลาเสริมสาหร่ายไก 10%

ทุกหน่วยการทดลองเลี้ยงในกระชัง ทำการบันทึกการเจริญเติบโตเช่น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ จากแต่ละหน่วยการทดลองทุก 1 เดือน และเลี้ยงเป็นระยะเวลา7 เดือน

การคำนวณการเจริญเติบโต

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain)

=น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักเริ่มต้น

อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain; ADG)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{จำนวนวัน}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ(feed conversion rate; FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

อัตราการรอด (% survival rate)

$$= \frac{\text{จำนวนปลา}}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อย}} \times 100$$

9.ศึกษาผลของสาหร่ายไกต่อระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาหนังโดยสุ่มเก็บตัวอย่างเลือด และเก็บตัวอย่างอวัยวะเช่น ตับ ไตและเลือด เพื่อวัดระดับmalondehyde (MDA) ที่บ่งบอกภาวะ oxidative stress และวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ total Glutathione (Total GSH), oxidized GSH (GSSH) และreduced GSH

9.1การเก็บเลือด

9.1.1วิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)

เก็บตัวอย่างเลือดปลาที่เส้นเลือดตำแหน่งบริเวณกระดูกสันหลัง 100 – 150 ไมโครลิตรโดยใส่ในหลอดที่มี EDTA นำเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,300 g เป็นเวลา10นาทีที่ที่ 4 ºCจากนั้นดูดส่วนที่เป็นส่วนใสด้านบน (supernatant)ไปใส่ใน trip อันใหม่แล้วนำไปเก็บที่ -20 ºC เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

9.1.2 วิเคราะห์ปริมาณ GSH

เก็บตัวอย่างเลือดปลาที่เส้นเลือดตำแหน่งบริเวณกระดูกสันหลังมา 100 – 150 ไมโครลิตรโดยใส่ในหลอดที่มี EDTA นำเลือดที่ได้ปั่นที่ความเร็ว 1,300 g ที่ 4 ºCเป็นเวลา 10 นาทีและเก็บส่วนกลาง (middle part) ที่เป็น erythrocytes (red blood cells) ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมา ใส่ใน microcentrifuge tube อันใหม่ และเติม HPLC grade water ในอัตราส่วน 1:5 นำไปทำให้เซลล์แตก

ด้วย vortex เป็นเวลา 5 นาทีแล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 g ที่ 4 ºC10 นาทีดูดส่วน supernatant ที่ได้จากปั่นเหวี่ยงแล้วมาใส่ metaphospholic acid ในอัตราส่วน 1:1 นำไป vortex และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา5 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 g เป็นเวลา 4 นาทีที่อุณหภูมิห้อง เก็บส่วนsupernatant เป็น erythrocyte lysate ที่ -20ºCเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ GSH โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปต่อไป

9.2 การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ

นำตับและไตของปลาออกมาแล้วทำการชั่ง น้ำหนักอย่างละ 0.04 กรัมใส่ลงใน 400 ไมโครลิตรของ fresh Lytic buffer ที่มี protease inhibitor แล้ว homogenate tissue ประมาณ 20 strokes นำ lysed sample ไป centrifuge ที่ 1,600 gที่ 4ºC เป็นเวลา 10 นาทีเก็บ supernatant ทั้งหมดที่ -80ºC ก่อนนำไปทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ MDA-TBAR โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปต่อไป

9.3 การวิเคราะห์ทางชีวเคมี

9.3.1 การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ จากเนื้อเยื่อตับและ/หรือไต เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation นำเนื้อเยื่อตับและ/หรือไต ใส่ในสารละลายบัฟเฟอร์และบดด้วยเครื่อง homogenizer ที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นทำการปั่นแยกส่วนสารละลาย นำส่วน supernatant และพลาสมา มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป และวัดเทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีนซึ่งหาได้จากวิธี Bradford assay

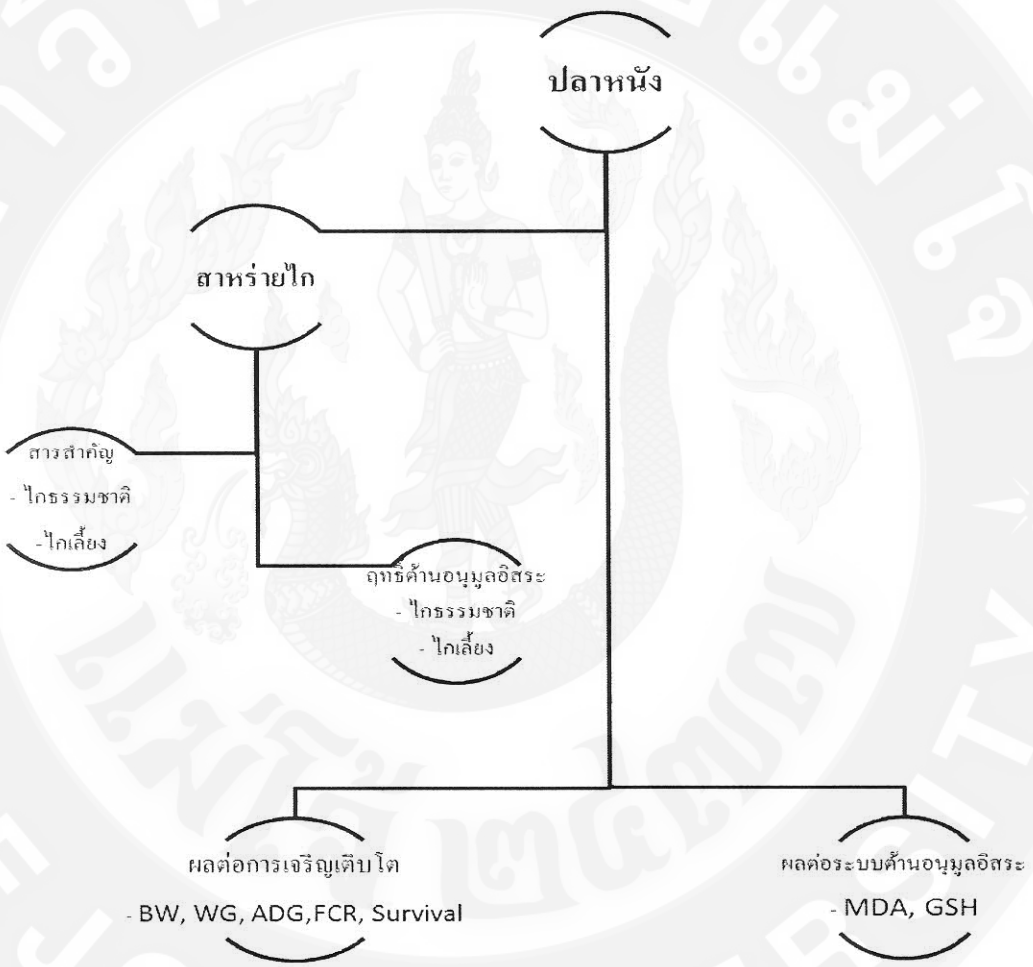
9.3.2 การวัดปริมาณกลูตาไทโอน นำส่วน erythrocyte ของเซลล์เม็ดเลือดแดง มาตกตะกอนโปรตีนแล้วนำส่วนของ supernatant มาวัดหาค่า total glutathione, oxidized glutathione และ reduced glutathione ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน

9.3.3 การวัดปริมาณโปรตีนในพลาสมา เนื้อเยื่อตับและ/หรือไตโดยวิธีBradford assay เจือจางสารละลายตัวอย่างส่วน supernatant และพลาสมา ในอัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วเติมน้ำยาสำเร็จรูป และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ทำการเทียบปริมาณโปรตีนกับกราฟมาตรฐาน bovine serum albumin

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูล ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS/PC version 15 วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนด้วย One-Way ANOVAตามด้วยการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยการทดลองเป็นรายคู่ด้วย Duncan (p<0.05) ในการทดลองการศึกษาผลของสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตและการต้านอนุมูลอิสระในปลาหนัง

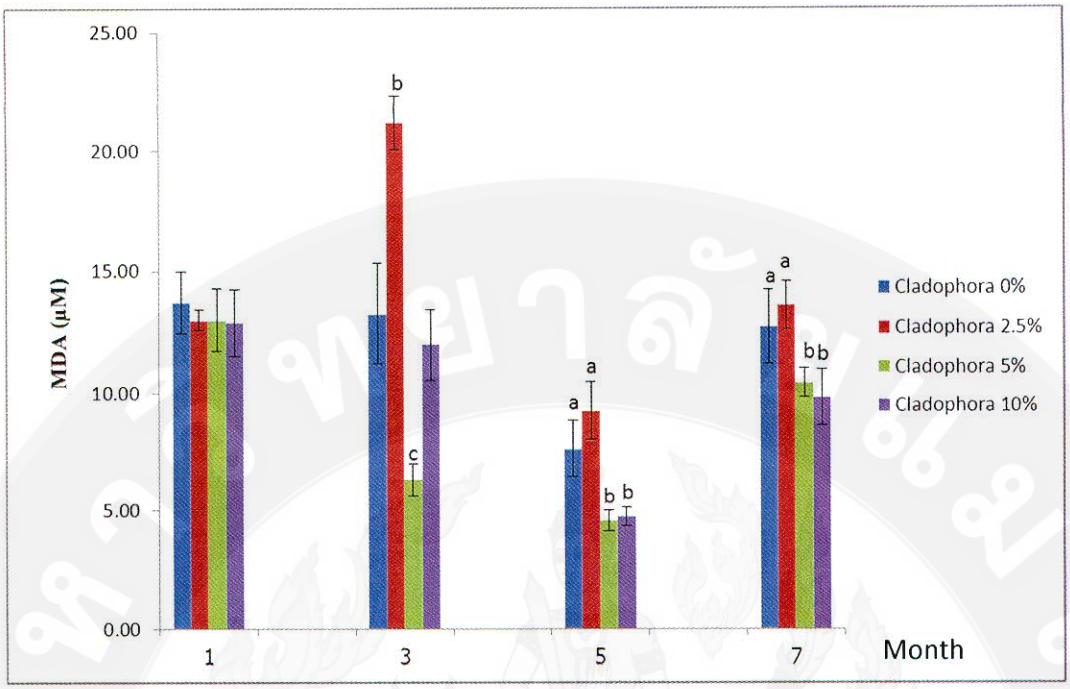
สรุปขั้นตอนการทดลองดังแผนภาพด้านล่าง



1ผลการวิจัย

จากการวิจัยในปี พ.ศ.2556 ได้ทำการตรวจหากลุ่มสารประกอบฟีโนลิกในสาหร่ายไกเปรียบเทียบกัน 2 ฤดูกาลจากธรรมชาติ และจากบ่อเลี้ยง พบว่า สาหร่ายไกจากบ่อเลี้ยงมีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกสูงกว่าสาหร่ายไกจากธรรมชาติ อย่างไรก็ตามสาหร่ายที่เก็บจากทั้ง 2 แหล่ง พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) อีกทั้งสาหร่ายไกที่เก็บจากบ่อเลี้ยงมีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับการศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้สาหร่ายไกจากธรรมชาติมาผสมในอาหารปลา เนื่องจากมีปริมาณมากและจัดหาได้ง่าย โดยนำมาเสริมในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10% แล้วใช้เลี้ยงปลาหนังลูกผสมในกระชังเป็นระยะเวลา 7 เดือน ผลการทดลองพบว่าปลาหนังลูกผสมในหน่วยทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไกขนาด 5 และ 10% มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยที่การเสริมสาหร่ายไกทั้ง 2 ระดับนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปลาหนังกลุ่มที่ได้รับการเสริมสาหร่ายไก 10% มีค่าของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก (Weight gain) และการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain; ADG) สูงสุดในเดือนที่ 7 และมีค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) น้อยที่สุดตลอดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงในเดือนที่ 7 พบอัตรารอด 100% ทุกหน่วยการทดลอง (ดวงพร และคณะ, 2556)

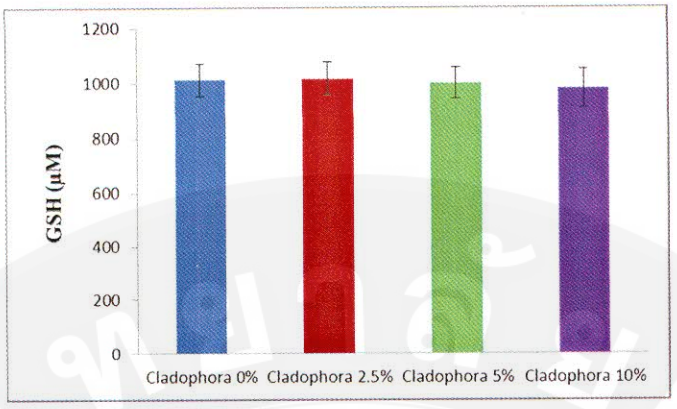
ต่อมาได้ทำการศึกษาต่อเนื่องในปี พ.ศ.2557ด้านการประเมินผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อระบบต้านอนุมูลอิสระ โดยประเมินภาวะเครียดออกซิเดชั่นหรือการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดของปลาหนังด้วยการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)ที่แสดงในรูปแบบของระดับ malondialdehyde (MDA) โดย MDA เป็นผลผลิตจากการเกิด lipid peroxidation ที่แสดงภาวะเครียดออกซิเดชั่น(oxidative stress) ในเซลล์พบว่า ปลาหนังลูกผสมบึกสยามที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไกที่ระดับ 5 และ 10% ให้ระดับ MDAลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 ของการเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมสาหร่ายไก (ภาพที่5) โดยปลาหนังกลุ่มที่ให้สาหร่ายไกที่ 5% มีระดับลดลงสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นในเดือนเดียวกัน จากนั้นได้ทำการตรวจวัดระดับกลูตาไทโอน (GSH) ในเลือด พบว่า ในเดือนที่ 7 ซึ่งเป็นเดือนสุดท้ายของการทดลอง ระดับกลูตาไทโอนรวม (Total GSH) ออกซิไดส์กลูตาไทโอน(GSSG) และรีดิวส์กลูตาไทโอน(Reduce GSH) ในปลาหนังทั้ง 4 กลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 6)



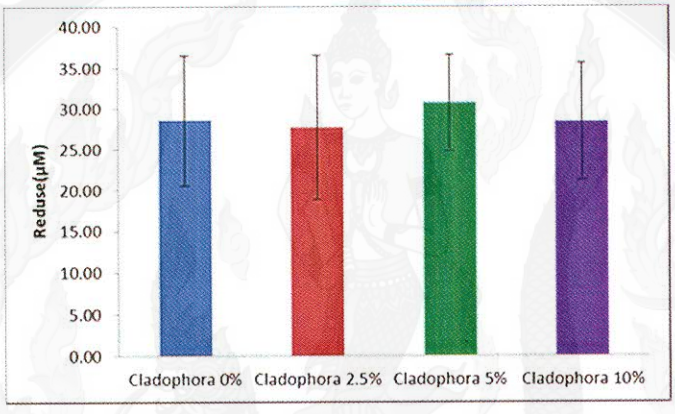
ภาพที่ 5 ผลของสาหร่ายไกต่อลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดปลาหนังลูกผสมบึกสยาม

[a-c]ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)

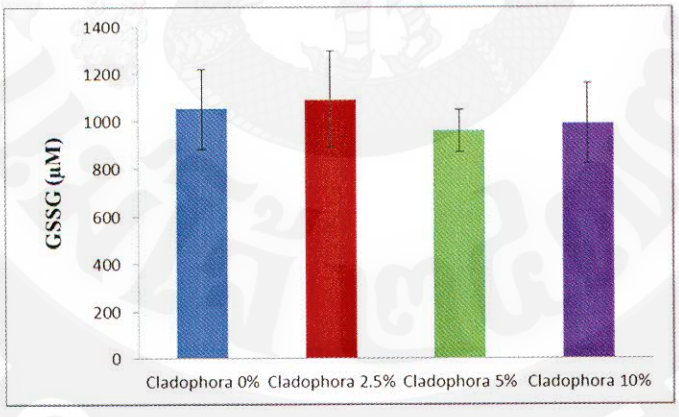
1) กลูตาไทโอน



2) รีดิวส์กลูตาไทโอน



3) ออกซิไดส์กลูตาไทโอน



ภาพที่ 6 ระดับของกลูตาไทโอนในเลือดของปลาหนังลูกผสมที่ให้อาหารผสมสาหร่ายไกในเดือนที่ 7 ของการเลี้ยง

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาในปีที่ 1 พบว่าจากคุณสมบัติของสาหร่ายไกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงนำสาหร่ายไกมาช่วยในเรื่องส่งเสริมสุขภาพของสัตว์น้ำโดยการเสริมสาหร่ายไกที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10% ในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาหนังลูกผสมในกระชังเป็นเวลา 7 เดือน ผลการทดลองพบว่า ปลาหนังฯ ในหน่วยทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไกขนาด 5และ 10% มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่การเสริมสาหร่ายไกทั้ง 2 ระดับนี้ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปลาหนังฯที่ได้รับการเสริมสาหร่ายไก 10% มีค่าของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก (Weight Gain) และการเจริญเติบโตต่อวัน (Average Daily Gain; ADG) สูงสุดในเดือนที่ 7 โดยมีค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate; FCR) น้อยที่สุดตลอดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง พบอัตรารอด 100% ทุกหน่วยการทดลอง(ดวงพร และคณะ, 2556) จากนั้นจึงทำการประเมินผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อระบบต้านอนุมูลอิสระต่อในปีที่ 2 โดยประเมินภาวะเครียดออกซิเดชั่นหรือการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดของปลาหนัง ด้วยการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ที่แสดงในรูปแบบของระดับ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตของการเกิด lipid peroxidation ที่แสดงภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) ในเซลล์ผลการทดลองพบว่า ปลาหนังฯ ที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไกที่ระดับ 5 และ 10% ให้ระดับ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 โดยปลาหนังกลุ่มที่ให้สาหร่ายไกที่ 5% มีระดับลดลงสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นในเดือนเดียวกัน

สาหร่ายไกมีฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยมีสารสำคัญกลุ่มฟีโนลิกเป็นสารสำคัญและมีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการทดลองดังกล่าวได้รายงานไว้ในปีที่ 1 (ดวงพร และคณะ, 2556) ซึ่งมีความสอดคล้องการรายงานการวิจัยของ Peerapornpisal et al (2006) ที่พบว่า สารสกัดแอลกอฮอล์ของสาหร่ายไกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ยั้บยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ ช่วยขยายหลอดลม มีฤทธิ์ระงับปวดและลดความดันโลหิต นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดน้ำของสาหร่ายไกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบในการทดลอง 3 การทดลอง คือฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ฤทธิ์กำจัดอนุมูล superoxide และฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูขาว

อีกด้วย (ยุวดี และคณะ, 2552; Peerapornpisal et al., 2006; Amornlerdpison et al., 2011) โดยในสารสกัดทั้งในส่วนของสารสกัดแอลกอฮอล์และสารสกัดน้ำของสาหร่ายไกมีการตรวจพบว่ามีสารประกอบฟีโนลิกเป็นสารสำคัญอยู่ในปริมาณสูงมีการศึกษาตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมดในการสกัดหยาบของสาหร่ายเตาด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน อะซิโตน เมทานอล น้ำที่อุณหภูมิห้องและน้ำร้อน และทำการศึกษาพฤกษเคมีของสารสกัดน้ำและเมทานอลของสาหร่ายเตา พบว่ามีสารประกอบกลุ่มแทนนิน คาร์ดิแอคไกโคไซด์ และ สารกลุ่มซาโปนิน (รัตนาภรณ์,2555)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสาระสำคัญในสาหร่ายชนิดอื่นๆที่นำมาใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์น้ำ ดังนี้ Wu et al. (2005) พบว่า สารสกัดน้ำของสาหร่าย *Spirulina* sp. มีสารประกอบฟีโนลิกเป็นส่วนประกอบและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระDPPH และ ABTS ด้วย โดยมีการนำ*Spirulina* sp. มาเสริมในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำพบว่า ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของปลาบึก ปลาเผาะ และปลาสวายได้ดี(Mengumphan and Saengkrachag, 2008; Mengumphanet al., 2011)และจากรายงานการวิจัยของ ธีระวัฒน์ และคณะ(2556) ได้นำสาหร่ายเตามาใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของสัตว์น้ำโดยการเสริมสาหร่ายเตาในอาหารเลี้ยงปลานิล ซึ่งผลการศึกษาพบว่า สาหร่ายเตาสามารถเพิ่มน้ำหนักและอัตราการรอดได้ เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และยังพบสารประกอบฟีโนลิกเป็นสารสำคัญในสาหร่ายเตาอีกด้วย ส่วนรายงานเกี่ยวกับสาหร่ายทะเลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สาหร่าย *Padina minor* Yamadaมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบในการกำจัดอนุมูล superoxide, hydroxyl, ABTS และฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation(Amornlerdpisonet al., 2007;Peerapornpisal et al., 2010) โดยตรวจพบกลุ่มสารสำคัญเป็นสารกลุ่มฟีโนลิกและสารกลุ่มซัลเฟตโพลีแซคคาร์ไรด์(sulfate polysaccharide) ส่วนสาหร่าย *Sargassumpolysystum* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และยับยั้งการเกิด lipid peroxidation (Amornlerdpisonet al., 2008) โดยในปัจจุบันได้มีการนำสาหร่ายทะเลเหล่านี้มาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์น้ำส่วนสาหร่ายไกถูกนำมาใช้เป็นอาหารของปลาน้ำจืดหลายชนิด โดยเฉพาะปลาบึก (ศรีวรรณและประเสริฐ, 2544; Southeast Asia Rivers Network, 2006)

ในภาวะที่ไม่สมดุลที่มีสารอนุมูลอิสระมีมากขึ้นจึงทำให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลงจะทำให้ปลาเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)ขึ้น เอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระ

ลดลงในตัวปลา เช่น superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น โดยภาวะ oxidative stress มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลที่มีผลต่ออุณหภูมิของน้ำ การปนเปื้อนจากสารพิษหรือโลหะหนัก การได้รับอาหารไม่มีคุณค่าหรือไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic effect) มีผลต่อ membrane phospholipids ที่มีทั่วตัวปลา เกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของไขมัน โปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่ในเซลล์และที่อยู่ที่ผนังของเซลล์ได้ (Van der Oost, et al, 2003) ซึ่งทำให้ปลาเป็นโรคง่าย โตช้า กินอาหารน้อยลง ส่งผลทำให้ปลาตายในที่สุดมีรายงานการวิจัยการนำสาหร่ายมาใช้เป็นสารชีวภาพเพื่อลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในสัตว์น้ำ จากรายงานของ ธีระวัฒน์และคณะ (2556) ที่ได้ทำการศึกษาระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในปลานิลที่ให้อาหารเสริมสาหร่ายเตาผลการศึกษาพบว่าการให้สาหร่ายเตาที่ระดับ 5%,10% เป็นระยะเวลา 4 เดือนมีผลต่อการลดลงของระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในไตและตับของปลานิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และส่งผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของปลานิลมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า การให้สาหร่ายไกมีผลต่อการลดลงของระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในเลือดของปลาหนังลูกผสม และสอดคล้องกับผลของ Weight Gain และ ADG ซึ่งมีระดับแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Lipid peroxidationเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิปิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา(Halliwell et al.,1987)เนื่องจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ที่ประกอบด้วยลิปิด 2 ชั้นการเกิดลิปิดออกซิเดชันกับลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไปยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก Lipid peroxidation ได้แก่สารไฮโดรคาร์บอนเช่นอีเทนอีทีนและเพนเทนรวมถึงสารคีโตนและสารอัลดีไฮด์เป็นต้นซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญคือมาลอนไดอัลดิไฮด์ (Malondialdehyde, MDA)(Anbarasu Kumar, 2011) มีรายงานการวิจัย การให้อาหารที่ผสมสารคาโรทีนอยด์ที่สกัดจากสาหร่าย*Aspergillucarbonarius*ที่ความเข้มข้น 250 ppm ในหนูขาว พบว่าทำให้ระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน(MDA)ในตับลงลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ให้อาหารที่ผสมคาโรทีนอยด์และมีรายงานว่าในหนูแก่จะมีค่า MDA ในระดับที่สูงขึ้นแต่เมื่อให้สาร

โพลีแซคคาไลด์ที่สกัดด้วยสาหร่าย *Porphyrahaitanesis* ทำให้ระดับ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในตับ ซึ่งให้ผลเทียบเท่ากับวิตามินซี (Quanbin Zhang,2003)

กลูตาไทโอนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยในร่างกายมีกลูตาไทโอนอยู่ใน 2 รูปแบบ คือ กลูตาไทโอนในรูปรีดิวส์(GSH) และกลูตาไทโอนในรูปออกซิไดส์ คือ กลูตาไทโอนไดซัลไฟด์(GSSH) กลูตาไทโอนเป็นตัวช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายของคนหรือสัตว์ มีรายงานว่าการศึกษาในปลาทองหลังจากการสัมผัสสารเคมี2,4-dichlorophenolพบว่าระดับของกลูตาไทโอนเพิ่มมากขึ้นแสดงให้เห็นบทบาทของกลูตาไทโอนในการกำจัดอนุมูลอิสระจากการปนเปื้อนของสารพิษในตัวปลา(Yonar and Sakin ,2011) โดยสภาวะเครียดออกซิเดชั่นของปลาขึ้นอยู่กับชนิด ที่อยู่อาศัย และพฤติกรรมการกินของปลาด้วยโดยที่ความแตกต่างของชนิดการกินและที่อยู่อาศัยเหล่านี้มีผลต่อการทำงานของร่างกายและการต้านทานต่อภาวะออกซิเดชั่นโดยที่การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระจะถูกชักนำโดยภาวะออกซิเดชั่นแต่ภาวะออกซิเดชั่นที่รุนแรงอาจไปลดการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระและสูญเสียการควบคุมได้ (Zhang et al., 2004)

จากการศึกษาระดับกลูตาไทโอนในเลือดของปลาหนังลูกผสมที่ได้รับสาหร่ายไกเสริมในอาหารเป็นเวลา 7 เดือน พบว่า กลูตาไทโอนรวม รีดิวส์กลูตาไทโอน และระดับกลูตาไทโอนออกซิไดส์ในทุกๆกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยทางสถิติดังนั้นสาหร่ายไกที่เสริมลงในอาหารของปลานั้น ไม่ได้ส่งผลต่อระดับกลูต้าไทโอนในปลา ซึ่งต่างจากรายงานการวิจัยของ Li et al. (2003) พบว่าเมื่อให้สารสกัด Domoic acid (DA) ในระดับความเข้มข้นที่มากจะทำให้ระดับกลูตาไทโอนในตับและเหงือกของปลานิลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในปลานิล และรายงานการวิจัยของ ธีระวัฒน์ และ คณะ(2556)ได้เสริมสาหร่ายเตาในอาหารเลี้ยงปลานิล ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ระดับของกลูตาไทโอนรวม และ รีดิวส์กลูตาไทโอน เพิ่มขึ้นส่วนระดับกลูตาไทโอนออกซิไดส์นั้นลดลงอย่างมีนัยทางสถิติ

สรุปผลการวิจัย

สาหร่ายไกมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ เนื่องจากมีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และมีคุณค่าทางโภชนาการ โดยเมื่อนำมาเสริมในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาที่ระดับ 5% มีความเหมาะสมที่สุด เพราะให้ผลการเจริญเติบโตและต้นทุนการผลิตอาหารดีที่สุดนอกจากนี้สาหร่ายไกยังสามารถลดระดับภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาได้ซึ่งช่วยลดการเกิดภาวะออกซิเดชันของไขมันที่เป็นข้อบ่งชี้ภาวะเครียดในปลาการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจะช่วยทำให้ปลามีสุขภาพดี ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ ทำให้ไม่เป็นโรคง่าย มีอัตราการรอดสูง อย่างไรก็ตามสาหร่ายไกไม่มีผลต่อการเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดกลูต้าไทโอนในเลือดปลาผลจากการศึกษาครั้งนี้ช่วยสนับสนุนการนำสาหร่ายไกมาเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้เป็นอย่างดีส่งผลต่อการผลิตปลาที่มีคุณภาพ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันได้เป็นอย่างดี

ผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

1.องค์ความรู้จากงานวิจัยสามารถเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรน้ำทั้งสาหร่ายไกและปลาหนัง โดยนำมาประยุกต์ใช้ต่อยอดในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์ได้

2.ได้ผลิตภัณฑ์อาหารปลาเสริมสาหร่ายไกที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและลดภาวะเครียดในสัตว์น้ำทำให้ได้ผลผลิตปลาที่มีคุณภาพ

3.ผลิตบัณฑิตปริญญาโทจำนวน 1 คน คือ นายเมธัส เงินจันทร์ นักศึกษาปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ม.แม่โจ้

4.สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่จำนวน 2 คน คือ

4.1 นส.รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ นักศึกษาปริญญาโท สาขาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ ม.แม่โจ้

4.2 อ.ดร.ชุติมา ศรีมะเริง ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ม.เชียงใหม่

5. เผยแพร่ผลงานวิชาการในการประชุม 2 เรื่อง คือ

5.1 แบบบรรยาย oral presentation โดย นายเมธัส เงินจันทร์ เรื่อง ผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตในปลาหนังลูกผสม ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ครั้งที่ 3 วันที่ 23 พย 2555.

5.2 แบบโปสเตอร์ poster presentation เรื่อง สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชั่นของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม โดย ผศ.ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล ในงานประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 7 วันที่ 25-27มีนาคม 2558 รร.นารายณ์ กทม.

6. ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสาร 3 เรื่อง คือ

6.1 เมธัส เงินจันทร์ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตในปลาหนังลูกผสม.การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ครั้งที่ 3 วันที่ 23 พย 2555.

6.2 ดวงพร อมรเลิศพิศาล เมธัส เงินจันทร์ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และชุติมา ศรีมะเริง. 2558. สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชั่นของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. (in press)

6.3 ChutimaSrimaroeng, AtcharapornOntawong, NaruwanSaowakon, PornpunVivithanaporn, AnchaleePongchaidecha, DoungpornAmornlerdpison, SunhapasSoodvilai, and VaranujChatsudthipong. 2015. Antidiabetic and Renoprotective Effects of CladophoraglomerataKützing Extract in Experimental Type 2 Diabetic Rats: A Potential Nutraceutical Product for Diabetic Nephropathy. Journal of Diabetic Research Volume 2015 Article ID 320167, 15 pages, http://dx.doi.org/10.1155/2015/320167

เอกสารอ้างอิง

การส่งออกปลาน้ำจืดของไทยปี 2545 - 2553. จากกองประมงต่างประเทศ. 2554. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.fisheries.go.th/foreign/index.php?option com. content&viewcategory&id16&Itemid14. (7 ตุลาคม 2554).

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน จิตรลดา สอนตะโก และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ปลาหนังกลุ่ม Pangasiusและการอนุบาลลูกปลาหนัง 4 สายพันธุ์ในกระชัง.**วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 5 (2), 12-26.

เกรียงศักดิ์เม่งอำพัน ดวงพร อมรเลิศพิศาล สุดาพร ตงศิริ ชนกันต์ จิตมนัส วิวัฒน์ หวังเจริญ และธนนันท์ศุภกิจจานนท์.2555. **คู่มือการเลี้ยงปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม(บึกสยาม)เพื่อเพิ่มมูลค่า**. 35หน้า.

ดวงพร อมรเลิศพิศาล เกรียงศักดิ์เม่งอำพัน ชุติมา ศรีมะเริง. 2556. รายงานผลการวิจัย เรื่อง "การเพิ่มมูลค่าปลาหนังลูกผสมด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไก" สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) 30หน้า.

ธีระวัฒน์ รัตนพจน์, เกรียงศักดิ์เม่งอำพัน, ชุติมา ศรีมะเริง, รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผลการเสริมสาหร่ายเตาต่อการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**6 (2):23-34.

ยุวดี พีรพรพิศาล.2550. **สาหร่ายไกความรู้ทั่วไปและการแปรรูปอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โชตนาพริ้นจำกัด.จังหวัดเชียงใหม่. 50หน้า.

ยุวดี พีรพรพิศาล ฐิติกานต์ ปัญโญใหญ่ ดวงพร อมรเลิศพิศาล 2555. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของสาหร่ายเตา. **วารสารวิทยาศาสตร์ มข.** 40 (1), 228-235.

ยุวดี พีรพรพิศาล ดวงพร อมรเลิศพิศาล ดวงตา กาญจณ โพธิ์ ธวัช แต้โสถิกุล ญาณีพงษ์ไพบูลย์ และสุดาพร ตงศิริ. 2552. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการ "ศักยภาพของสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเวชสำอาง" สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) 62 หน้า.

รัตนาภรณ์จันทร์ทิพย์,ฐิติพรรณฉิมสุข,อรุณีคงดีและดวงพรอมรเลิศพิศาล.2555.พฤกษเคมีและผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายเตา (*spirogyra* sp.).**วารสารการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ครั้งที่ 3**8: 15-22.

ศรีวรรณไชยสุขและประเสริฐไวยะกา.2544.**รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการการศึกษาระบบนิเวศของไก**.กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.64น.

โอภาวัชระคุปต์ปรีชา บุญจง จันทนาบุณยรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549.**Radical scavenging Agents สารต้านอนุมูลอิสระ.**กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้น.200 น.

Amornlerdpison, D., Mengumphan, K., Thumvijit, S. and Peerapornpisal, Y. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of freshwater Macroalga ,*Cladophoraglomerata*Kützing. **Thai Journal of Agricultural Science** 44(5): 283-291.

Amornlerdpison, D., Peerapornpisal, Y., Rujjanawate, C., Taesotikul, T., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D.2007.Antioxidant activity of *Padinaminor*Yamada.**KMITL Science and Technology Journal 7** (S1): 1-7.

Amornlerdpison, D., Peerapornpisal, Y., Taesotikul, T., Utan J., Nualchareon, M., Kanjanapothi, D. 2008.Antioxidant activity of *Sargassumpolysystum*C.Agardh.**Journal of Fisheries Technology Research 2** (2): 96-103.

Anbarasu Kumar.2011.Antioxidant and lipid peroxidation activities in rats fed with Aspergilluscarbonarius carotenoid.**Journal ofFood and Chemical Toxicology**49: 3098-3103.

Chiang Mai: Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University.176 p.

Halliwell, B., Gutteridge, JMC., Cross CE. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now.**Journal of Laboratory and Clinical Medicine** 119: 598-620.

Li, B., Howe, L., Anderson, S., Yates, J.R., 3rd, and Workman, J.L.2003. The Set2 histone methyltransferase functions through thephosphorylated carboxyl-terminal domain of RNA polymerase II.**Journal of Biological Chemistry**. 278: 8897-8903.

Mengumphan, K. 2008.**The PlaBuk Aquaculture for Sustainable Utilization.**

Mengumphan, K., Sorntako, J., Amornlerdpison, D. 2011.Effect of Spirulina supplement on the growth and maturation of Pangasius Catfish brood stock and the nursery performance of four species of their fingerlings.**JournalofFisheries Technology Research**5 (2):12-25.

Peerapornpisal, Y., Amornlerdpison, D., Rujjanawate, C., Ruangrit, K. and Kanjanapothi, D. 2006. Two endemic species of macroalgae in Nan river, Northern Thailand, as therapeutic agents.**Science Asia 32 Supplement** 1: 71-76.

Peerapornpisal, Y.,Amornlerdpison D., Jamjai U, Taesotikul T., Pongpaibul Y., Nualchareon M. and Kanjanapothi D. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of brown marine alga, *PadinaminorYamada*. **Chiang Mai Journal of Science** 37(3):507-516

Quanbin Zhang , Ning Li , Gefei Zhou , Xiaolan Lu , ZuhongXu , Zhien Li. 2003.In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from Porphyrahaitanesis (Rhodephyta) in aging mice.**Pharmacological Research** 48: 151-155.

Re R, Pellegrini N, PannalaA,Yang M, Rice-Evan C. 1999. Antioxidant activity applying an improve ABTS radical cationdecolorisation assay. **Free Radical Biology and Medicine6**(9/10): 1231-7.

Shapoval.,Gromovaia. 2003. Mechanism of antioxidant protection of an organism from oxidative stress. **Journal Articles** 75:5-13.

Vajraguta, O., Boonchoong, P., Boonyarut, J., Utsintong, M. 2007. **Radical Scavenging Agents**.Bankkok:Newthaimit press 280 p.

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N. P. E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: **A review. Envirol Toxic Pharm**13: 57–149.

Velioglu, Y.S., Mazza, G. Gao, L. and Oomah, B.D. 1998.Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products.**Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46: 4113-4117.

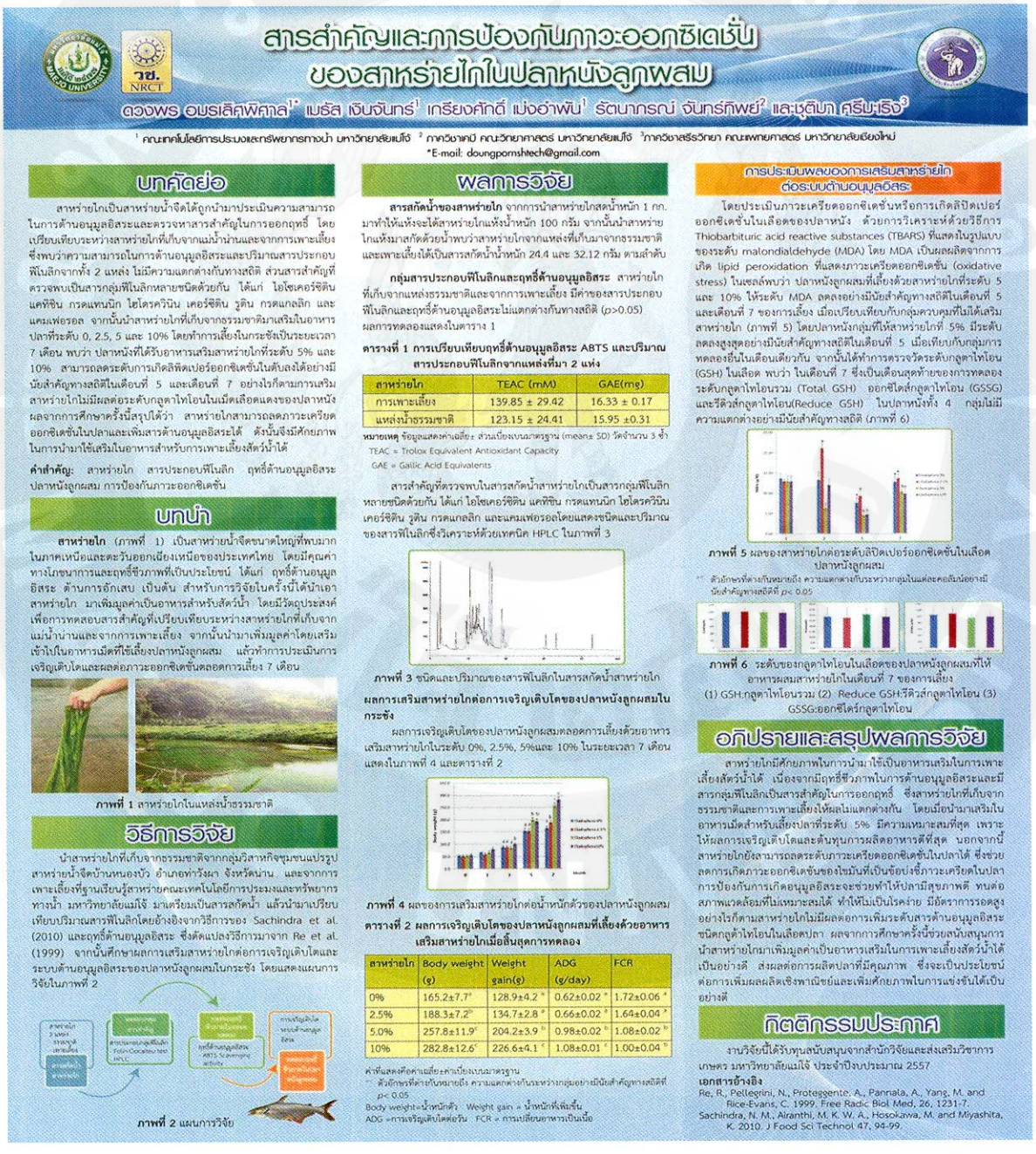
Wu LC., Ho J.,Shieh MC, Lu I. 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts.**Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53: 4207-4212.

Yonar, M.E., Sakin, F., 2011.Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in Cyprinuscarpio during pyrethroiddeltamethrin exposure.**Pesticide Biochemistry and Physiology.** 99: 226-231.

ภาคผนวก

การเผยแพร่ผลงานวิชาการ

1. แบบโปสเตอร์ poster presentation เรื่อง สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชั่นของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม โดย ผศ.ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล ในงานประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 7 วันที่ 25-27มีนาคม 2558 รร.นารายณ์ กทม.



สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น ของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม

ดวงพร อมรเลิศพิศาล[1*] เมธัส เงินจันทร์[1] เกรียงศักดิ์ แม่งอำพัน[1] รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์[2] และชุติมา ศรีมะเริง[3]

[1] คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ [2] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ [3]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
*E-mail: doungpomshtech@gmail.com

บทคัดย่อ

สาหร่ายไกเป็นสาหร่ายน้ำจืดได้ถูกนำมาประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและตรวจหาสารสำคัญในการออกฤทธิ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างสาหร่ายไกที่เก็บจากแม่น้ำน่านและจากการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีโนลิกจากทั้ง 2 แหล่ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสำคัญที่ตรวจพบเป็นสารกลุ่มฟีโนลิกหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ ไฮโซเคอร์ซิติน แคทีชิน กรดแทนนิก ไฮโดรควินิน เคอร์ซิติน รูติน กรดแกลลิก และแคมเฟอรอล จากนั้นนำสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติมาเสริมในอาหารปลาที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10% โดยทำการเลี้ยงในกระชังเป็นระยะเวลา 7 เดือน พบว่า ปลาหนังที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกที่ระดับ 5% และ 10% สามารถลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 อย่างไรก็ตามการเสริมสาหร่ายไกไม่มีผลต่อระดับกลูตาไทโอนในเม็ดเลือดแดงของปลาหนัง ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สาหร่ายไกสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นจึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เสริมในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

คำสำคัญ: สาหร่ายไก สารประกอบฟีโนลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปลาหนังลูกผสม การป้องกันภาวะออกซิเดชั่น

บทนำ

สาหร่ายไก (ภาพที่ 1) เป็นสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ที่พบมากในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยมีคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ เป็นต้น สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ได้นำเอาสาหร่ายไก มาเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารสำหรับสัตว์น้ำ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการทดสอบสารสำคัญที่เปรียบเทียบระหว่างสาหร่ายไกที่เก็บจากแม่น้ำน่านและจากการเพาะเลี้ยง จากนั้นนำมาเพิ่มมูลค่าโดยเสริมเข้าไปในอาหารเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลาหนังลูกผสม แล้วทำการประเมินการเจริญเติบโตและผลต่อภาวะออกซิเดชั่นตลอดการเลี้ยง 7 เดือน

ภาพที่ 1 สาหร่ายไกในแหล่งน้ำธรรมชาติ

วิธีการวิจัย

นำสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนแปรรูปสาหร่ายน้ำจืดบ้านหนองบัว อำเภอท่าวังผา จังหวัดน่าน และจากการเพาะเลี้ยงที่ฐานเรียนรู้สาหร่ายคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ มาเตรียมเป็นสารสกัดน้ำ แล้วนำมาเปรียบเทียบปริมาณสารฟีโนลิกโดยอ้างอิงจากวิธีการของ Sachindra et al. (2010) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งดัดแปลงวิธีการมาจาก Re et al. (1999) จากนั้นศึกษาผลการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตและระบบต้านอนุมูลอิสระของปลาหนังลูกผสมในกระชัง โดยแสดงแผนการวิจัยในภาพที่ 2

ภาพที่ 2 แผนการวิจัย

ผลการวิจัย

สารสกัดน้ำของสาหร่ายไก จากการนำสาหร่ายไกสดน้ำหนัก 1 กก. มาทำให้แห้งจะได้สาหร่ายไกแห้งน้ำหนัก 100 กรัม จากนั้นนำสาหร่ายไกแห้งมาสกัดด้วยน้ำพบว่าสาหร่ายไกจากแหล่งที่เก็บมาจากธรรมชาติและเพาะเลี้ยงได้เป็นสารสกัดน้ำน้ำหนัก 24.4 และ 32.12 กรัม ตามลำดับ

กลุ่มสารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สาหร่ายไกที่เก็บจากแหล่งธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยง มีค่าของสารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการทดลองแสดงในตาราง 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS และปริมาณสารประกอบฟีโนลิกจากแหล่งที่มา 2 แห่ง

สาหร่ายไก	TEAC (mM)	GAE(mg)
การเพาะเลี้ยง	139.85 ± 29.42	16.33 ± 0.17
แหล่งน้ำธรรมชาติ	123.15 ± 24.41	15.95 ±0.31

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean± SD) วัดจำนวน 3 ซ้ำ
TEAC = Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
GAE = Gallic Acid Equivalents

สารสำคัญที่ตรวจพบในสารสกัดน้ำสาหร่ายไกเป็นสารกลุ่มฟีโนลิกหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ ไฮโซเคอร์ซิติน แคทีชิน กรดแทนนิก ไฮโดรควินิน เคอร์ซิติน รูติน กรดแกลลิก และแคมเฟอรอลโดยแสดงชนิดและปริมาณของสารฟีโนลิกซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ในภาพที่ 3

ภาพที่ 3 ชนิดและปริมาณของสารฟีโนลิกในสารสกัดน้ำสาหร่ายไก

ผลการเสริมสาหร่ายไกต่อการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมในกระชัง

ผลการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมตลอดการเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไกในระดับ 0%, 2.5%, 5%และ 10% ในระยะเวลา 7 เดือน แสดงในภาพที่ 4 และตารางที่ 2

ภาพที่ 4 ผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อน้ำหนักตัวของปลาหนังลูกผสม

ตารางที่ 2 ผลการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสาหร่ายไกเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

สาหร่ายไก	Body weight (g)	Weight gain(g)	ADG (g/day)	FCR
0%	165.2±7.7[a]	128.9±4.2 [a]	0.62±0.02 [a]	1.72±0.06 [a]
2.5%	188.3±7.2[b]	134.7±2.8 [a]	0.66±0.02 [a]	1.64±0.04 [a]
5.0%	257.8±11.9[c]	204.2±3.9 [b]	0.98±0.02 [b]	1.08±0.02 [b]
10%	282.8±12.6[c]	226.6±4.1 [c]	1.08±0.01 [c]	1.00±0.04 [b]

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$
Body weight=น้ำหนักตัว Weight gain = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น
ADG =การเจริญเติบโตต่อวัน FCR = การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

การประเมินผลของการเสริมสาหร่ายไกต่อระบบต้านอนุมูลอิสระ

โดยประเมินภาวะเครียดออกซิเดชั่นหรือการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดของปลาหนัง ด้วยการวิเคราะห์ด้วยวิธีการ Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ที่แสดงในรูปแบบของระดับ malondialdehyde (MDA) โดย MDA เป็นผลผลิตจากการเกิด lipid peroxidation ที่แสดงภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) ในเซลล์พบว่า ปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยสาหร่ายไกที่ระดับ 5 และ 10% ให้ระดับ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 ของการเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมสาหร่ายไก (ภาพที่ 5) โดยปลาหนังกลุ่มที่ให้สาหร่ายไกที่ 5% มีระดับลดลงสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นในเดือนเดียวกัน จากนั้นได้ทำการตรวจวัดระดับกลูตาไทโอน (GSH) ในเลือด พบว่า ในเดือนที่ 7 ซึ่งเป็นเดือนสุดท้ายของการทดลองระดับกลูตาไทโอนรวม (Total GSH) ออกซิไดส์กลูตาไทโอน (GSSG) และรีดิวส์กลูตาไทโอน(Reduce GSH) ในปลาหนังทั้ง 4 กลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 5 ผลของสาหร่ายไกต่อระดับลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเลือดปลาหนังลูกผสม

ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

ภาพที่ 6 ระดับของกลูตาไทโอนในเลือดของปลาหนังลูกผสมที่ให้อาหารผสมสาหร่ายไกในเดือนที่ 7 ของการเลี้ยง
(1) GSH:กลูตาไทโอนรวม (2) Reduce GSH:รีดิวส์กลูตาไทโอน (3) GSSG:ออกซิไดร์กลูตาไทโอน

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

สาหร่ายไกมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ เนื่องจากมีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระและมีสารกลุ่มฟีโนลิกเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ ซึ่งสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยเมื่อนำมาเสริมในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาที่ระดับ 5% มีความเหมาะสมที่สุด เพราะให้ผลการเจริญเติบโตและต้นทุนการผลิตอาหารดีที่สุด นอกจากนี้สาหร่ายไกยังสามารถลดระดับภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาได้ ซึ่งช่วยลดการเกิดภาวะออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็นข้อบ่งชี้ภาวะเครียดในปลา การป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจะช่วยทำให้ปลามีสุขภาพดี ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ ทำให้ไม่เป็นโรคง่าย มีอัตราการรอดสูง อย่างไรก็ตามสาหร่ายไกไม่มีผลต่อการเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดกลูต้าไทโอนในเลือดปลา ผลจากการศึกษาครั้งนี้ช่วยสนับสนุนการนำสาหร่ายไกมาเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้เป็นอย่างดี ส่งผลต่อการผลิตปลาที่มีคุณภาพ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันได้เป็นอย่างดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2557

เอกสารอ้างอิง

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Free Radic Biol Med, 26, 1231-7.
Sachindra, N. M., Airanthi, M. K. W. A., Hosokawa, M. and Miyashita, K. 2010. J Food Sci Technol 47, 94-99.

2.ผลงานตีพิมพ์ในวารสาร2 เรื่อง คือ

2.1 ดวงพร อมรเลิศพิศาล เมธัส เงินจันทร์ เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน รัตนาภรณ์ จันทร์ทิพย์ และชุติมา ศรีมะเริง. 2558. สารสำคัญและการป้องกันภาวะออกซิเดชั่นของสาหร่ายไกในปลาหนังลูกผสม. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. (รอการตอบรับการตีพิมพ์)

บทคัดย่อ

สาหร่ายไกเป็นสาหร่ายน้ำจืดได้ถูกนำมาประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและตรวจหาสารสำคัญในการออกฤทธิ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างสาหร่ายไกที่เก็บจากแม่น้ำน่านและจากการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีโนลิกจากทั้ง 2 แหล่ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสำคัญที่ตรวจพบเป็นสารกลุ่มฟีโนลิกหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ ไอโซเคอร์ซิตินแคทิชิน กรดแทนนิก ไฮโดรควินิน เคอร์ซิติน รูติน กรดแกลลิก และแคมเฟอรอล จากนั้นนำสาหร่ายไกที่เก็บจากธรรมชาติมาเสริมในอาหารปลาที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 10% โดยทำการเลี้ยงในกระชังเป็นระยะเวลา 7 เดือน พบว่า ปลาหนังที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายไกที่ระดับ 5% และ 10% สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตได้ดี โดยมีผลลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 อย่างไรก็ตามการเสริมสาหร่ายไกไม่มีผลต่อระดับกลูตาไทโอนในเม็ดเลือดแดงของปลาหนัง ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สาหร่ายไกสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นจึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เสริมในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

คำสำคัญ: สาหร่ายไก สารประกอบฟีโนลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปลาหนังลูกผสม การป้องกันภาวะออกซิเดชั่น

2 . 2 ChutimaSrimaroeng, AtcharapornOntawong, NaruwanSaowakon, PornpunVivithanaporn, AnchaleePongchaidecha, DoungpornAmornlerdpison, SunhapasSoodvilai, and VaranujChatsudthipong. 2015. Antidiabetic and Renoprotective Effects of CladophoraglomerataKützing Extract in Experimental Type 2 Diabetic Rats: A Potential Nutraceutical Product for Diabetic Nephropathy. Journal of Diabetic Research Volume 2015

Article ID 320167, 15 pages, http://dx.doi.org/10.1155/2015/320167

Hindawi Publishing Corporation
Journal of Diabetes Research
Volume 2015, Article ID 320167, 15 pages
http://dx.doi.org/10.1155/2015/320167

Research Article

Antidiabetic and Renoprotective Effects of *Cladophora glomerata* Kützing Extract in Experimental Type 2 Diabetic Rats: A Potential Nutraceutical Product for Diabetic Nephropathy

Chutima Srimaroeng,[1] Atcharaporn Ontawong,[1,2] Naruwan Saowakon,[3] Pornpun Vivithanaporn,[4] Anchalee Pongchaidecha,[1] Doungporn Amornlerdpison,[5] Sunhapas Soodvilai,[6] and Varanuj Chatsudthipong[6]

[1]*Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*
[2]*Division of Physiology, School of Medical Sciences, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand*
[3]*School of Anatomy, Institute of Science, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand*
[4]*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand*
[5]*Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand*
[6]*Department of Physiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand*

Correspondence should be addressed to Chutima Srimaroeng; chutima.srimaroeng@cmu.ac.th

Received 26 November 2014; Revised 2 February 2015; Accepted 26 February 2015

Academic Editor: Lucy Marzban

Copyright © 2015 Chutima Srimaroeng et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cladophora glomerata extract (CGE) has been shown to exhibit antigastric ulcer, anti-inflammatory, analgesic, hypotensive, and antioxidant activities. The present study investigated antidiabetic and renoprotective effects of CGE in type 2 diabetes mellitus (T2DM) rats. The rats were induced by high-fat diet and streptozotocin and supplemented daily with 1 g/kg BW of CGE for 12 weeks. The renal transport function was assessed by the uptake of *para*-aminohippurate mediated organic anion transporters 1 (Oat1) and 3 (Oat3), using renal cortical slices. These two transporters were known to be upregulated by insulin and PKCζ while they were downregulated by PKCα activation. Compared to T2DM, CGE supplemented rats had significantly improved hyperglycaemia, hypertriglyceridemia, insulin resistance, and renal morphology. The baseline uptake of *para*-aminohippurate was not different among experimental groups and was correlated with Oat1 and 3 mRNA expressions. Nevertheless, while insulin-stimulated Oat1 and 3 functions in renal slices were blunted in T2DM rats, they were improved by CGE supplementation. The mechanism of CGE-restored insulin-stimulated Oat1 and 3 functions was clearly shown to be associated with upregulated PKCζ and downregulated PKCα expressions and activations. These findings indicate that CGE has antidiabetic effect and suggest it may prevent diabetic nephropathy through PKCs in a T2DM rat model.