สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รายงานวิจัยงบประมาณแผ่นดินปี พ.ศ. 2540
เรื่อง

การผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า-3 เพื่อใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ

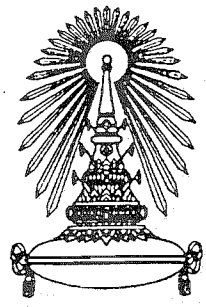
(Produce of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Containing Lecithins for Increasing *Penaeus Monodon* Production)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.วินัย ตะห์ลัน

ทส
ส3 15
009600

ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กันยายน 2541



สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รายงานวิจัยงบประมาณแผ่นดินปี พ.ศ. 2540
เรื่อง

การผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า-3 เพื่อใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ

(Produce of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Containing Lecithins for Increasing *Penaeus Monodon* Production)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.วินัย ดะห์ลัน

ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
กันยายน 2541

I18343835

การผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า-3 เพื่อใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ

(Produce of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Containing Lecithins for Increasing *Penaeus Monodon* Production)

รายชื่อคณะผู้ทำวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

รศ.ดร.วินัย ดะห์ลัน — ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวหน้าโครงการวิจัยร่วม

รศ.ดร.สมเกียรติ ปียะธีรธิติวรกุล — สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ร่วมวิจัย

น.ส.พิมพ์พร อินนพคุณ — หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น.ส.สุพันธิตรา ชาญประเสริฐ — หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น.ส.โสภณา จาตนิลพันธ์ — หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่ ๓๗๕ ส๖ 15
เลขทะเบียน 009600
วัน,เดือน,ปี 19 เม.ย. 42

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้ดำเนินการในสามหน่วยงานของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การเพาะเลี้ยงและการจัดเตรียมอาหารเลี้ยงทำที่หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ และสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ งานด้านชีวเคมีและการวิเคราะห์ทำขึ้นที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน และหน่วยวิจัยชีวเคมีลิพิด คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

งานวิจัยสำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยการทุ่มเทใส่ใจด้วยความรับผิดชอบสูงของนิสิตสามคนในระดับปริญญามหาบัณฑิตสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งนับเป็นผู้ร่วมในงานวิจัยชิ้นนี้ งานการศึกษา จัดเตรียมและวิเคราะห์คุณสมบัติของเลซิทิน ทำโดย น.ส. โสภณา จาตนิลพันธุ์ น.ส.สุพันธิตรา ชาญประเสริฐ และน.ส.พิมพ์พร อินนพคุณ งานในส่วนการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำทำโดย น.ส.พิมพ์พร อินนพคุณ

นิสิตระดับปริญญาตรีหลักสูตรเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่ นายพงษ์พันธ์ ราชจำเริญ น.ส.พรสิริ วรรณดิลก น.ส.สุชชนา แทบประสิทธิ์ น.ส.สุวาณี อรุณกาญจนา และนายสมคิด จารุวัฒนวงศ์ ช่วยงานวิเคราะห์ทางชีวเคมีบางส่วน

อาจารย์ ดร.อรวรรณ ภู่ชัยวัฒนานนท์ แห่งภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ช่วยเหลือดูแลการปฏิบัติงานของนิสิตทุกคน

งานวิจัยเรื่องนี้ดำเนินไปได้ด้วยงบประมาณแผ่นดินปี พ.ศ.2540 ผ่านสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยผู้อำนวยการสถาบันคือ ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต รวมถึงผู้บริหารและเจ้าหน้าที่ของสถาบันให้การช่วยเหลือสนับสนุนมาโดยตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยฝ่ายวิจัยให้การสนับสนุนเงินทุนบางส่วนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของการจัดตั้งศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์

บุคคลและหน่วยงานที่เอ่ยนามและที่ยังมิได้เอ่ยนามอีกบางส่วนต่างมีส่วนเกี่ยวข้องกับความสำเร็จของโครงการวิจัยชิ้นนี้โดยถ้วนทั่ว คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างยิ่งมา ณ ที่นี้

คณะผู้ทำวิจัย

กันยายน 2541

การผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า-3 เพื่อใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ (*Penaeus Monodon*)

รศ.ดร.วินัย ดะห์ลัน[1], *รศ.ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล*[2], *น.ส.พิมพ์พร อินนพคุณ*[3], *น.ส.สุพันธิตรา ชาญประเสริฐ*[1,3] *และ น.ส.โสภณา จาตนิลพันธ์*[3]

[1]ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ [2]สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำและภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ และ [3]หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การผลิตปลาป่นและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำของไทยมีมูลค่าลดลงติดต่อกันหลายปี การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าปลาป่นโดยใช้เป็นแหล่งผลิตเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูง จากนั้นนำ เลซิทินดังกล่าวไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนเพื่อตรวจสอบว่าจะสามารถใช้เพิ่มผลผลิตกุ้งและ/หรือเพิ่มการสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 ในเนื้อเยื่อกุ้งได้หรือไม่เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มแก่กุ้งกุลาดำอีกทางหนึ่ง การศึกษาวิจัยทำโดยเปรียบเทียบผลกับเลซิทินจากถั่วเหลือง การพัฒนาเทคนิคการสกัดเลซิทินจากปลาป่นพบว่าการใช้สารละลายอินทรีย์สามชนิดคือ acetone, n-hexane และ alcohol จะให้ผลต่อการสกัดเลซิทินได้ดี โดยพบว่า methanol สามารถสกัดเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง docosahexaenoic acid (DHA) ได้มากกว่าการใช้ ethanol ปลาป่นไทยเกรด 3 ถูกใช้เป็นตัวแทนของปลาป่นไทยเนื่องจากมีองค์ประกอบของ DHA สูงกว่าปลาป่นเกรด 1, 2 และ 4 การศึกษาพบว่าเลซิทินที่สกัดจากปลาป่นนอกและปลาป่นไทยมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูงขณะที่เลซิทินสกัดจากถั่วเหลืองมีกรดไขมันโอเมก้า 6 สูง นำเลซิทินจากปลาป่นนอก ปลาป่นไทยและจากถั่วเหลืองผสมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนให้มีปริมาณเลซิทิน 1.5 % เลี้ยงกุ้งด้วยอาหารทั้ง 3 ชนิดเปรียบเทียบผลกับอาหารควบคุมที่ไม่เติมเลซิทิน ผลจากการวิจัยที่ความเค็ม 25 และ 30 ppt กุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมเลซิทินจากถั่วเหลืองมีอัตราการเจริญสูงกว่าทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตามที่ความเค็ม 30 ppt กุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมเลซิทินจากปลาป่นไทยมีการเจริญเติบโตดีเช่นกัน อัตราการรอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ แต่พบว่ากุ้งกลุ่มที่ได้รับเลซิทินมีความสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ดีกว่ากุ้งกลุ่มที่ไม่ได้รับเลซิทิน และกุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมเลซิทินจากปลาป่นไทยสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มโอเมก้า 3 ไว้ในตัวกุ้งมากที่สุด

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำสำคัญประเทศหนึ่ง มีเรือประมงที่จดทะเบียนทั่วประเทศกว่า 40,000 ลำ มีแรงงานอยู่ในภาคการประมงถึง 2 แสนคน ในปี 2537 มีรายงานว่าประเทศไทยได้รับรายได้ถึง 1 แสนล้านบาทจากการส่งออกสัตว์ทะเลและผลิตภัณฑ์ซึ่งในขณะนั้นถือได้ว่าประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์ชนิดนี้เป็นอันดับหนึ่งของโลก อย่างไรก็ตาม เกษตรกรรมและอุตสาหกรรมทางการประมงของประเทศไทยเริ่มประสบปัญหาเนื่องจากอุปสรรคใหญ่อย่างน้อยสองประการคือความเสื่อมโทรมของทรัพยากรที่นับวันจะยิ่งมีปริมาณลดน้อยลงประการหนึ่งและต้นทุนการผลิตที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นอีกประการหนึ่ง

ในบรรดาปัญหาทางการประมง การผลิตทรัพยากรสัตว์น้ำหน้าดินนับเป็นปัญหาใหญ่ปัญหาหนึ่ง ทั้งนี้จากข้อมูลกรมประมง ปี พ.ศ. 2538 ชาวประมงไทยผลิตสัตว์น้ำหน้าดินสูงเกินกว่าศักยภาพสูงสุดที่ประเมินได้ถึงร้อยละ 22.2 และมีจำนวนชั่วโมงการลากอวนจับสัตว์น้ำหน้าดินหรือการจับปลาชายฝั่งจนถึงระดับความลึก 50 เมตร สูงเกินกว่าอัตราที่เหมาะสมถึงร้อยละ 82 การปล่อยให้สภาพเช่นนี้ดำรงอยู่จะทำให้ประเทศไทยขาดรายได้จากทรัพยากรประมง หนึ่งในหนทางการแก้ไขปัญหาคือการลดการจับสัตว์น้ำหน้าดินโดยเพิ่มมูลค่าทรัพยากรในกลุ่มนี้ให้สูงขึ้นเพื่อเพิ่มรายได้ทดแทนส่วนที่ลดลง

ปลาป่นเป็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำหน้าดินประเภทหนึ่งที่ประเทศไทยผลิตได้ในปริมาณสูง แต่มีมูลค่าทางด้านราคาค่อนข้างต่ำ ผลิตภัณฑ์ปลาป่นเกือบทั้งหมดถูกนำไปใช้ในด้านเกษตรกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและปศุสัตว์ ซึ่งนับวันความต้องการปลาป่นของประเทศจะยิ่งทวีสูงขึ้นจนคาดการณ์กันว่าจะเกิดการขาดแคลนในไม่ช้า คุณค่าของปลาป่นพิจารณาได้จากปริมาณโปรตีนทั้งนี้เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการใช้ปลาป่นในอาหารสัตว์ก็เพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนและกรดอะมิโนที่มีคุณภาพสูง อย่างไรก็ตาม คุณค่าหนึ่งของปลาป่นที่ถูกมองข้ามไปเสมอคือปลาป่นเป็นปลาจากทะเลที่มีไขมันคุณภาพสูง มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า 3 (omega 3 highly-polyunsaturated fatty acids หรือ n-3 HUFA) ในสัดส่วนที่สูง กรดไขมันทรงคุณค่ากลุ่มนี้พบได้น้อยในอาหารชนิดอื่น (Dahlan et al., 1996) มีการศึกษาวิจัยยืนยันว่ากรดไขมันกลุ่มนี้ให้ผลดีต่อการเริญเติบโตของสัตว์น้ำและปศุสัตว์ (Kanazawa et al., 1978; 1979d) การแยกกรดไขมันกลุ่มนี้ออกจากปลาป่นและนำไปใช้ในงานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงเป็นหนทางหนึ่งในการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผลิตภัณฑ์

นอกเหนือจาก n-3 HUFA แล้ว ปลาป่นยังมีปริมาณเลซิทิน (lecithin) ในปริมาณไม่น้อย เลซิทินเป็นสารอาหารไขมันอีกตัวหนึ่งที่ช่วยในการเจริญเติบโตของปศุสัตว์ เลซิทินจากไขมันปลามี

คุณภาพพิเศษกว่าเลซิทินในกลุ่มอื่นเนื่องจากมีกรดไขมัน n-3 HUFA เป็นองค์ประกอบ เลซิทินลักษณะนี้ไม่พบในวัตถุดิบอื่น (Dahlan et al., 1996) เลซิทินจากปลาทะเลจึงเป็นแหล่งของสารอาหารที่ทรงคุณค่าถึงสองทาง คือให้สารโคลีน (choline) และอิโนซิทอล (inositol) ในปริมาณมาก ทั้งยังให้กรดไขมัน n-3 HUFA ชนิด eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3) หรือ EPA และ docosahexaenoic acid (C22:6 n-3) หรือ DHA คุณค่าที่เสริมกันเช่นนี้หากนำมาใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงจะเป็นผลดีต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและปศุสัตว์

เลซิทินเป็นสารไขมันที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์ เป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อบุหรือเมมเบรนของเซลล์ (plasma membrane) และเยื่อบุออร์กาเนลต่างๆ มีการนำเลซิทินไปใช้เป็นส่วนผสมของอาหารเพาะเลี้ยงกันอย่างกว้างขวาง ในกรณีของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเลซิทินได้รับการยอมรับว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ (*Panaeus monodon*) ทั้งยังมีส่วนช่วยสร้างความแข็งแรงและเพิ่มคุณภาพของกุ้งกุลาดำได้ (Camara, 1994; Paibulkitchakul, 1996) มีรายงานว่า EPA และ DHA สามารถเพิ่มอัตรารอดและการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำได้นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความทนทานของกุ้งต่อภาวะเครียดได้อีกทางหนึ่ง (D'Abramo et al., 1981; Teshima et al., 1982; Kanazawa, 1982, 1985; Briggs et al., 1988; Chen and Jenn, 1991; Ree et al., 1994) การเพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำโดยใช้เลซิทินจากปลาป่นน่าจะเป็นหนทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ และหากพบว่าหากเลซิทินที่มี 3 n-3 HUFA หรือ n-3 HUFA อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างสามารถสะสมได้ในเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำที่เพาะเลี้ยงด้วยวิธีนี้จะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่กุ้งกุลาดำได้อีกทางหนึ่ง ทั้งนี้เนื่องจากมีการค้นพบมาเป็นเวลานานแล้วว่าหากกรดไขมันกลุ่มนี้ปรากฏในอาหารที่มนุษย์รับประทาน มันสามารถสะสมในร่างกายของมนุษย์และให้คุณค่าโดยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) การรับประทานอาหารที่มีปริมาณกรดไขมัน n-3 HUFA สูงจะช่วยทำให้เลือดเกิดลิ่มเลือดได้ยากขึ้น ทั้งยังทำให้การสร้างไขมันไตรกลีเซอไรด์ในตับลดลง ทั้งสองประการมีผลต่อการลดการสะสมไขมันบนผนังหลอดเลือดส่งผลให้อุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดลดลงในกลุ่มประชากรที่นิยมรับประทานอาหารทะเลที่มี n-3 HUFA ในปริมาณสูง (Simopoulos, 1991)

การนำเอาเลซิทินจากปลาป่นไปใช้ในเกษตรกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจึงนอกจากจะช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ปลาป่นแล้วยังเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำได้อีกทางหนึ่ง ถือเป็นการแก้ไขปัญหาทางด้านการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วย ในปี 2537 ซึ่งเป็นปีเดียวกับที่ประเทศไทยมีการส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้เป็นอันดับหนึ่ง ในปีนั้นประเทศไทยส่งออกกุ้งกุลาดำได้ถึง 250,000 เมตริกตัน สร้างรายได้เข้าประเทศกว่า 36,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตาม ปีต่อๆมาเกิดปัญหาทางด้านผลผลิตกุ้งกุลาดำ ในปี 2538 และ 2539 ผลผลิตกุ้งกุลาดำลดลงเหลือ 179,051 และ 148,735

เมตริกตันตามลำดับ (กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์ 2539) ทั้งนี้เนื่องจากประเทศไทยประสบกับปัญหาความเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อมและการแข่งขันสูงจากประเทศคู่แข่ง ปัญหาความเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ลุกลามจากชายฝั่งเข้าสู่พื้นที่ชั้นในโดยเฉพาะในเขตภาคกลางและภาคเหนือตอนล่างอันเป็นเขตน้ำจืดทำให้รัฐบาลไทยมีมติในปี 2541 ให้จำกัดการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำไว้เฉพาะเขตชายฝั่งเท่านั้น ปัญหาการจำกัดพื้นที่เพาะเลี้ยงเช่นนี้จะยิ่งส่งผลทำให้ผลผลิตกุ้งกุลาดำของประเทศไทยลดลงมากยิ่งขึ้น ดังนั้นเพื่อคงรายได้ให้แก่เกษตรกรเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำและรายได้ของประเทศ การสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผลิตภัณฑ์กุ้งกุลาดำจึงเป็นทางออกอีกทางหนึ่ง การเพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำในพื้นที่เพาะเลี้ยงเดิมตลอดจนการพัฒนากุ้งให้เป็นอาหารที่เป็นแหล่งใหม่ของกรดไขมัน n-3 HUFA นับเป็นเหตุผลของงานวิจัยที่ทำในครั้งนี้

การเพิ่มกรดไขมัน n-3 HUFA ในเนื้อกุ้งนั้น Kontara, Coutteau และ Sorgeloos (1997) ทำการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนของกุ้ง *Penaeus japonicus* ด้วยการให้อาหารที่มีการเสริม n-3 HUFA ในรูปของน้ำมันปลาซึ่งไขมันทั้งหมดอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) จากการทดลองพบว่าตัวอ่อนสามารถสะสมกรดไขมัน n-3 HUFA โดยเฉพาะอย่างยิ่ง EPA และ DHA ไว้ในเนื้อเยื่อได้ โดยพบอีกว่ากรดไขมันทั้งสองตัวไปปรากฏอยู่บนเลซิทินชนิด phosphatidylcholine (PC) และ phosphatidyl ethanolamine (PI) เลซิทินที่เกิดขึ้นใหม่เช่นนี้เป็นที่ทราบดีว่าสามารถช่วยขนส่งคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในระบบเลือดของสัตว์น้ำเหล่านี้ได้ (Teshima et al., 1986b) นอกจากนี้เลซิทินเหล่านี้ยังเป็นลิพิดตัวหลักที่ใช้ในการสร้างโครงสร้างของเมมเบรนซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเซลล์ (Dahlan, 1989) หน้าที่นอกเหนือจากนี้มีอีกหลายด้าน เป็นต้นว่า เลซิทินจากปลาป่นเป็นแหล่งที่ดีของสารโคลีน (choline) และกรดไขมัน DHA ซึ่งทั้งสองตัวสำคัญต่อการพัฒนาสมองรวมถึงการทำงานของระบบประสาท (Dahlan et al., 1996) เลซิทินกลุ่มนี้เมื่อนำมาเตรียมเป็นไลโปโซมหรืออิมัลชัน สามารถใช้เป็นตัวพากรดไขมัน n-3 HUFA จ่ายให้แก่ผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือดและเซลล์อื่นๆได้ อันส่งผลให้สมดุลของสารพรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) ในร่างกายอยู่ในภาวะที่เหมาะสมต่อการลดการเกิดลิ่มเลือดและลดการอักเสบต่างๆ (Dahlan et al., 1997a; 1997b; 1997c)

การนำเลซิทินก็ดี กรดไขมัน n-3 HUFA ก็ดีไปใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแม้จะเคยทำกันมาแล้วแต่ยังไม่มีนักวิจัยกลุ่มใดใช้เลซิทินที่มีกรดไขมัน n-3 HUFA เป็นองค์ประกอบในงานการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมาก่อน มีคำถามว่าหากมีการนำเอาเลซิทินที่มี n-3 HUFA ในปริมาณสูงไปใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยการเสริมลงในอาหารเลี้ยงตัวอ่อนของกุ้งทดแทนเลซิทินจากถั่วเหลืองที่ใช้กันโดยทั่วไป ตัวอ่อนของกุ้งที่เลี้ยงโดยเลซิทินชนิดใหม่นี้จะมีอัตรารอด การเจริญเติบโต การทนทานต่อความเครียด เปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ เช่นไร หากเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเสริม

เลซิทินจากถั่วเหลืองและอาหารที่ไม่เสริมเลซิทินแล้วจะแตกต่างกันหรือไม่ นอกจากนี้ยังมีคำถามอีกว่าการเตรียมเลซิทินจากปลาป่นจะใช้วิธีการอย่างไรเนื่องจากเลซิทินกลุ่มนี้มีกรดไขมันความยาวสูง จึงมีคุณสมบัติแตกต่างจากเลซิทินจากถั่วเหลือง

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของเลซิทินที่พบในปลาป่น
2. เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตเลซิทินและน้ำมันปลาจากปลาป่น
3. เพื่อศึกษาผลของเลซิทินจากปลาป่นในการเพิ่มผลผลิตกุ้งกุลาดำ โดยการตรวจสอบผลที่มีต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และการทนต่อความเครียดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน
4. เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มคุณภาพของกุ้งกุลาดำให้มีกรดไขมัน n-3 HUFA สูงขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พลสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เทคนิคและวิธีการวิจัย

การจัดเตรียมอุปกรณ์

การคัดเลือกวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้คือปลาป่นนำเข้าจากประเทศเดนมาร์ค (Danish fishmeal หรือ DFM) สั่งซื้อผ่านบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ และปลาป่นไทยหรือปลาป่นท้องถิ่น (Local fishmeal หรือ LFM) ซึ่งมีทั้งหมด 4 เกรด คือ 1-4 สั่งซื้อจากโรงงานเสรีบ้านเพ จังหวัดระยอง ปลาป่นทั้งหมดมีคุณสมบัติของสารอาหารจากการตรวจวิเคราะห์ทาง proximate analysis ซึ่งเป็นข้อมูลได้รับจากผู้ผลิต ดังนี้ ส่วนเลซิทินจากถั่วเหลือง ได้รับจากบริษัท Dazuka จำกัด

การจัดเตรียมสารเคมีและเครื่องแก้ว

สารเคมีและเครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลองอยู่ที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เครื่องแก้วที่สำคัญเช่น Borosilicate test tube เพื่อใช้ในการเตรียมวิเคราะห์กรดไขมันต้องทำการตรวจสอบก่อนว่าไม่รั่วหากเกิดรอยรั่วใดๆให้ทิ้งหรือระงับการใช้เครื่องแก้วเหล่านั้นทันที ทั้งนี้เนื่องจากรอยรั่วที่เกิดขึ้นจะทำให้การวิเคราะห์สัดส่วนของกรดไขมันเกิดปัญหาการสูญเสียไประหว่างการเตรียม methylation กรดไขมันแต่ละตัวมีจุดเดือดไม่เท่ากัน รอยรั่วอาจทำให้กรดไขมันสูญเสียออกไปอย่างไม่ได้สัดส่วนกัน เครื่องแก้วทุกชิ้นที่ใช้ในการทดลองในส่วนของศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมันผ่านการล้างด้วยกรดและชะล้างสองครั้งด้วยสารละลาย dichloromethane-methanol (2:1, v/v) และเป่าให้แห้งก่อนที่จะนำมาใช้ทุกครั้ง

สารเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารมาตรฐานของกรดไขมันและลิพิดทุกตัวเป็นสารเคมีจากบริษัท Sigma (St- Louis, MO, USA) กรดไขมันมาตรฐานที่ใช้อยู่ในสองรูปแบบคือกรดไขมันอิสระ (FA) และในรูปของเมธิลเอสเตอร์ (FAME) สารมาตรฐานอินเทอนัล (internal standard) ที่ใช้ในการทดลอง คือ C15, C17, C19, คอเลสเตอริลเอสเตอร์ชนิด C-15 (CE-C15), ไตรกลีเซอไรด์ชนิด C15 (TG-C15) ฟอสโฟลิปิดชนิด C15 (PL-C15) การเตรียมกรดไขมันทั้งในส่วนของกรดไขมันมาตรฐานในรูปของ C15, CE-C15, TG-C15, PL-C15 และในส่วนของกรดไขมันในตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph ต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปของเอสเตอร์โดย transesterification ใช้สาร acetylchloride เป็นตัวทำปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิคของ Lepage และ Roy (1984) สารละลายอินทรีย์ทุกตัวที่ใช้ในงานวิจัยจะผ่านกระบวนการกลั่นซ้ำเพื่อลดปัญหาของสารปนเปื้อนโดยกลั่นที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส โดยใช้ rotary evaporator ของ Buchi Labortechnik AG. Flawil ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ทำการเติมสารกันหืนได้แก่ BHT ในสาร

ละลายอินทรีย์ทุกตัวให้มีความเข้มข้นของ BHT ในสารละลายอินทรีย์ 5 mg/dl ในกรณีที่ใช้สารอินทรีย์นั้นในกระบวนการทั่วไป หากเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้ในงาน thin-layer chromatography (TLC) เติมให้ได้ความเข้มข้น 50 mg/dl (Philips and Dodge, 1967)

แผ่น TLC ที่ใช้ในงานวิเคราะห์ทุกแผ่นผ่านการทำความสะอาดก่อนโดยการแช่ในสารละลาย dichloromethane-methanol (2:1, v/v) ให้สารละลายชะสารปนเปื้อนที่อาจมีอยู่กระทั่งวิ่งขึ้นไปที่ขอบแผ่นจากนั้นจึงทำการชะออกโดยการแช่ปลายในสารละลาย dichloromethane-methanol ทำการล้างเช่นนี้สองครั้งก่อนที่จะอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสในเวลา 30 นาที จึงจะนำไปใช้ สารอินทรีย์บางชนิดเป็นอันตรายต่อสุขภาพในกรณีเช่นนี้ให้ใช้ toluene แทน benzene และใช้ dichloromethane แทน chloroform ซึ่งสารอินทรีย์ที่ถูกทดแทนทั้งสองชนิดจัดเป็นสารก่อมะเร็งจึงเลี่ยงการใช้

ตาราง 1. องค์ประกอบของสารอาหารหลัก ความชื้นและเถ้าโดยประมาณ

องค์ประกอบ	DFM	LFM			
		1	2	3	4
โปรตีน	64.55	69.52	68.58	63.20	60.16
ไขมัน	8.08	11.05	11.34	7.96	17.86
ความชื้น	7.52	6.39	4.12	8.32	7.16
เถ้า	15.60	14.98	13.14	17.86	19.85

ทำการวิเคราะห์สองครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ย หน่วยเป็น g/100 g

เครื่องมือวิทยาศาสตร์

เครื่องมือทุกชิ้นติดตั้งอยู่ที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่

1 . Gas Chromatograph 8000 series , Fisons Instruments, Italy

2. Rotary evaporator , model R –114 Buchi , Switzerland

3. Nitrogen evaporator / heater / stirring module , Pierce, IL, USA

4. Sandbath, Gerhardt, Bonn, Germany

5. Spectrophotometer UV –1201, Shimadzu, Tokyo, Japan

6. Vacuum system, model B –169 Buchi, Switzerland

7. Electronic balance with 3 digits, Scaltec SBA 41, Germany

8. Electronic balance with 4 digits, Mettler Toledo, Germany

9. Shaking water bath, model GFL 1083, GFL, Germany

10. Suction pump, model 809 N Kataspir, Medel Italiano, Parma, Italy

11. Centrifuge, Kokusan H 11 n series, Tokyo, Japan

12. Water bath, model 83, Thelco, Chicago, IL, USA

13. Hot air oven, Thelco, GCA / Precision Scientific Group, IL, USA

14. Suction pump, model 523-U4-G21DX, MI, USA

15. Ultra sonic bath, Decon FS 400 b, UK

16. Magnetic stirrer, model 815359, INK Laboratechnik, Germany

17. Farma Bio-freezer (Farma Scientific, Marietta, Ohio, USA.)

18. TLC plate scraping system (ประดิษฐ์ขึ้นเอง)

การตรวจสอบไขมันและเลซิทินในปลาป่น

การสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบ

ปลาป่นมีไขมันประมาณ 5-15% การสกัดไขมันโดยใช้หลักการของ Bligh และ Dryer (1959) ใช้ dichloromethane และ methanol เป็นสารละลายอินทรีย์หลัก ทำการอบปลาป่นที่ความร้อน 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาทีก่อนทำการสกัดทั้งนี้เพื่อทำลายเอนไซม์ที่อาจทำงานอยู่ภายในปลาป่น ทำการสกัดสามครั้งโดยเทคนิคเดียวกันเพื่อให้ได้ปริมาณไขมันออกมามากที่สุดโดยการสกัดปลาป่นครั้งแรกหนึ่งครั้ง ทำการกรองด้วยกระดาษกรองจากนั้นนำกากปลาป่นที่ได้จากการกรองมาทำการสกัดอีกสองครั้ง นำสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากการสกัดทั้งสามครั้งรวมเข้าด้วยกันแล้วระเหยสารละลายอินทรีย์ออกภายใต้สภาพความดันต่ำด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ความ

ร้อน 40 องศาเซลเซียส ไขมันที่ละลายอยู่ในสารละลายอินทรีย์จะเหลือค้างอยู่นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ ชั่งและบันทึกน้ำหนักทุกครั้ง ไขมันที่สกัดได้ด้วยเทคนิคนี้จัดให้เป็นไขมันทั้งหมด (total fat) ที่พบในปลาป่น การเก็บไขมันทำโดยการเก็บภายใต้ก๊าซไนโตรเจนที่ไร้อ็อกซิเจน (oxygen-free nitrogen) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสโดยใช้ตู้เย็น Farma Bio-freezer (Farma Scientific, Marietta, Ohio, USA.)

ไขมันที่สกัดได้นี้นำไปวิเคราะห์

1 . crude fat content โดยการชั่งน้ำหนักดังได้กล่าวแล้ว

2. class or profile of lipids โดยการนำไขมันไปแยกด้วยเทคนิค TLC ใช้สารละลายอินทรีย์ n-hexane-diethyl ether และ glacial acetic acid ตามเทคนิคมาตรฐาน (Dahlan 1989)

3. content and composition of fatty acids in: total fats; triglycerides (TG); phospholipids (PL) ทำภายหลังการแยกลิพิดด้วยเทคนิค TLC ขูด powder ของ silica ออกจากแผ่นโดยใช้ TLC scaping system holder ที่ประดิษฐ์ขึ้น ทำการเปลี่ยนกรดไขมันที่อยู่ในแต่ละ subclass ของลิพิดให้เป็น methyl esters (FAME) ของกรดไขมันอิสระ โดยใช้เทคนิคของ Lepage and Roy (1984) ใช้ acetylchloride จากนั้นวิเคราะห์ FAME โดยใช้ GLC

4. lecithin content วิเคราะห์ในรูปของ phosphorus content จากนั้นจึงคำนวณกลับเป็น PL หรือเลซิทิน การวิเคราะห์ทำโดยตรงจากไขมันที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคทางเคมี Fisk-Subbarow reagent reaction โดยเทคนิคของ Bartlette (1959) ที่ปรับปรุงขึ้นใหม่ (Dahlan 1989)

5. subclasses of PL ทำการวิเคราะห์โดยตรงจากไขมันที่สกัดได้โดยใช้เทคนิค two-dimensional TLC เริ่มต้นโดยการละลายไขมันด้วยสารละลาย dichloromethane-methanol ที่มี BHT ละลายอยู่ที่ความเข้มข้น 50 mg/l จากนั้นหยอดสารละลายลงบนแผ่น TLC เป่าให้แห้งด้วย hot air drier จากนั้นจึงนำไปแยกด้วยเทคนิคของ two-dimensional TLC ใช้สารละลายผสม dichloromethane-methanol-25% ammonia-distilled water เป็นระบบแรกและ dichloromethane-methanol-glacial acetic acid-distilled water เป็นระบบที่สอง โดยเทคนิคที่ปรับปรุงขึ้น (Dahlan 1989) ภายหลังจากขูด siliga ของแต่ละชั้นของ PL ออกจากแผ่นแล้วนำเอา PL แต่ละหมู่ที่สกัดแยกออกมาได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส (phosphorus content) โดยเทคนิคของ Bartlette (1959) คำนวณปริมาณฟอสฟอรัสกลับเป็นฟอสโฟลิปิด

การวิเคราะห์กรดไขมัน

องค์ประกอบของกรดไขมันที่มีอยู่ในไขมันที่สกัดได้ (crude fat) ใน TG และ PL ทำได้โดยเทคนิคดังต่อไปนี้ นำเอาตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กรดไขมัน ทั้งที่อยู่ในรูปของไขมันหรือในรูปของลิพิดที่ปนอยู่ใน silica powder จากแผ่น TLC มาทำการ hydrolyze เปลี่ยนให้กรดไขมันอยู่ในรูปของ free acid จากนั้นเปลี่ยนเป็น FAME ทั้งหมดนี้ทำโดยเทคนิคของ Lepage and Roy (1984) จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วย GLC โดยใช้ Fison 8000 series GC ติดตั้ง flame ionization detector ใช้คอลัมน์ capillary ความยาว 30 เมตร internal diameter 0.32 mm เคลือบหนา 0.25 micro-m ด้วย DB-23 P/N 123-2332 (J&W Scientific, USA) ใช้ split ratio 1:10 ใช้ helium เป็น carrier gas ตั้งอุณหภูมิ injection port ที่ 250 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ detector port ที่ 300 องศาเซลเซียส การจัดตั้งโปรแกรมของ oven ทำดังนี้ เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียสขณะฉีดตัวอย่างที่ละลายในเฮกเซน จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นถึง 180 องศา ด้วยความเร็ว 10 องศา/นาที ปล่อยให้อยู่ที่อุณหภูมินั้น 15 นาที จากนั้นปรับให้อุณหภูมิวิ่งไปที่ 220 องศาเซลเซียสที่ความเร็ว 4 องศา/นาที ปล่อยไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว 15 นาที การคำนวณปริมาณกรดไขมันทำโดยเครื่อง integrator โดยใช้โปรแกรมของ GC

การสกัดเลซิทิน

นำตัวอย่างปลาป่นที่เตรียมไว้มาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสนาน 30 นาทีเพื่อลดความชื้นและทำลายเอนไซม์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ไลเปสที่อาจจะยังทำงานอยู่ เมื่ออบแล้วจากนั้นนำไปสกัดด้วย acetone สองครั้งกรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง จากนั้นจึงระเหย acetone ออก ไขมันที่ได้ส่วนนี้ประกอบด้วย TG เป็นหลัก นำเอาตะกอนปลาป่นที่ผ่านการสกัด TG ออกแล้วบางส่วนไปสกัดด้วย methanol หรือ ethanol จากนั้นนำเอาตะกอนไปสกัดต่อด้วย hexane รวม hexane และ methanol หรือ ethanol เข้าด้วยกันทำการระเหยสารละลายอินทรีย์ออกจะได้เลซิทินเป็นยางเหนียวอยู่ที่ก้นขวด ทำการชั่งปริมาณเลซิทินที่ได้แล้วบันทึกข้อมูลไว้ นำเลซิทินที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติของลิพิด ได้แก่

1. fatty acid composition ใน crude lecithin
2. phosphorus content ใน crude lecithin
3. lipid subclasses: TG และ PL
4. PL subclasses
5. fatty acid composition ใน TG และ PL

ทั้งนี้โดยใช้เทคนิคดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำการเปรียบเทียบเทคนิคการใช้ methanol และ ethanol จากผลการศึกษาในที่สุดพบว่าการสกัดด้วย methanol ให้ปริมาณสูงกว่าและปริมาณไขมันและเลซิทินที่พบในปลาป่นจากการสกัดด้วย acetone-methanol-n-hexane ได้ผลดังแสดงไว้ใน **ตาราง 2**

การคัดเลือกปลาป่นเพื่อใช้ในการทดลองยึดถือปริมาณของเลซิทินในปลาป่น รวมถึง DHA ทั้งนี้เนื่องจากลิพิดทั้งสองเป็นองค์ประกอบหลักที่ต้องการในอาหารเพาะเลี้ยง ปลาป่น Danish มีเลซิทิน 1.1 % ขณะที่ปลาป่นเกรด 3 มีเลซิทินใกล้เคียงกันคือ 1.11 % เมื่อพิจารณากรดไขมัน DHA พบว่าทั้ง Danish fishmeal และ Local fishmeal grade 3 มีสัดส่วนของ DHA สูงที่สุดคือ 28.3 และ 22.6% ของกรดไขมันตามลำดับ จึงเลือก Danish fishmeal และ Local fishmeal grade 3 ไว้เพื่อเป็นแหล่งของเลซิทินที่ต้องใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

ตาราง 2 ปริมาณไขมันและเลซิทินที่พบในปลาป่น

ปลาป่น	ปริมาณไขมัน (g/100 g)		เลซิทินในน้ำมัน (g/100 g)	% DHA ในกรดไขมันของ เลซิทิน
	ทั้งหมด	เลซิทิน		
ปลาป่น Danish	11.4	1.10	10.2	28.3
ปลาป่นไทย 1	13.91	1.99	14.3	22.2
ปบาป่นไทย 2	13.12	1.64	12.54	19.6
ปลาป่นไทย 3	11.58	1.11	9.58	22.6
ปลาป่นไทย 4	11.23	0.99	8.86	20.5

ปริมาณคือค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนด้วยเลซิทินและศึกษาผล

การเตรียมอาหารที่ใช้เลี้ยง

การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน (*P. monodon* larva) ทำขึ้นที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การจัดเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงทำขึ้นในห้องปฏิบัติการของหน่วย การจัดเตรียมอาหารโดยควบคุมให้ปริมาณเลซิทินในสูตรอาหารอยู่ที่ระดับ 1.5 g/100 g แหล่งของเลซิทินมาจากถั่วเหลือง (SL) Danish fishmeal (DL) และ local fishmeal grade 3 (LL) เตรียมอาหารสี่ชนิด ได้แก่ soybean-lecithin added diet (SAD), Danish fishmeal-lecithin added diet (DAD), Local fishmeal-lecithin added diet (LAD) และ lecithin-free diet หรืออาหารควบคุมซึ่งไม่เติมเลซิทิน (control diet หรือ CD) องค์ประกอบของสารอาหารที่อยู่ในสูตรอาหารแต่ละชนิดได้แสดงไว้ใน ตาราง 3

อาหารที่เตรียมเป็น purified microparticulated diet ซึ่งเตรียมโดยสูตรที่พัฒนามาจาก Kanazawa (1985) เตรียมโดยการปั่นองค์ประกอบต่างๆที่แสดงไว้ให้มี particle size ≤ 20 micron ผสมองค์ประกอบเข้าด้วยกันอย่างดีจากนั้นเติมน้ำมันปลาและเลซิทินลงไปแล้วปั่นต่ออีก 20 นาที เติมน้ำลงเล็กน้อย นำ carrageenan มาละลายในน้ำแล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้วจึงเติมลงในส่วนผสมข้างต้น ละลายวิตามินซีในน้ำแล้วเติมลงในส่วนผสม ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นจึงเทส่วนผสมทั้งหมดลงถาดปล่อยให้เย็นแล้วจึงตัดออกเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วทำให้แห้งภายใต้ freeze dryer หลังจากแห้งสนิทแล้วจึงบดละเอียด แยกออกตามขนาด particle size เพื่อเตรียมเป็นอาหารสำหรับกุ้งวัยอ่อนระยะต่างๆดังนี้:

ขนาดเม็ดอาหาร ≤ 55 micron สำหรับ zoea; > 55-150 micron สำหรับ mysis; >150-300 micron สำหรับ postlarva, อาหารที่จัดเตรียมได้ทั้งหมดนี้เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท ภายใต้ก๊าซไนโตรเจน เก็บไว้ที่มืดและเย็นประมาณ 4 องศาเซลเซียส

การศึกษาผลของเลซิทินต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและการทนต่อความเครียด

กุ้งที่นำมาเลี้ยงในระยะ nauplii ได้มาจากบรรจงฟาร์ม จังหวัดฉะเชิงเทรา แบ่งการเลี้ยงกุ้งเป็นสามระยะ ดังนี้

1. ระยะ zoea I ถึง zoea III
2. mysis I ถึง mysis III
3. postlarva 1 ถึง postlarva 15

เตรียมกุ้งวัยอ่อนในถังพลาสติกขนาดหนึ่งลิตรเติมน้ำทะเลความเค็ม 25 ppt ปริมาณครึ่งลิตร เลี้ยงกุ้งให้มีปริมาณกุ้งวัยอ่อนหรือ larva ดังนี้: 300 larva/ถัง สำหรับ zoea stage; 100 larva/ถัง สำหรับ mysis stage; 50 larva/ถัง สำหรับ postlarva stage ทำการให้อาหารที่จัดเตรียมไว้โดยแบ่งการให้อาหารเป็น 5 เวลา ที่ 8.00, 11.00, 14.00, 17.00 และ 20.00 นาฬิกา เปลี่ยนน้ำในถังบางส่วนหรือประมาณ 2 ใน 3 ของถังทุกวัน เติมอากาศลงถังตลอดเวลาเบาๆ ให้อุณหภูมิของน้ำอยู่ที่ระดับ 27-30 องศาเซลเซียส

การทดสอบความทนต่อความเครียด

ความอดทนต่อความเครียด (stress resistance) ของกุ้งวัยอ่อนทำการทดสอบเมื่อกุ้งวัยอ่อนอยู่ในระยะ postlarva 15 วิธีการศึกษาทำโดยใช้กุ้งวัยอ่อนในระยะที่กล่าวถึง 10 ตัวที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร เลี้ยงในความเค็ม 25 ppt และ 30 ppt ทำการย้ายกุ้งจากความเค็มดังกล่าวซึ่งถือเป็นความเค็มปกติไปสู่ความเค็ม 0 ppt หรือไม่มีความเค็มอยู่เลยอันจัดเป็นภาวะที่กุ้งวัยอ่อนเกิดความเครียดขึ้น กุ้งบางส่วนเริ่มตายลง เนื่องจากความเครียด ทำการจัดการนับจำนวนกุ้งวัยอ่อนที่ตายทุก 10 นาทีจนครบ 2 ชั่วโมง รายละเอียดของเทคนิคนี้บรรยายไว้แล้วใน Ree et al. (1994)

การรวบรวมข้อมูลและสถิติที่ใช้

ข้อมูลทั้งหมดเก็บในรูปของ mean±SD การศึกษาอัตรารอด (survival rate) ของกุ้งวัยอ่อน (larva) ทำโดยการจดบันทึกจำนวนกุ้งวัยก่อนที่รอดชีวิตภายหลังแต่ละช่วงของกุ้งวัยอ่อน จากนั้นเทียบสัดส่วนของกุ้งวัยอ่อนที่รอดต่อจำนวนกุ้งวัยอ่อนที่จุดเริ่มต้น ส่วนอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ทำการศึกษาโดยการวัดความยาวของกุ้งวัยอ่อนจำนวน 10 ตัวที่ช่วง postlarva 15 จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย การทดสอบความทนต่อความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของความเค็ม (salinity stress test) ทำโดยการบันทึกจำนวนของกุ้งที่ตายภายหลังการย้ายกุ้งให้ไปอยู่ที่ความเค็มระดับ 0 ppt ทำการนับจำนวนทุก 10 นาทีตลอดระยะเวลา 2 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 3 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงกุ้งสี่ชนิดที่ใช้ในงานวิจัย

Ingredients	Content (g/100 g feed)			
	SAD	DAD	LAD	CD
Casein	55.0	55.0	55.0	55.0
Dextrin	15.5	15.5	15.5	15.5
Fish oil	8.0	8.0	8.0	8.0
Mineral mix[a]	8.0	8.0	8.0	8.0
Vitamin mix[b]	4.0	4.0	4.0	4.0
Lecithin	1.5[c]	1.5[d]	1.5[e]	0.0
Cholesterol	1.0	1.0	1.0	1.0
Carrageenan	5.0	5.0	5.0	5.0
Cellulose	1.8	1.8	1.8	1.8
Vitamin C	0.2	0.2	0.2	0.2
Astraxantrin	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025

[a] *ประกอบด้วย* K_2HPO_4 *2.0 g;* $Ca_3(PO_4)_2$ *2.72 g;* $MgSO_4.7H_2O$ *3.041 g;* $NaH_2PO_4.2H_2O$ *0.79 g ต่อ 100 g*

[b] *ประกอบด้วย p-aminobenzoic acid 10.0 mg; biotin 0.4 g; inositol 400 mg; Ca-pantothenate 60 mg; pyridoxine-HCl 12 mg; riboflavin 8 mg; thiamin-HCl 4 mg; menadione 4 mg; alpha-tocopherol 20 mg; cyanocobalamine 0.08 mg; calciferol 1.2 mg; folic acid 0.8 mg; choline chloride 120 mg.*

[c] *soybean lecithin*

[d] *Danish fishmeal lecithin*

[e] *local fishmeal lecithin*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

การคัดเลือกวัตถุดิบ

การศึกษาเริ่มต้นจากการทดลองใช้วัตถุดิบคือปลาป่นจากผลิตภัณฑ์ภายในประเทศ ปลาป่นทั้งหมดเป็นปลาป่นจากโรงงานเสรีบ้านเพ โดยการอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ ซึ่งมีปลาป่นเกรดต่างๆให้ได้ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือปลาป่นเกรด 1, 2, 3 และ 4 ปลาป่นทั้ง 4 เกรดแบ่งออกจากกันโดยพิจารณาปริมาณโปรตีนในปลาป่นเป็นหลัก จากตาราง 1 ในหน้า 5 เห็นได้ว่าปลาป่นไทยเกรด 1 มีโปรตีนสูงถึง 69.52 % เมื่อเทียบกับปลาป่นจากต่างประเทศคือปลาป่นเดนมาร์คแล้ว ปลาป่นไทยเกรด 1 และ 2 มีโปรตีนสูงกว่าเล็กน้อย การนำปลาป่นเดนมาร์คมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ด้วยก็เพื่อตรวจสอบคุณภาพของปลาป่นในประเทศโดยเปรียบเทียบกับปลาป่นจากต่างประเทศซึ่งปลาป่นกลุ่มหลังมักได้รับการยอมรับจากเกษตรกรว่ามีคุณภาพสูงกว่า ซึ่งการตรวจสอบในลักษณะ proximate analysis ไม่พบว่าปลาป่นจากต่างประเทศมีคุณสมบัติดีกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อสังเกตจากสีของปลาป่นพบว่าปลาป่นเดนมาร์คมีสีออกเหลืองทอง ขณะที่ปลาป่นไทยมีสีคล้ำกว่า เป็นไปได้ว่าปลาป่นไทยมีการปนเปื้อนจากเศษวัตถุในปริมาณสูงกว่าซึ่งไม่ได้แสดงผลไว้ในที่นี้

เนื่องจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ต้องการทดสอบไขมันจากปลาป่น ดังนั้นปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นตัวกำหนดราคาปลาป่นจึงไม่มีความสำคัญมากนัก ตาราง 1 ในหน้า 5 จะเห็นว่าปลาป่นไทยเกือบทุกเกรดยกเว้นเกรด 3 มีปริมาณไขมันสูงกว่าปลาป่นจากเดนมาร์ค ทั้งนี้เนื่องจากผู้ผลิตปลาป่นไทยไม่นิยมทำการแยกไขมันออกหรือไม่ทำการลดปริมาณไขมันจากปลาป่นอันเป็นผลจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ฉบับที่ 8 พ.ศ.2538 ที่ได้ตัดการกำหนดปริมาณไขมันออกจากการกำหนดคุณภาพปลาป่นชั้นคุณภาพที่ 1, 2 และ 3 ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสัตว์ซึ่งแต่เดิมเคยกำหนดไว้ที่ ไขมันไม่มากกว่าร้อยละ 10

ตาราง 1 เป็นผลจากการวิเคราะห์โดยผู้ผลิต อย่างไรก็ตามเมื่อทำการตรวจสอบปริมาณไขมันในปลาป่นทุกเกรดเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่ง ค่าที่ได้แตกต่างออกไป จากตาราง 2 เห็นว่าไขมันที่พบในปลาป่นทุกเกรดรวมถึงปลาป่นจากเดนมาร์คมีปริมาณตั้งแต่ 11.23-13.91% ขณะเดียวกันยังพบด้วยว่าเลซิทินที่มีในปลาป่นทุกเกรดอยู่ในระดับ 0.99-1.99 กรัมต่อปลาป่น 100 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณไม่น้อย เมื่อทำการสกัดไขมันทั้งหมดออกจากปลาป่น ยังพบอีกว่าเลซิทินที่ปนอยู่ในน้ำมันมีปริมาณ 8.86-14.3 กรัม/น้ำมัน 100 กรัม และการตรวจสอบกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า 3 ตัวสำคัญคือ DHA ที่พบในเลซิทินมีสูงถึง 19.6-28.3% ของกรดไขมันทั้งหมด จากตาราง 2 สามารถสรุปได้ว่า ปลาป่นทั้งของไทยและเดนมาร์คที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นแหล่งของไขมันโดยเฉพาะ

อย่างยิ่งเลซิทิน และเลซิทินดังกล่าวเป็นเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง อันเป็นการยืนยันผลจากการที่ได้เคยทำการศึกษามาก่อนหน้านี้แล้ว (Dahlan et al., 1996)

การสกัดเลซิทิน

ทำการทดลองโดยใช้วิธีสกัดเลซิทินจากปลาป่นโดยใช้เทคนิคที่เคยพัฒนาขึ้นแล้วที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ อย่างไรก็ตาม ผลของการใช้สารละลายอินทรีย์ที่มีต่อสัดส่วนของกรดไขมันไม่เคยมีการตรวจสอบกันมาก่อน ในการทดลองครั้งนี้ทำการสกัดโดยใช้สารละลายอินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ n-hexane, acetone และ alcohol ในกรณีของ alcohol ทำการตรวจสอบ alcohol สองชนิดคือ ethanol และ methanol การสกัดโดยใช้สารละลายอินทรีย์สองชนิดคือ hexane และ acetone จะได้ปริมาณเลซิทินจากปลาป่นค่อนข้างต่ำ (0.5-0.7 กรัม/ปลาป่น 100 กรัม) ทั้งนี้เนื่องจากเลซิทินเป็นลิพิดชนิดโพลาร์ การใช้สารละลายอินทรีย์ชนิด non polar ได้แก่ n-hexane และ acetone ทำให้เลซิทินสูญเสียไปบางส่วน การนำเอาสารละลายอินทรีย์ชนิดโพลาร์เข้ามาร่วมด้วยในกระบวนการสกัดทำให้ปริมาณเลซิทินที่สกัดได้มีสูงขึ้นมาก (1-2 กรัม/ปลาป่น 100 กรัม) ดังนั้นระบบสารละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดเลซิทินในการศึกษาครั้งนี้จึงได้แก่ acetone, alcohol และ n-hexane ตามลำดับซึ่งได้บรรยายไว้แล้วในบทที่ผ่านมา

การใช้ alcohol ชนิด methanol และ ethanol ให้ปริมาณเลซิทินที่สกัดออกมาได้ไม่ต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาสัดส่วนของกรดไขมันที่เป็นผลมาจากการสกัดด้วย alcohol ทั้งสองชนิดแล้วพบว่า alcohol ทั้งสองตัวมีผลต่อการสกัดกรดไขมันไม่ต่างกันมากนัก อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมัน DHA กลับพบว่าเลซิทินที่สกัดด้วย methanol ให้ปริมาณ DHA ในสัดส่วนที่สูงกว่าเลซิทินที่สกัดด้วย ethanol อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.05$ (ตาราง 4) เลซิทินจากการสกัดด้วย methanol มี DHA สูงถึง 17.51% ขณะที่เลซิทินจากการสกัดด้วย ethanol มี DHA 14.63% เหตุผลที่ทำให้การใช้ methanol สกัด DHA ได้สูงกว่าอาจเป็นผลมาจาก DHA เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่ถึง 6 ตำแหน่งทำให้มีความเป็น polar มากขึ้นจึงสามารถละลายได้มากกว่า ใน methanol ซึ่งมีความเป็น polar มากกว่า ethanol

ตาราง 5 แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินที่สกัดได้จากปลาป่น เห็นได้ว่าปลาป่นเดนมาร์คมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณที่สูงมากถึง 38.5% เมื่อเทียบกับปลาป่นไทยเกรด 1 ถึงเกรด 4 ที่มี 25.3-31.6% ในบรรดาปลาป่นไทยทั้ง 4 ชนิดพบว่าปลาป่นเกรด 3 มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงที่สุดถึง 31.6% ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่ต่างจากกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปลาป่นเดนมาร์ค ทั้งยังเป็นปริมาณที่สูงกว่าที่พบในปลาป่นเกรด 2 อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้แล้วยังพบอีกว่าปลาป่นเกรด 3 มีสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 ต่อกรดไขมันโอเมก้า 6 สูงที่สุดคือ 7.9 เมื่อเทียบ

กับกรดไขมันอีก 3 เกรดและสูงกว่าปลาป่นเดนมาร์คแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นเมื่อเทียบกับปลาป่นเกรด 1

ตาราง 4 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของปลาป่นเกรด 1 เมื่อใช้สารละลายอินทรีย์ต่างๆกัน ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดคิดเป็น g/100 g กรดไขมันทั้งหมด

Fatty acids	Solvent System		
	H/A	E/H/A	M/H/A
C12:0	0.19±0.01	0.13±0.01	0.11±0.01
C14:0	6.37±0.11	4.66±0.10	4.74±0.05
C16:0	0.25±0.01	0.21±0.01	0.20±0.00
C14:1n-7	25.33±0.29	29.43±0.40	28.47±0.16
C16:1n-7	6.55±0.03	4.70±0.07	4.75±0.03
C18:0	8.32±0.08	10.53±0.15	9.52±0.03
C18:1n-9	13.87±0.22	13.36±0.14	12.81±0.15
C18:2n-6	1.56±0.01	1.35±0.02	1.39±0.09
C18:3n-3	0.78±0.02	0.57±0.02	0.59±0.09
C20:0	0.51±0.03	0.55±0.05	0.50±0.02
C20:1n-9	3.41±0.08	1.79±0.17	2.31±0.00
C20:4n-6	1.99±0.18	2.21±0.04	2.30±0.01
C20:5n-3	7.16±0.19	6.04±0.09	6.42±0.11
C22:5n-3	1.64±0.11	0.94±0.10	1.26±0.02
C22:6n-3	14.08±0.29[a]	14.63±0.26[a]	17.51±0.27[b]
Others	8.00±0.13	8.90±0.42	7.11±0.13

ตัวย่อ: H, normal hexane; A, acetone; E, ethanol; M, methanol

ค่าที่แสดงคือค่า Mean±SD ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 5 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตาราง 5 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของปลาป่นชนิดต่างๆที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดคิดเป็น g/100 g กรดไขมัน

Phospholipid Fatty Acids	Danish Fishmeal	Local Fishmeal			
		1	2	3	4
SFA	32.7±0.8	44.6±0.3	47.9±0.8	40.3±0.1	44.0±3.0
MUFA	16.4±0.6	16.3±0.1	15.9±0.1	17.0±0.1	17.8±0.8
PUFA	44.2±0.9^{a}	34.0±0.5^{a}	29.6±0.9^{b}	35.6±0.3^{a}	31.8±1.8^{a}
EPA	7.9±0.2^{a}	4.4±0.1^{b}	4.3±0.1^{b}	7.2±0.0^{a}	6.0±0.3^{b}
DHA	38.5±0.9^{a}	22.2±0.4^{b}	19.6±0.7^{b}	22.6±0.2^{c}	20.5±0.7^{b}
n-3	38.5±0.9^{a}	28.1±0.4^{a,b}	25.3±0.8^{b}	31.6±1.8^{a}	28.0±1.7^{a,b}
n-6	5.7±0.2^{a}	5.9±0.1^{a}	4.4±0.1^{a,b}	4.0±0.1^{a,b}	3.8±0.2^{b}
n-3/n-6	6.8±0.1^{a}	4.8±0.0^{b}	5.8±0.1^{a,b}	7.9±0.3^{a}	7.3±0.3^{a}

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid

เนื่องจากปลาป่นเดนมาร์คมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูง ขณะเดียวกันปลาป่นไทยเกรด 3 มีกรดไขมันกลุ่มดังกล่าวสูงเช่นกัน ทั้งยังมีปริมาณไขมันไม่ต่างจากปลาป่นเกรดอื่น ข้อสำคัญคือ ปลาป่นเกรด 3 มีราคาถูกกว่าปลาป่นเกรด 1 และ 2 ในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกปลาป่นเกรด 3 เป็นตัวแทนปลาป่นไทยศึกษาคุณภาพของเลซิทินเปรียบเทียบกับปลาป่นเดนมาร์คซึ่งจะนำเสนอผลการศึกษาในรายงานการวิจัยฉบับนี้ต่อไป

เมื่อนำเลซิทินจากปลาป่นมาตรวจสอบคุณภาพของฟอสโฟลิปิด (PL) โดยศึกษาองค์ประกอบของ PL กลุ่มต่างๆ ดังแสดงในตาราง 6 พบว่าเลซิทินจากปลาป่นทุกชนิดทั้งปลาป่นเดนมาร์คและปลาป่นไทยมีองค์ประกอบของ PL ไม่แตกต่างกัน คือมี PL กลุ่มใหญ่เป็น choline-containing PL ได้แก่ phosphatidylcholine, lysophosphatidylcholine และ sphingomyelin ใน

ปริมาณสูงที่สุดคือ 66.36-70.33 mole% หากพิจารณาเฉพาะ PL แต่ละตัวพบว่า phosphatidylcholine มีปริมาณสูงที่สุดคืออยู่ในช่วง 48-52.32 mole% ปริมาณ choline-containing PL ในระดับสูงเช่นนี้ ทำให้เลซิทินจากปลาป่นแสดงคุณสมบัติต่างจากเลซิทินจากถั่วเหลืองซึ่งมี phosphatidylcholine ในช่วง 25-35 mole%

ตาราง 6 องค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดชนิดต่างๆที่พบในเลซิทินของปลาป่นที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คิดเป็น mole/100 mole PL

Phospholipid Subclasses	Danish Fishmeal	Local Fishmeal			
		1	2	3	4
PA	2.12	2.83	2.40	1.18	1.91
PE	8.77	10.14	8.50	9.94	9.69
PC	52.32	51.15	48.15	48.00	52.32
PS+PI	3.65	5.78	3.38	5.91	6.04
SM	12.77	15.36	12.40	15.84	14.04
LPC	3.31	3.82	8.90	3.34	0.00
Others	17.06	10.92	16.27	15.76	16.00
Total choline	68.40	70.33	69.45	67.18	66.36

ค่าที่แสดงคือ mean จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

PA, Phosphatidic acid; PE, Phosphatidyl ethanolamine; PC, Phosphatidylcholine; PS, Phosphatidylserine; PI, Phosphatidylinositol; SM, Sphingomyelin; LPC, Lysophosphatidylcholine; Total choline, PC + SM + LPC

การเตรียมอาหารเลี้ยง

อาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ จัดเตรียมขึ้นเป็น 4 สูตร ได้แก่ อาหารที่เติมเลซิทินจากปลาป่น 2 สูตร คือ local lecithin-added diet (LAD) และ Danish lecithin-added diet (DAD) อาหารที่เติมเลซิทินจากถั่วเหลือง หรือ Soybean lecithin-added diet (SAD) ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ใช้ในศูนย์วิจัยเทคโนโลยีสัตว์น้ำตามปกติ อาหารทั้งสามสูตรนี้ทำการศึกษาผลโดยการเปรียบเทียบกับอาหารควบคุมซึ่งไม่มีการเติมเลซิทินเลย หรือ lecithin free diet) หรือ control diet (CD) (ดู ตาราง 3 หน้า 12)

อาหารทุกสูตรมีการเติมน้ำมันปลาลงไปด้วย เหตุนี้เองที่ทำให้อาหารทุกสูตรมีกรดไขมันโอเมก้า 3 อยู่ด้วย สิ่งที่ต่างกันคือกรดไขมันโอเมก้า 3 ในน้ำมันปลาอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ ขณะที่กรดไขมันโอเมก้า 3 ในเลซิทินจากปลาป่นอยู่ในรูปของเอสเตอร์จับกับ PL ซึ่งแสดงผลในทางชีวเคมีที่แตกต่างจากกรดไขมันโอเมก้า 3 เมื่อเป็นเอสเตอร์จับกับไตรกลีเซอไรด์ ตาราง 7 แสดงองค์ประกอบของกรดไขมันที่ตรวจพบในน้ำมันปลาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จะเห็นว่าน้ำมันปลาที่ใช้เป็นน้ำมันปลาเกรดดีมีองค์ประกอบของ DHA สูงถึง 26.8% ขณะที่มี EPA สูงถึง 6.72% ทำให้สัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 ทั้งหมด (n-3) สูงถึง 35.8% มีกรดไขมันโอเมก้า 6 ในปริมาณต่ำ สัดส่วนของ n-3/n-6 จึงสูงถึง 10

เมื่อตรวจสอบเลซิทินสิ่งที่พบคือเลซิทินจากถั่วเหลืองมี PL เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 50 อีกครึ่งหนึ่งเป็นไตรกลีเซอไรด์ ขณะที่เลซิทินจากปลาป่นไทยมีองค์ประกอบของ PL ร้อยละ 25 และเลซิทินจากปลาป่นเดนมาร์คมี PL ร้อยละ 30 ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในเลซิทินแต่ละชนิด โดยดูองค์ประกอบกรดไขมันทั้งในส่วนของเลซิทินรวมและกรดไขมันในส่วนของ PL และไตรกลีเซอไรด์ ดังแสดงไว้ในตาราง 8-10 สิ่งที่พบคือเลซิทินจากถั่วเหลืองไม่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 อันได้แก่ EPA และ DHA เลย (ตาราง 8) อย่างไรก็ตามเลซิทินกลุ่มนี้มีกรดไขมันโอเมก้า 3 อยู่ในรูปของ alpha-linolenic acid (C18:3 n-3) ประมาณ 7.8% ขณะเดียวกันเลซิทินจากถั่วเหลืองมีกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 ในปริมาณสูงถึง 55.6% ทำให้สัดส่วนของ n-3/n-6 มีค่าต่ำเพียง 0.14 เมื่อพิจารณาลิพิดแยกออกเป็น PL และไตรกลีเซอไรด์จะพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวทั้งโอเมก้า 3 และโอเมก้า 6 กระจายอยู่ในลิพิดทั้งสองส่วนในสัดส่วนใกล้เคียงกัน อาจสังเกตได้ว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงหรือ polyunsaturated fatty acids (PUFA) จะปรากฏในส่วนของ PL สูงกว่าในส่วนของไตรกลีเซอไรด์เล็กน้อย (64.2 เทียบกับ 56.8) ในทางกลับกันก็มีกรดไขมันอิ่มตัวหรือ monounsaturated fatty acids (MUFA) ต่ำกว่า (11.0 เทียบกับ 25.1) ซึ่งต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตาราง 7 องค์ประกอบกรดไขมันที่พบในน้ำมันปลาที่ใช้ในการเตรียมอาหารทุกสูตร ปริมาณที่แสดงในตารางคิดเป็น g/100 g กรดไขมัน

กรดไขมัน	ปริมาณ
SFA	35.0±1.6
MUFA	21.4±0.6
PUFA	39.4±2.0
EPA	6.72±0.4
DHA	26.8±1.4
n-3	35.8±1.8
n-6	3.6±0.1
n-3/n-6	10.0±0.2

ผลแสดงเป็น Mean±SD ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 8 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของถั่วเหลือง (soybean) แยกส่วนเป็นไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิด

Fatty Acids	Soybean Lecithin		
	Total	TG	PL
SFA	21.1±2.0	18.1±1.5	24.9±0.4
MUFA	15.5±0.4	25.1±2.6	11.0±0.6
PUFA	63.4±1.6	56.8±4.0	64.2±0.9
EPA	-	-	-
DHA	-	-	-
n-3	7.8±0.3	6.3±1.4	7.2±0.2
n-6	55.6±1.3	50.6±2.6	57.0±0.7
n-3/n-6	0.14±0.00	0.12±0.02	0.13±0.00

ผลแสดงเป็น Mean±SD ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 9 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของ Danish fishmeal แยกส่วนเป็นไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิด

Fatty Acids	Danish Fishmeal Lecithin		
	Total	TG	PL
SFA	37.5±0.6	38.2±1.0	32.7±0.8
MUFA	20.4±0.5	22.0±0.8	16.4±0.6
PUFA	36.9±0.8	32.8±1.2	44.2±0.9
EPA	7.5±0.4	7.3±0.1	7.9±0.2
DHA	21.7±0.7	17.6±1.0	28.3±0.7
n-3	31.9±0.8	27.9±1.1	37.5±0.9
n-6	5.1±0.3	5.0±0.3	5.7±0.2
n-3/n-6	6.3±0.1	5.6±0.2	6.8±0.1

ผลแสดงเป็น Mean±SD ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ตาราง 10 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของ Local fishmeal แยกส่วนเป็นไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิด

Fatty Acids	Local Fishmeal Lecithin		
	Total	TG	PL
SFA	41.6±0.9	55.3±4.2	55.9±7.3
MUFA	14.3±3.4	17.2±2.0	15.1±0.8
PUFA	33.7±0.9	21.5±7.4	21.1±8.6
EPA	6.4±0.2	3.6±0.8	3.5±1.0
DHA	19.3±0.9	8.4±7.8	12.4±6.2
n-3	27.9±1.1	13.3±8.7	16.7±7.7
n-6	5.8±0.7	8.2±1.3	4.5±1.0
n-3/n-6	4.8±0.7	1.8±1.5	3.6±0.9

ผลแสดงเป็น Mean±SD ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ในกรณีของกรดไขมันในเลซิทินของปลาป่นจากตาราง 9 และ 10 เห็นว่าเลซิทินจากปลาป่นมีความแตกต่างจากเลซิทินจากถั่วเหลืองเนื่องจากเลซิทินจากปลาป่นมีกรดไขมันโอเมก้า 3 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DHA และ EPA ในปริมาณสูง และกรดไขมันสองชนิดนี้พบได้ทั้งในส่วนของไตรกลีเซอไรด์และ PL ของเลซิทิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของ PL สิ่งที่เห็นได้ชัดเจนคือสัดส่วนของ n-3/n-6 ซึ่งเลซิทินจากปลาป่นจะให้ค่าที่สูงกว่าเลซิทินจากถั่วเหลืองมาก (5.6-6.8 สำหรับปลาป่นเดนมาร์ค 1.8-4.8 สำหรับปลาป่นไทย เปรียบเทียบกับ0.12-0.14 สำหรับถั่วเหลือง) ข้อน่าสังเกตคือ n-3/n-6 สำหรับเลซิทินจากปลาป่นเดนมาร์คมีค่าสูงกว่าเลซิทินจากปลาป่นไทย (5.6-6.8 เปรียบเทียบกับ 1.8-4.8)

ภายหลังทำการผสมอาหารเลี้ยงแล้วทำการวิเคราะห์กรดไขมันในอาหารแต่ละสูตร แสดงผลให้เห็นในตาราง 11 จะเห็นว่าสัดส่วนของ n-3/n-6 ของ SAD มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรอาหารอื่น (1.7 เทียบกับ 4.9-6.2) ทั้งนี้เนื่องจากสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 6 ในสูตร SAD มีอยู่สูงมาก โดยกรดไขมันโอเมก้า 6 ส่วนใหญ่ที่พบใน SAD คือกรดไลโนเลอิก (linoleic acid, C18:2 n-6 หรือ LA) ซึ่งมีอยู่สูงถึง 12.9% อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงกรดไขมันโอเมก้า 3 กลับพบว่าสูตรอาหารทั้ง 4 สูตรต่างมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากมีการเติมน้ำมันปลาเข้าไปในสูตรอาหารดังได้กล่าวแล้ว มีผลทำให้กรดไขมันโอเมก้า 3 ในสูตรอาหาร SAD เพิ่มสูงขึ้นถึง 24.1% ซึ่งไม่น้อยไปกว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ในสูตรอาหารอื่นๆเลย นอกจากนี้ยังทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงโดยรวมของสูตรอาหาร SAD มีสูงขึ้นมาก (38.4 เปรียบเทียบกับ 23.3-32.2 สำหรับสูตรอาหารอื่น) ในขณะที่มีกรดไขมันอิ่มตัวค่อนข้างต่ำ (36 ในสูตร SAD เทียบกับ 39-49.3 ในสูตรอาหารอื่น)

ในกรณีของสูตรอาหารควบคุม พบว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 มีสูงเช่นกันอันเป็นผลมาจากการเติมน้ำมันปลา อย่างไรก็ตามหากพิจารณาในแง่ของลิพิดแล้วจะพบว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ในสูตรอาหาร CD จะอยู่ในรูปเอสเตอร์กับไตรกลีเซอไรด์โดยมีเอสเตอร์ในส่วนของ PL ต่ำ ในขณะที่สูตรอาหาร LAD และ DAD มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในส่วนของ PL สูงที่สุด และสูตรอาหาร SAD มีกรดไขมันโอเมก้า 6 ในเอสเตอร์ของ PL มากที่สุด (ดูข้อมูลจากตาราง 8-10)

ส่วนปริมาณไขมันในอาหารทุกสูตรนั้นไม่ต่างกันมากนัก เนื่องจากมีการเติมไขมันในรูปของน้ำมันปลาสูงถึง 8 กรัม/100 กรัม ขณะที่เติมเลซิทิน 1.5 กรัม/100 กรัม (ตาราง 3) อย่างไรก็ตามปริมาณไขมันหรือลิพิดทั้งหมดในสูตรอาหาร CD มีต่ำกว่าสูตรอาหารอื่นเนื่องจากไม่มีการเติมเลซิทินลงไปด้วย

ตาราง 11 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของปลาป่นชนิดต่างๆที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คิดเป็น g/100 g กรดไขมัน

กรดไขมัน	อาหารเลี้ยงกุ้งวัยอ่อน			
	SAD	DAD	LAD	CD
SFA	36.0±0.4	39.0±0.5	49.3±4.8	49.0±3.4
MUFA	20.8±0.4	22.0±1.0	21.9±0.5	23.1±0.5
PUFA	38.4±0.6	32.2±1.2	24.3±5.2	23.3±2.9
ALA	1.7±0.2	0.6±0.1	0.5±0.0	0.8±0.0
EPA	4.6±0.4	5.9±0.7	4.6±0.8	4.6±0.5
DHA	16.9±0.1	20.0±2.0	14.4±3.8	13.3±2.4
LA	12.9±0.2	3.0±0.8	2.6±0.2	2.6±0.1
AA	1.4±0.2	1.7±0.5	1.5±0.4	1.4±0.1
n-3	24.1±0.7	27.6±2.0	20.3±4.7	19.3±3.0
n-6	14.3±0.1	4.7±0.9	4.0±0.6	4.0±0.1
n-3/n-6	1.7±0.1	6.2±1.6	5.0±0.4	4.9±0.8

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

EPA, 20:3 n-3; DHA, 22:6 n-3; ALA, 18:3 n-3; LA, 18:2 n-6; AA, 20:4 n-6

การศึกษาผลของเลซิทินในอาหารต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

ในการทดลองครั้งนี้ทำการเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนด้วยอาหารเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด โดยเลี้ยงที่ความเค็ม 25 ppt และความเค็ม 30 ppt ซึ่งถือเป็นความเค็มระดับปกติ ทำการวัดความยาวของกุ้งที่ระยะ post-larva 15 ผลของการเจริญเติบโตของกุ้งที่ความเค็ม 25 ppt แสดงในตาราง 12 จะเห็นว่ากุ้งกุลาดำวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร SAD มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดโดยพิจารณาจากความยาวของกุ้งในระยะที่กล่าวถึงซึ่งมีค่าความยาวต่างจากกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหาร CD มีการเจริญเติบโตดีเช่นกันแต่ให้ผลความยาวไม่ต่างจากกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตาราง 12 ความยาวของกุ้งวัยอ่อนระยะ post-larva 15 ที่ความเค็ม 25 ppt เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารต่างๆกัน

อาหาร	ความยาวกุ้ง (mm)
SAD	11.42 ± 1.29^{a}
DAD	10.81 ± 0.94^{b}
LAD	10.63 ± 1.11^{b}
CD	$11.06\pm0.89^{a,b}$

ตาราง 13 ความยาวของกุ้งวัยอ่อนระยะ post-larva 15 ที่ความเค็ม 30 ppt เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารต่างๆกัน

อาหาร	ความยาวกุ้ง (mm)
SAD	11.04 ± 0.99^{a}
DAD	$10.86\pm0.82^{a,b}$
LAD	$11.16\pm0.77^{a,b}$
CD	10.55 ± 1.76^{b}

แสดงค่าเป็น mean±SD

อักษรเหนือข้อมูลที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่น ทั้งปลาป่นไทยและปลาป่นเดนมาร์คพบว่ากุ้งเหล่านั้นเจริญเติบโตเป็นที่น่าพอใจโดยมีความยาวต่างจากกุ้งที่ได้จากการเลี้ยงด้วย SAD ประมาณ 5% เท่านั้น (10.63 มม. และ 10.81 มม. เทียบกับ 11.42 มม. สำหรับกุ้งที่เลี้ยงด้วย LAD, DAD และ SAD ตามลำดับ) การเจริญเติบโตของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นดังได้กล่าวว่าให้ผลไม่ต่างจากอาหาร SAD มากนักนั้น เห็นได้ชัดเจนเมื่อดูจากตาราง 13 จะเห็นว่าความยาวของกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหาร DAD และ LAD ไม่ต่างจากกุ้งที่เลี้ยงด้วย SAD ขณะเดียวกันยังพบด้วยว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหาร CD มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด จากข้อมูลในตาราง 13 นี้ยืนยันว่าเลซิทินให้ผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนจริง

ผลของอาหารเสริมเลซิทินสามชนิดต่ออัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

จากตาราง 13, 14 แสดงถึงอัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่างๆกัน จะเห็นว่าเลซิทินในอาหารไม่แสดงผลในเชิงบวกต่ออัตรารอดของกุ้งวัยอ่อนมากนัก ข้อที่น่าสังเกตคือเมื่อเลี้ยงกุ้งที่ความเค็ม 30 ppt ด้วยอาหารทุกชนิด อัตรารอดของกุ้งมีสูงกว่าที่ความเค็ม 25 ppt

ตาราง 14 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่างๆที่ความเค็ม 25 ppt เปรียบเทียบในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละชนิด

อาหาร	% อัตรารอดของกุ้งวัยอ่อน (larval stage)		
	Protozoea	Mysis	Postlarva
SAD	15.1±26.5	56.7±15.1	58.7±23.2
DAD	25.4±26.2	67.3±20.5	21.3±18.9
LAD	24.0±27.1	62.7±6.8	39.3±9.5
CD	36.1±14.1	69±15.4	38.7±11.4

ตาราง 15 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่างๆที่ความเค็ม 30 ppt เปรียบเทียบในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละชนิด

อาหาร	% อัตรารอดของกุ้งวัยอ่อน (larval stage)		
	Protozoea	Mysis	Postlarva
SAD	70.6±15.9	52.7±9.2	66±23.1
DAD	49.1±10.0	65.0±13.1	53.3±6.1
LAD	65.7±7.3	75.0±13.1	44.0±24.3
CD	46.0±20.6	58.0±5.0	42.7±11.4

T183783835

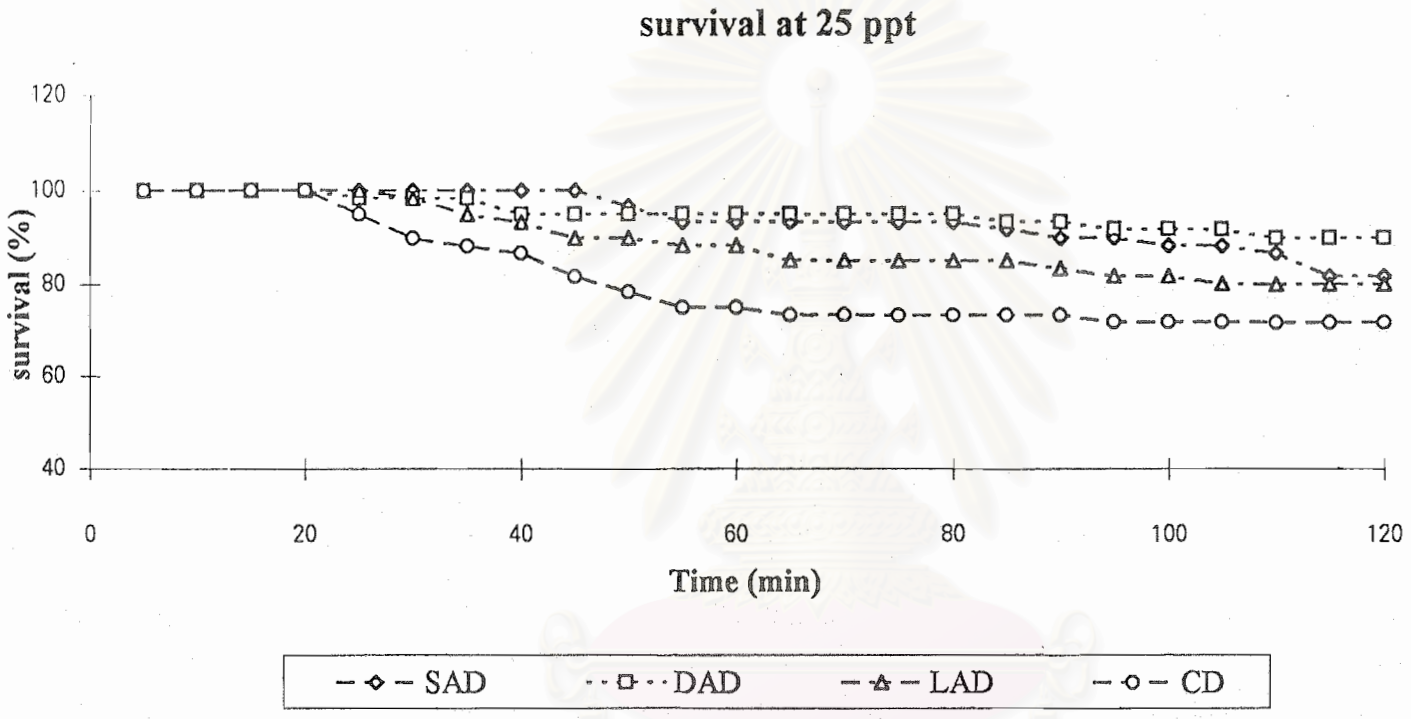
การทนต่อความเครียด

ทำการตรวจสอบการทนต่อความเครียด (stress tolerance test) ของกุ้งวัยอ่อนระยะ post-larva 15 โดยการย้ายกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละชนิดจากความเค็ม 25 ppt และ 30 ppt มาสู่ความเค็ม 0 ppt นับจำนวนกุ้งที่ตายผลการศึกษาแสดงในรูป 1 และ 2 การย้ายจากความเค็มที่ 25 ppt สู่ 0 ppt กุ้งวัยอ่อนเริ่มตายที่เวลา 25 นาที จะเห็นว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่มีเลซิทินหรือกลุ่ม CD จะทนต่อความเครียดนี้ได้น้อยที่สุด ขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมเลซิทินจะทนต่อความเครียดได้ดีกว่าโดยมีอัตราตายน้อยกว่า

ที่ความเค็ม 30 ppt เมื่อย้ายไปสู่ 0 ppt กุ้งวัยอ่อนที่ได้รับอาหาร CD ยังแสดงความทนต่อความเครียดได้น้อยที่สุด ขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมเลซิทินจะทนต่อความเครียดได้ดีกว่า แม้กุ้งกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นทั้งปลาป่นไทยและปลาป่นเดนมาร์คจะแสดงความทนต่อความเครียดได้ดีกว่ากุ้งกลุ่ม SAD แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

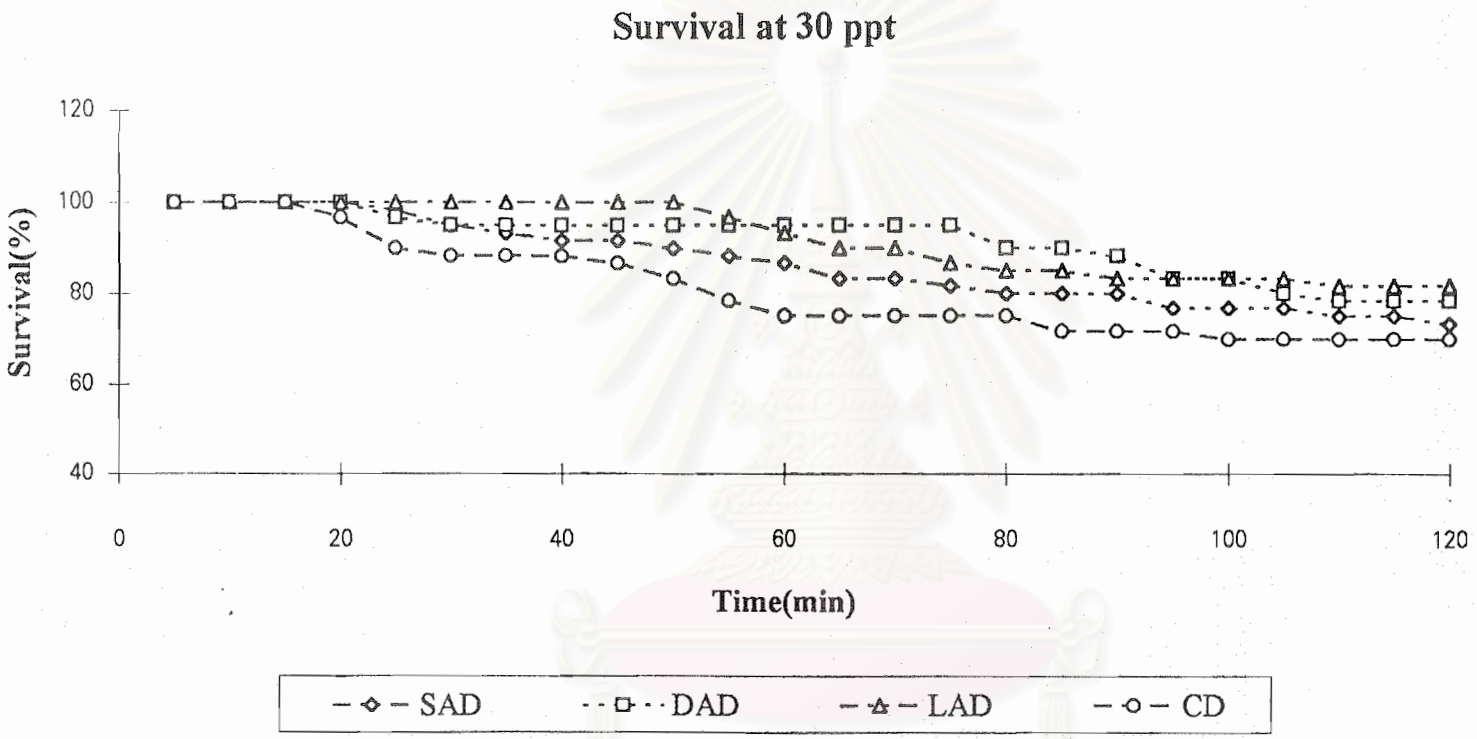
การสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 ในเนื้อเยื่อของกุ้ง

ภายหลังจากเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารชนิดต่างๆไปจนถึงระยะ post-larva 15 นำเอากุ้งมาทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในเนื้อเยื่อของกุ้ง ดังแสดงผลในตาราง 16 และ 17 จากตาราง 16 พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วย SAD สะสมปริมาณกรดไขมันไว้ในเนื้อเยื่อสูงที่สุด รองลงมาคือกุ้งที่เลี้ยงด้วย DAD ขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วย CD และ LAD สะสมไขมันในเนื้อเยื่อไว้น้อยที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาสัดส่วนของกรดไขมันที่กุ้งสะสมไว้ จากตาราง 17 เห็นว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นไทยสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 ไว้สูงถึง 28.82% ตามด้วยกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหาร CD, SAD และ DAD ตามลำดับ นอกจากนี้อาหาร LAD ยังทำให้เนื้อเยื่อของกุ้งมีสัดส่วนของ n-3/n-6 สูงที่สุดคือ 3.29 เทียบกับ 2.31, 1.45 และ 1.32 สำหรับกุ้งที่เลี้ยงด้วย DAD, SAD และ CD ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 สามารถสะสมในเนื้อเยื่อของกุ้งวัยอ่อนได้ และเลซิทินจากปลาป่นไทยให้กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีศักยภาพในการสะสมกรดไขมันกลุ่มนี้ในเนื้อเยื่อค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามเนื่องจากปริมาณกุ้งที่ใช้ในการวิเคราะห์มีค่อนข้างจำกัด การแสดงความแตกต่างกันโดยนัยสำคัญจึงไม่สามารถทำได้



รูปที่ 1 การทดสอบความทนทานของกุ้งต่อความเครียดที่ระดับความเค็ม 25ppt ย้ายมาที่ 0 ppt

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 การทดสอบความทนทานของกุ้งต่อความเครียดที่ระดับความเค็ม 30 ppt ย้ายมาที่ 0 ppt

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 16 ปริมาณกรดไขมันที่พบในเนื้อกุ้งวัยก่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดต่างๆ คิดเป็น mg กรดไขมัน/g เนื้อกุ้ง

กรดไขมัน	เนื้อกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ			
	SAD	DAD	LAD	CD
SFA	4.48	2.35	1.69	2.15
MUFA	3.26	2.88	1.29	1.42
PUFA	3.26	1.87	1.80	2.07
ALA	0.83	0.46	0.42	0.45
EPA	0.72	0.47	0.54	0.42
DHA	0.38	0.31	0.30	0.24
LA	1.16	0.43	0.26	0.78
AA	0.23	0.14	0.16	0.12
n-3	2.01	1.31	1.38	1.18
n-6	1.39	0.57	0.42	0.89
n-3/n-6	1.45	2.31	3.29	1.42
รวมกรดไขมัน	11.14	7.10	4.78	5.65

ตาราง 17 องค์ประกอบกรดไขมันที่พบในเนื้อกุ้งวัยก่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารชนิดต่างๆ คิดเป็น g/100 g กรดไขมัน

กรดไขมัน	เนื้อกุ้งวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างๆ			
	SAD	DAD	LAD	CD
SFA	40.21	33.10	35.43	38.16
MUFA	29.28	40.53	26.98	25.17
PUFA	30.52	26.37	37.59	36.67
ALA	7.49	6.41	8.72	8.00
EPA	6.47	6.68	11.2	7.34
DHA	3.38	4.33	6.33	4.25
LA	10.40	6.00	5.47	13.78
AA	2.07	1.99	3.31	2.03
n-3	18.04	18.39	28.82	20.86
n-6	12.48	7.98	8.77	15.81
n-3/n-6	1.45	2.31	3.29	1.32

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์และสรุปผล

การเตรียมเลซิทินจากปลาป่น

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้เลือกปลาป่นเป็นแหล่งของเลซิทินที่มีโอเมก้า 3 สูงจากหลายเหตุผล ได้แก่ ปลาป่นเป็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่หาได้ง่ายในประเทศไทย มีราคาไม่แพง อีกทั้งผลิตจากสัตว์ทะเลที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูง การศึกษาครั้งนี้ใช้ปลาป่นจากสองแหล่งคือปลาป่นจากเดนมาร์คและปลาป่นท้องถิ่น โดยเปรียบเทียบผลกับเลซิทินจากถั่วเหลืองซึ่งได้รับจากโรงงาน เลซิทินจากปลาป่นมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ขณะที่เลซิทินจากถั่วเหลืองมีกรดไขมันโอเมก้า 6 กรดไขมันทั้งสองกลุ่มนี้เป็นกรดไขมันจำเป็นชนิดไม่อิ่มตัวสูง มีกรดไขมันไลโนเลอิก (linoleic acid, LA) และกรดอัลฟ่าไลโนเลอิก (alpha-linolenic acid, ALA) เป็นกรดไขมันตั้งต้นของกรดไขมันโอเมก้าทั้งสองกลุ่ม กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกุ้งใหญ่และกุ้งเล็ก (Castell and Corey, 1976; Kanazawa et al., 1977, 1979a) นอกจากนี้เลซิทินเองโดยเฉพาะเลซิทินจากถั่วเหลืองมีผู้พบว่ามันสามารถทำหน้าที่เป็น phagostimulant (Thorsteinson and Nayar, 1963) นอกจากนี้ยังช่วยทำหน้าที่เพิ่มการละลายตัวของสารไขมันที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงได้ (Lester et al., 1975). จากผลการศึกษาพบว่าปลาป่นไทยและปลาป่นเดนมาร์คให้ปริมาณไขมันและเลซิทินไม่ต่างกันนัก อย่างไรก็ตามพบว่าปลาป่นเดนมาร์คให้เลซิทินที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิด HUFA อันได้แก่ C 20:4 n-6, C 20:5 n-3, C 22:5 n-3, C 22:6 n-3 สูงกว่าเลซิทินจากปลาป่นไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่ากรดไขมัน DHA และ EPA มีในเลซิทินที่สกัดจากปลาป่นเดนมาร์คค่อนข้างสูง

ในกระบวนการสกัดไขมันและเลซิทินจากปลาป่นซึ่งทำขึ้นที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน ทำการสกัดโดยใช้ระบบสารละลายอินทรีย์สามชนิด ได้แก่ n-hexane, acetone และ alcohol ในกรณีของ alcohol พบว่าการใช้ methanol จะให้เลซิทินที่มีกรดไขมัน DHA สูงขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากรดไขมัน DHA ที่มีพันธะคู่ปริมาณสูงถึง 6 พันธะละลายได้ดีใน methanol มากกว่า ethanol การศึกษาปริมาณกรดไขมันในเลซิทินโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของไตรกลีเซอไรด์และ PL พบว่าเลซิทินจากปลาป่นทั้งไทยและเดนมาร์คมีสัดส่วนของ n-3/n-6 สูงกว่าเลซิทินจากถั่วเหลืองอย่างชัดเจน

โดยสรุป การสกัดเลซิทินจากปลาป่นใช้ระบบสารละลายอินทรีย์สามชนิดเรียงตามลำดับดังนี้ acetone, methanol และ n-hexane เลซิทินที่สกัดได้มีสัดส่วนของ PL ประมาณ 20-25% การสกัดเลซิทินจากปลาป่นได้ในปริมาณที่น่าพอใจเช่นนี้เป็นข้อยืนยันว่าปลาป่นสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งการผลิตเซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงได้ อันเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่เมื่อทำการเสริมเลซิทินในอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้ง

การใช้เลซิทินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้เลซิทินในการทดลอง 3 ชนิดคือเลซิทินจากปลาป่นเดนมาร์ค เลซิทินจากปลาป่นท้องถิ่นหรือปลาป่นไทยและเลซิทินจากถั่วเหลือง ทั้งนี้เพื่อทำการเปรียบเทียบผลจากเลซิทินจากปลาป่นเทียบกับเลซิทินที่ใช้กันโดยทั่วไป อาหารที่เตรียมขึ้นมี 4 ชนิด ดังนี้ soybean lecithin – added diet (SAD), Danish fish meal lecithin – added diet (DAD), local fish meal lecithin – added diet (LAD) และ lecithin-free diet หรือ control diet (CD) ในขณะทำการเตรียมพบว่าลักษณะของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทำการผสมลงในน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่พบในอาหารทั้ง 4 ชนิดได้แสดงไว้แล้วในผลการทดลอง

เป็นที่ทราบกันดีแล้วในเรื่องประโยชน์ของการนำเลซิทินเติมในอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อน Paibulkichakul (1996) ทำการรายงานไว้ว่าปริมาณของเลซิทินที่พอเหมาะในการทำให้กุ้งกุลาดำ *P. monodon* อยู่รอดและเจริญเติบโตได้ดีที่สุดนั้นคือที่ความเข้มข้นของเลซิทิน 1.5 กรัม/100 กรัมอาหาร จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ในการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นของเลซิทินเดียวกันคือ 1.5 กรัม /100 กรัมอาหารในอาหาร 3 สูตร ยกเว้นอาหาร CD ซึ่งเป็นอาหารควบคุมที่ไม่มีการเติมเลซิทิน อย่างไรก็ตามแม้อาหารกลุ่มควบคุมและอาหารกลุ่ม SAD จะไม่มีการเติมเลซิทินจากปลาป่นที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นองค์ประกอบแต่อาหารทั้งสองกลุ่มนี้ต่างมีกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นองค์ประกอบร่วมด้วยในรูปของไตรกลีเซอไรด์ ทั้งนี้เนื่องจากอาหารทั้งสองสูตรนี้ รวมถึงอาหาร DAD และ LAD ต่างมีการเติมน้ำมันปลาซึ่งมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง (Table 9) ดังนั้นจากการวิเคราะห์กรดไขมันในอาหารทั้ง 4 ชนิดจึงพบกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงไม่แตกต่างกัน

ผลของการนำเอาอาหารทั้ง 4 ชนิดมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะต่างๆ ได้แก่ zoea mysis และ postlarva 15 เมื่อทำการศึกษาอัตรารอดของกุ้งวัยอ่อนที่ระดับความเค็ม 30 ppt พบว่ากุ้งมีอัตรารอดสูงกว่าเมื่อเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 25 ppt อาจเป็นไปได้ว่าที่ความเค็มระดับ 30 ppt เป็นความเค็มที่ใกล้เคียงกับสภาวะการเพาะเลี้ยงกุ้งจริง ในธรรมชาตินั้นกุ้งที่อยู่ในพื้นที่ทะเลเปิดจะอยู่ที่ระดับความเค็มประมาณ 35 ppt เหตุนี้ที่ระดับความเค็ม 25 ppt จึงค่อนข้างต่ำเกินไปสำหรับกุ้งวัยอ่อนระยะ zoea ในขณะที่ระดับความเค็มที่ 30 ppt ใกล้เคียงสภาพในธรรมชาติมากกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อกุ้งเจริญขึ้นถึงระยะ mysis และ postlarva แล้ว กลับไม่พบความแตกต่างในเรื่องอัตรารอดดังกล่าว อาจอธิบายได้ว่ากุ้งวัยอ่อนในธรรมชาติเติบโตในทะเลเปิดจนเมื่อกุ้งพัฒนามากขึ้น มีความแข็งแรงมากขึ้น มันจึงสามารถย้ายถิ่นจากทะเลเปิดเข้าสู่เขตน้ำกร่อยที่มีระดับความเค็มต่ำกว่าได้

ในการศึกษาการเจริญเติบโตโดยใช้ความยาวของตัวกุ้งที่ระยะ postlarva 15 เป็นเกณฑ์ พบว่าที่ความเค็ม 25 ppt กุ้งที่เลี้ยงด้วย SAD มีความยาวมากกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมเลซิทินจาก

ปลาป่น สิ่งนี้อาจอธิบายได้จากองค์ประกอบของกรดไขมันจำเป็นกลุ่มโอเมก้า 6 คือ linoleic acid และกรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด alpha-linolenic acids กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เป็นกรดไขมันจำเป็นที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสิ่งมีชีวิตโดยทั่วไป (Dahlan 1989) อาหารชนิด SAD มีปริมาณกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้ในปริมาณสูงเมื่อเทียบกับอาหารอีก 3 ชนิด จึงน่าจะเป็นคำอธิบายว่าเหตุใด SAD จึงให้ผลทางด้านการเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งหากเป็นเช่นนี้จริงการแก้ไขอาจทำได้โดยการเสริมกรดไขมันทั้งสองชนิดลงในอาหารสูตรผสมเลซิทินจากปลาป่นเพื่อทำให้ความหลากหลายของกรดไขมันมีมากขึ้นและสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 มีสมดุลมากขึ้น เมื่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็ม 30 ppt อาหารทั้งสี่ชนิดให้ความยาวของกุ้งไม่ต่างกันอาจเป็นไปได้ว่ากุ้งในระดับความเค็มที่ใกล้เคียงธรรมชาตินี้สามารถเจริญและพัฒนาได้ดีขึ้นโดยอาหารให้ผลลดลง อย่างไรก็ตามในการพัฒนาสูตรอาหารอาจจะต้องคำนึงถึงการแปรเปลี่ยนของความเค็มในสภาพการเลี้ยงกุ้งจริง ซึ่งระดับความเค็มอาจถูกเจือจางลงได้จากหลายสถานการณ์ เช่น จากน้ำฝน จากการเปลี่ยนถ่ายน้ำ เป็นต้น การเสริมกรดไขมันโอเมก้า 6 ลงในสูตรอาหารที่มีเลซิทินจากปลาป่นหรือในเชิงกลับกันคือการเติมกรดไขมันโอเมก้า 3 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรูปของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นองค์ประกอบลงในเลซิทินจากถั่วเหลืองที่มีกรดไขมันโอเมก้า 6 เป็นองค์ประกอบหลักจึงน่าจะเป็นทางเลือกเพื่อทำให้อาหารเพาะเลี้ยงมีสัดส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงทั้งสองกลุ่มอยู่ในสมดุลมากขึ้น

นอกเหนือจากว่า linoleic acid และ alpha-linolenic acid จะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของกุ้งแล้ว กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีความยาวมากๆ เช่น eicosapentaenoic (20:5 n-3) และ docosahexaenoic (22:6 n-3) acids ยังเป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำจำพวกกุ้งด้วยเช่นเดียวกัน จึงมีการแนะนำให้เติมกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้ลงในอาหารเพาะเลี้ยงด้วย ทั้งในอาหารเพาะเลี้ยง *P. japonicus* (Kanazawa et al.,1979a), *P. indicus* (Read, 1981) และ *P. chinensis* (Xu et al., 1994a, 1994b) ในกรณีของเลซิทินแม้จะพบว่าสัตว์น้ำเปลือกแข็ง (crustaceans) สามารถสังเคราะห์ฟอสโฟลิปิดได้ (Shieh,1969) แต่การสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เหล่านี้เป็นไปได้ค่อนข้างช้า ดังนั้น จึงมีการแนะนำให้เติมเลซิทินลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อให้สัตว์น้ำได้รับสารสำคัญชนิดนี้จากอาหารในปริมาณที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต (D'Abramo et al., 1981, Kanazawa et al., 1985).

ในการศึกษาที่เคยทำมาที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลพบว่าการเติมเลซิทินจากถั่วเหลืองลงในอาหารจะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตแก่กุ้งกุลาดำวัยอ่อนได้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ข้อมูลที่ยืนยันการศึกษาดังกล่าวและยังพบอีกด้วยว่าการเติมเลซิทินไม่ว่าจะเป็นเลซิทินจากถั่วเหลืองหรือปลาป่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเค็ม 30 ppt จะช่วยให้กุ้งเจริญเติบโตมากกว่าเมื่อไม่มีการเติมเลซิทิน ดัง

นั้น จึงเป็นการสนับสนุนข้อมูลที่ว่าเลซิทินจำเป็นต่อการเจริญเติบโต โดยเลซิทินจากปลาป่นให้ประสิทธิภาพได้ไม่ต่างจากเลซิทินจากถั่วเหลือง เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากข้อเท็จจริงที่ว่าโครงสร้างของเลซิทินเป็นสารจำเป็นต่อการสร้างเมมเบรน การเสริมเลซิทินไม่ว่าในรูปของโอเมก้า 3 หรือโอเมก้า 6 จึงต่างเป็นประโยชน์ การศึกษาครั้งนี้พบว่าที่ความเค็ม 25 ppt กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุมซึ่งไม่มีการเติมเลซิทินมีอัตราการเจริญเติบโตเป็นที่น่าพอใจ ดังนั้นที่ระดับความเค็มต่ำอาจใช้อาหารที่ไม่ผสมเลซิทินในการเลี้ยงได้ อย่างไรก็ตาม ก่อนที่จะทำการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงจริงคงจะต้องพิจารณาประเด็นอื่นๆประกอบด้วย ดังเช่น คุณภาพของเนื้อเยื่อของกุ้งภายหลังการเลี้ยง การทนต่อความเครียด ฯลฯ

นอกเหนือจากปริมาณเลซิทินในอาหารแล้ว ชนิดและความบริสุทธิ์ของเลซิทินยังเป็นอีกเรื่องหนึ่งที่ต้องนำมาพิจารณา Chen and Jenn (1991) ทดลองใช้ purified phosphatidylcholine ที่สกัดได้จากถั่วเหลืองผสมลงในอาหารสิ่งที่พบคืออาหารที่ผสมเลซิทินลักษณะนี้สามารถเพิ่มอัตราการรอดและการเจริญเติบโตของ *P. penicillatus* ได้ การทดลองหลายครั้ง Chen เสริม soybean phosphatidylcholine ที่มีความบริสุทธิ์ 80% ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้ง ผลจากการศึกษาพบว่าจะต้องเติมเลซิทินดังกล่าวลงในอาหารในสัดส่วน 1.25 กรัม/100 กรัมอาหารจึงจะช่วยเร่งการเจริญเติบโตของกุ้ง *P. monodon* juvenile และ *P. penicillatus* ได้ดีที่สุด (Chen 1993, Chen and Jenn, 1991) Coutteau et al. (1996) ทำการเสริม phosphatidylcholine บริสุทธิ์ในปริมาณ 1.5% ลงในอาหารและพบว่าที่ความเข้มข้นนี้จะทำให้กุ้ง *P. vannamei* postlarval เจริญได้ดีที่สุดเช่นกัน Kanazawa et al. (1985) วิจารณ์ไว้ว่า subclass ของ phospholipids ให้ผลต่างๆกัน ทั้งนี้พบว่า soybean phosphatidylcholine และ phosphatidylinositol เป็น subclass ของเลซิทินที่ดีที่สุดที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและอัตรารอดของ *P. japonicus* วัยอ่อน นักวิจัยกลุ่มนี้ยังให้ความเห็นว่า dietary soybean lecithin และ n-3 HUFA ทำงานร่วมกันในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและอัตรารอดของกุ้ง *P. japonicus* วัยอ่อนได้ ในทำนองเดียวกัน D'Abramo et al. (1981) ยังได้แสดงให้เห็นอีกด้วยว่า refined soy phosphatidylcholine ให้ผลในการลดอัตราตายใน *Homerus americanus* ได้ดีกว่าการใช้ bovine phosphatidylethanolamine, soy-phosphatidylinositol และการใช้ non-phospholipids จากข้อมูลที่นำเสนอมานั้นจะเห็นว่าการนำเอาเลซิทินจากถั่วเหลืองมาใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งได้รับการยอมรับกันอย่างกว้างขวาง

เมื่อกุ้งได้รับเลซิทินจากอาหาร เลซิทินที่เข้าสู่ร่างกายจะเป็นประโยชน์ต่อการขนส่งและการใช้ไขมันภายในร่างกาย เมื่อเป็นเช่นนี้ย่อมทำให้การเคลื่อนย้ายของไขมันในร่างกายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลให้การสะสมไขมันในร่างกายเกิดขึ้นได้ดีขึ้นและการนำไขมันไปเป็นพลังงานจะ

ทำได้ดีขึ้นเช่นเดียวกัน (Teshima et al, 1986a, 1986b, 1986c, 1986d; Kontara et al, 1997) การเสริมเลซิทินในอาหารเพาะเลี้ยงจึงได้ประโยชน์ที่สามารถหาเหตุผลได้

ในกรณีของกรดไขมันในอาหาร Kontara et al. (1997) ได้แสดงให้เห็นว่า การเสริม 22:6 n-3 และ 20:5 n-3 หรือ 1% n-3 HUFA ลงในอาหารจะเพิ่มการเจริญเติบโตให้แก่กุ้ง *P. japonicus* postlarvae ได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเสริม HUFA นอกจากนี้ Lim et al. (1997) ยังได้ยืนยันให้เห็นจริงว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในกลุ่ม n-6 และ n-3 ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง juvenile *P. vannamei* นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่ากรดไขมันกลุ่ม n-3 เร่งการเจริญเติบโตได้เร็วกว่า n-6 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดไขมันโอเมก้า 3 ด้วยกัน HUFA (EPA และ DHA) ส่งเสริมการเจริญได้ดีกว่า ALA หรือ 18:3 n-3 ตามปกติแล้วกรดไขมัน ALA สามารถเปลี่ยนไปเป็น EPA และ DHA ได้ด้วยระบบเอนไซม์ภายในร่างกาย อย่างไรก็ตามระบบเอนไซม์อาจเป็นปัญหาทำให้ ALA เปลี่ยนไปเป็น EPA และ DHA ไม่ได้มากดังที่หวัง ดังนั้นในหลายกรณีการเสริม EPA และ DHA โดยตรงจึงให้ผลดีกว่าการเสริม ALA Kanazawa et al (1978, 1979d) ได้แสดงให้เห็นข้อเท็จจริงนี้โดยทำการศึกษาใน *P. japonicus* และพบว่า EPA และ DHA ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่า ALA นอกจากนี้ Read (1981) ยังได้ร่วมยืนยันด้วยว่า การใช้ HUFA ในอาหารที่ใช้เลี้ยง *P. indicus* ช่วยเสริมการเจริญเติบโตได้ดี

มีงานวิจัยจำนวนไม่น้อยที่ให้ข้อมูลว่าองค์ประกอบของกรดไขมันของกุ้งในระยะการวางไข่และกรดไขมันในรังไข่เองมีกรดไขมัน EPA และ DHA ค่อนข้างสูง แสดงว่ากรดไขมันกลุ่มนี้เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของกุ้ง (Teshima and Kanazawa, 1983; Jeckel et al, 1989; Ji and Xu, 1992) Xu et al .(1994a) แสดงให้เห็นว่าปริมาณของ EPA ในไข่มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับอัตราการตกไข่ของ *P. chinensis*. ความสัมพันธ์ที่พบนี้แสดงให้เห็นว่า EPA เกี่ยวข้องหรือแสดงบทบาทในกระบวนการพัฒนาไข่ในขณะที่ DHA แสดงบทบาทในระยะ early embryogenesis ซึ่งเกี่ยวพันกับความสามารถในการวางไข่ของ *P. chinensis* เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าการเจริญและพัฒนาของระบบประสาทส่วนกลางเป็นองค์ประกอบสำคัญของการพัฒนาตัวอ่อนของสัตว์ทั้งหลาย n-3 HUFAs โดยเฉพาะอย่างยิ่ง DHA นับเป็นกรดไขมันตัวสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบประสาทและสมองในระยะ embryogenesis ของสัตว์ชนิดต่างๆ ทั้งปลา (Mourente and Tocher,1992; Tocher et al.,1992) รวมไปถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Neuringer et al.,1986; Kanazawa et al., 1991; Bourre et al., 1992) นอกจากนี้ยังแสดงบทบาทสำคัญในการพัฒนาตัวอ่อนของสัตว์ประเภทกุ้ง ปูและ บทบาทของ DHA กับการพัฒนาตัวอ่อนของสัตว์ดังกล่าวเห็นได้ชัดเจนจากการที่พบความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างปริมาณ DHA ในไข่และความสามารถในการวางไข่ (hatchability)

การทดสอบความเครียด

การทดลองครั้งนี้ทดสอบความทนทานต่อความเครียดของกุ้งวัย Postlarva 15 โดยการย้ายกุ้งจากภาวะความเค็มตามธรรมชาติที่ระดับ 25 และ 30 ppt ลงสู่ความเค็ม 0 ppt หรือในภาวะที่ไม่มีความเค็มเลย ทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งซึ่งกุ้งจะเครียดและเริ่มตายในระยะเวลาต่างๆกัน ผลการศึกษาแม้จะไม่มีการทดสอบนัยสำคัญทางสถิติแต่ได้ข้อสังเกตที่น่าสนใจว่ากุ้งที่ได้รับอาหาร CD หรืออาหารที่ไม่มีเลซิทินจะทนต่อความเครียดได้ต่ำในการทดลองทั้งสองความเค็ม ขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่มีเลซิทินจากปลาป่นทนต่อความเครียดได้ค่อนข้างดี ขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมเลซิทินจากถั่วเหลืองทนต่อความเครียดได้ดีพอสมควรเช่นเดียวกัน

P. monodon postlarvae 15 ที่ได้รับอาหารที่มีเลซิทินในส่วนผสมทนต่อความเครียดได้ดี ข้อมูลนี้ย่อมแสดงให้เห็นว่าเลซิทินมีความสำคัญต่อการปรับตัวของกุ้ง Ree et al. (1994) แสดงให้เห็นว่า *P. monodon* postlarvae ทนต่อ osmotic shock ได้มากขึ้นเมื่อให้อาหารที่มีส่วนผสมของ n-3 HUFA 0.27% ทั้งนี้โดยเปรียบเทียบผลกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มี n-3 HUFA Kanazawa et al. (1985) พบว่า postlarvae *P. japonicus* อายุ 32 และ 54 วันทนต่อความเครียดได้ดีขึ้นเมื่อทำการเสริม m-3 HUFA เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0 ถึง 0.5% (โดยให้มี PC อยู่ในอาหาร) หรือจาก 0.5 ถึง 1% (เมื่ออาหารไม่มี PC) ผลการศึกษาครั้งนั้นอาจแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของ n-3 HUFA ที่มีต่อกลไกการปรับตัวของกุ้งต่อภาวะความเค็มที่เปลี่ยนไป หรือการทนต่อความเครียดที่เกิดขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า dietary DHA และ soybean lecithin ให้ผลในการเพิ่มความทนต่อความเครียดทั้งใน red sea bream (Kanazawa,1997) และ postlarval *P. japonicus* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม PC (Camara,1994)

เหตุใด n-3 HUFA จึงส่งผลทำให้กุ้งทนต่อความเครียด เรื่องนี้ยังไม่เป็นที่กระจ่างชัดนัก จะเป็นผลมาจากกรดไขมันโดยรวมหรือกรด n-3 HUFA แต่เพียงอย่างเดียวนั้นยังไม่สามารถตอบได้ ในขณะนี้ กรดไขมันเข้าไปเป็นองค์ประกอบของเมมเบรนหรือของเหงือกหรืออวัยวะอื่นแล้วในที่สุดส่งผลต่อพฤติกรรมของกุ้งเรื่องนี้ยังไม่เป็นที่ทราบกัน หากทั้งกรดโอเมก้า 3 และเลซิทินต่างให้ผลดีด้วยกันแล้ว การที่กรดไขมันโอเมก้า 3 รวมเข้ากับเลซิทินกลายเป็นโมเลกุลเดียวกันจึงน่าจะให้ผลที่ดียิ่งขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ n-3 HUFA-rich lecithin กลายเป็นโมเลกุลเดียวกัน หากกรดไขมันโอเมก้า 3 ไปปรากฏบนเมมเบรนและให้ผลในการช่วยด้าน osmoregulatory physiology แล้วการที่โอเมก้า 3 ปรากฏบนฟอสโฟลิปิดและปรากฏได้โดยตรงบนเมมเบรนโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการแปรเปลี่ยนจากไตรกลีเซอไรด์ (ในน้ำมัน) เป็นฟอสโฟลิปิด (บนเมมเบรน) ย่อมลดขั้นตอนการสร้างกรดไขมันบนเมมเบรนลงได้มาก การให้อาหารที่มีเลซิทินที่มีกรดโอเมก้า 3 จะช่วยเร่งให้กรดไขมันโอเมก้า 3 จากอาหารไปปรากฏอยู่บนเมมเบรนได้เร็วขึ้น

กรดไขมันที่สะสมในเนื้อเยื่อของกุ้ง

การเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่เสริมเลซิทินซึ่งมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากมายหลายชนิด มีผลทำให้กรดไขมันบางส่วนจากอาหารไปปรากฏอยู่ในเนื้อเยื่อของกุ้ง การศึกษาพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารทุกสูตรต่างสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 และ 6 ในปริมาณต่างๆกัน กุ้งจากการเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีเลซิทินโดยเฉพาะอย่างยิ่งเลซิทินที่สกัดจากปลาป่นสามารถสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 ไว้ในเนื้อเยื่อได้ที่เกิดขึ้นได้เช่นนี้เนื่องจากอาหารสูตร CD แม้ไม่มีเลซิทินจากปลาป่นที่มีโอเมก้า 3 แต่ยังมีน้ำมันปลาที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามเมื่อลองพิจารณาถึงปริมาณกรดไขมันที่สะสมในเนื้อเยื่อของกุ้ง สิ่งที่พบคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมเลซิทินจากปลาป่นไทยจะสะสมกรดไขมัน HUFA ในเนื้อเยื่อได้สูงที่สุด

Chen (1993) พบว่าไขมันในกล้ามเนื้อของ *P. monodon* เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงกุ้งนั้นด้วยอาหารเสริม phosphatidylcholine ในการทดลองกับ *P. japonicus* Teshima et al. (1986a, 1986b) พบว่า ความเข้มข้นของไขมันและเลซิทินหรือฟอสโฟลิปิดในกุ้งมีปริมาณสูงขึ้นหากทำการเสริมอาหารด้วยเลซิทิน Xu et al. (1994b) พบว่า *P. chinensis* สะสมไขมันในเนื้อเยื่อมากขึ้นเมื่อเสริมอาหารด้วย phosphatidylcholine Kontara et al. (1997a, 1997b) สรุปว่า soybean phosphatidylcholine ที่เสริมในอาหารจะช่วยทำให้ทั้งกรดไขมันโอเมก้า 3 และไขมันโดยรวมมีปริมาณสูงขึ้น ในการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยได้ให้กุ้งสองกลุ่มกินอาหารคล้ายกันโดยมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ไม่ต่างกัน มีไขมันโดยรวมไม่ต่างกัน สิ่งที่ต่างกันคืออาหารทั้งสองชนิดมีการเสริมและไม่เสริมเลซิทิน ตามปกติเลซิทินของปลาป่นมีปริมาณ phosphatidylcholine 52.2 mole/100 mole total phospholipids ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่า phosphatidylcholine ที่พบในถั่วเหลืองคือ 32-40% (Dahlan 1989) สิ่งนี้อาจใช้เป็นข้ออธิบายเสริมข้อมูลข้างต้นได้ว่าเหตุใดในการศึกษาของเราครั้งนี้กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นจึงสะสมไขมันและ n-3 HUFA ในเนื้อเยื่อได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยเลซิทินจากถั่วเหลือง ทั้งนี้ก็เพราะเลซิทินจากปลาป่นมี phosphatidylcholine สูงกว่าเลซิทินจากถั่วเหลืองนั่นเอง การเลือกแหล่งของเลซิทินจึงมีความสำคัญหากต้องการให้กรดไขมันสะสมในเนื้อเยื่อของกุ้ง

กุ้งและปลาทะเลที่สะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 ไว้ในเนื้อเยื่อนับเป็นแหล่งของกรดไขมันโอเมก้า 3 ซึ่งสามารถลดอัตราความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ การทดลองครั้งนี้ได้ข้อมูลเบื้องต้นว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นซึ่งเป็นเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูง จะช่วยเพิ่มการรอดของกุ้งเมื่อกุ้งอยู่ในภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของความเค็มหรือการทนต่อความเครียด นอกจากนี้ยังช่วยให้กุ้งสะสมไขมันและกรดไขมันโอเมก้า 3 ในเนื้อเยื่อได้ อันจะมีผล

ต่อการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่เกษตรกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลเบื้องต้น จำเป็นที่จะต้องศึกษาผลของอาหารเสริมเลซิทินจากปลาป่นในกุ้งที่มีอายุมากขึ้นต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2536. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, กระทรวงพาณิชย์. 2539. การประมาณการปริมาณมูลค่ากุ้งแช่แข็งส่งออกไทย.

วินัย ดะห์ลัน. 2533. เลซิทิน : บทบาทใหม่ทางการแพทย์และโภชนาการ. สาส์นยา. : 190-196

Bartlett, G.R. 1958. Phosphorus assay in column chromatography. J. Biol. Chem. 234: 466-468.

Bligh, E.G., and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can.J.Biochem. Physiol. 37: 911-917.

Bourre, J. M., Dumont, O. S., Piciotti, M. J., Pascal, G. A. and Durand, G. A., 1992. Dietary α-linolenic acid deficiency in adult rats for 7 months does not alter brain docosahexaenoic acid content, in contrast to liver, heart and testes. Biochem. Biophy. Acta. 1124 : 119-122.

Briggs, M. R. P., Januncey, K. and Brown, J. H., 1988. The cholesterol and lecithin requirementsof juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semipuriied diets. Aquaculture, 70: 121-129.

Camara, M. R., 1994. Dietary phosphatidylcholine requirements of *Penaeus japonicus* Bate and *Penaeus vannamei* Boone (crustacea, Decapoda, Penaeidae). PhD Dissertation. Univ. of Ghent, Belgium. 173 pages.

Castell, J. D. and Corey, J. F., 1976. Dietary lipid requirements of adult lobsters, *Homarus americanus*. J. Nutr., 106 : 1159-1165.

Chen, H. Y., 1993. Requirements of marine shrimp, *Penaeus monodon*, juveniles for phosphatidylchoine and Cholesterol. Aquaculture. 109 : 165-176.

Chen, H. Y., Jenn, J. S. 1991. Combined effects of dietary phosphatidylcholine and cholesterol on the growth, survival and body lipid composition of marine shrimp, *Penaeus penicillatus*. Aquaculture. 96 : 167-178.

Coutteau, P., Camara, M. R., Sorgeloos, P. 1996. The effect of different levels and sources of dietary phosphatidylcholine on the growth, survival, stress resistance and fatty acid composition of postlarval, *Penaeus vannamei*. Aquaculture. 147 : 261-273.

Dahlan, W. 1989. Intravenous infusion of triacylglycerol-phospholipid complexs in man: effects on fatty acid pattern of plasma and on erythrocyte membrane lipid composition. Ph. D. dissertation, Universite Libre De Bruxelles.

Dahlan, W., Chatnilbandhu, S., na-Nagara, B., and Carpentier, Y. A. 1996. Fish meal lecithin as alternative precursor of docosahexaenoate and choline. Biomed. Environ. Sci. 9: 263-268.

Dahlan, W., Chadnilbhandhu, S., Piyatiratitivorakul, S., na-Nagara, B. 1997a. Boosting omega 3 fatty acid content of intact blood cells by brief interactive contact with liposomes of fish meal lecithin. Proceedings of Chulalongkorn University 80th Anniversary Reserach Conference. Bangkok: Chulalongkorn University, pp. 777-784.

Dahlan W., Iriyama, I., Chadnilbhand, S., Chanprasert, S., Carpentier, Y.A. 1997b. Fats emulsions with lecithins derived from fish meal and soya supply respective n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids to blood cells. The Japanese Journal of Surgical Metabolism and Nutrition 31: 122.

Dahlan, W., Chanprasert, S., Chantanakajornfung, A., Chadhamara, K., na-Nagara, B., Carpentier, Y.A. 1997c. Transfers of Polyunsaturated Fatty Acids from Fishmeal Lecithin-Based Fat Emulsion to Platelets vs Red Blood Cells. Abstract of the 3th Congress of PENSA. Bangkok: The Parenteral and Enteral Nutrition Society of Aisa. pp. 36.

D' Abramo, L. R., Bordner, C. E., Conklin, D. E., Baum, N. A., 1981. Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobster. *Homarus*. Nutr. 111: 425-431.

Jeckel, W. H., de Moreno, J. E. A. and Moreno, V. J., 1989. Biochemical composition, lipid classes and fatty acids in the ovary of the shrimp *Pleoticus muelleri* Bate. Comp. Biochem. Physiol. 92B : 271-276.

Ji, W. J. and Xu, X. L. 1992. Comparative studies on ovarian fatty acid composition analysis during ovarian development of chinese prawn, *Penaeus chinensis*. Mar. Fish. Res. China. 13 : 7-12.

Kanazawa, A. Tokiwa, S., Kayama, M. 1977. Essential fatty acids in the diet of the prawn- Effects of linoleic acid and linolenic acids on growth. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 43(9): 1111-1114.

Kanazawa, A., Teshima, S., Endo, M. and Kayama, M. 1978. Effect of eicosapentaenoic acid on growth and fatty acid composition of the prawn *Penaeus japonicus*. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ. 27: 35-40.

Kanazawa, A. Teshima, S. and Sasaki, M. 1979a. Requirement of prawn, *Penaeus japonicus* for essential fatty acids . Mem. Fac. Fish. Kagoshima University., 33 (1): 63-71.

Kanazawa, A., Teshima, S., Tokiwa, S. and Ceccaldi, H. J., 1979b. Effects of dietary linoleic and linolenic acids on growth of prawn. Oceanologica Acta, 2(1) : 41-47.

Kanazawa, A., Teshima, S., Tokiwa, S., Endo, M., Abdel Razek, F.A., 1979c. Effects of short-necked clam phospholipids on the growth of prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45 : 961-965.

Kanazawa, A., Teshima, S., Tokiwa, S., Kayama, M. and Hirata, M., 1979d. Essential fatty acid in the diet of prawn II. Effect of docosahexaenoic acid on growth. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45 : 1151-1153.

Kanazawa, A., 1982. Penaeid nutrition. In : G. D. Pruder, C. J. Langdon and D. E. Conklin (Edition), Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition : Biochemical and Physiological Approacches to Shellfish Nutrition, Delaware. Special Publication No.2, World Mariculture Society, pp. 87-105.

Kanazawa, A., 1985. Nutrition of penaeid prawns and shrimps. In : Proceeding of the International Conference on Culture of Penaeid Prawns/Shrimps, SEAFDEC Aquaculture : Department, Iloilo. city, Philippines, pp. 123-130.

Kanazawa, A., Teshima, S., Sakamoto, M., 1985. Effect of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. Aquaculture. 50 : 39-49.

Kanazawa, A., Miyazawa, T., Hirono, H., Hayashi, M. and Fujimoto, K. 1991. Possible essentiality of docosahexaenoic acid in Japanese monkey neonates : Occurrence in colostrum and low biosynthetic capacity in neonate brains. Lipid. 26 : 53-57.

Kanazawa, A. 1997. Effect of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. Aquaculture. 155 : 129-134.

Kontara, E. K. M., Coutteau, P., Sorgeloos, P. 1997. Effect of dietary phospholipid on requirement for and incorporation of n-3 highly unsaturated fatty acids in postlarval *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture. 158 : 305-320.

Kontara, E. K. M., Djunaidah, I. S., Coutteau, P., Sorgeloos, P. 1997. Evaluation of nutritional value of native soybean phosphatidylcholine in comparation to hydrogenated and lyso sn-2 phosphatidylcholine for postlarval *Penaeus japonicus* Bate. Arch. Anim. Nutr., in press.

Lepage, G., and Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct tranesterification without prior extraction or purification. J. Lipid Res. 25: 1391-1396.

Lester, R., Cary, M. C., Little, I. M., Cooperstein, L. A. and Dowd, S. R., 1975. Crustacean intestinal detergent promotes sterol solubilization. Science., 189 : 1098-1100.

Lim, C., Ako, H.,Brown, C. L., and Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. Aquaculture. 151 : 143-153.

Mourente, G. and Tocher, D. R., 1992. Effects of weaning onto a pellected diet on docosahexaenoic acid (22:6 n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture. 105 : 363-377.

Neuringer, M., Connor, W. E., Lin, D. S., Barstad, L., and Luck, S., 1986. Biochemical and functional effects of parental and postnatal omega-3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkey. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83 : 4021-4025.

Paibulkichakul, C. 1996. Optimal level of lecithin and cholesterol in diet for black tiger prawn *Penaeus monodon* larvae. M. S. disssertation Chulalongkorn University. Thailand.

Phillips, G.B., and Dodge, J.T. 1967. Composition of phospholipids and of phospholipid fatty acids human plasma. J. Lipid Res. 8: 676-681.

Read, G. H. L., 1981. The response of *Penaeus indicus* (crustacea : penocidea) to purified and compound diets to varying fatty acid composition. Aquaculture. 24 : 245-256.

Rees, J. F., Cure, K., Piyatiratitivorakul, S., Sorgeloos, P., Menasveta, P., 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae : An experimental approach based on Artemia enrichment. Aquaculture. 122 : 193-207.

Shieh, M. S., 1969. The biosynthesis of phospholipids in the lobster. *Homarus americanus*. Comp. Biochem. Physiol. 30 : 179-184.

Simopoulos, A. P.1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 54: 438-463.

Teshima, S., Kanazawa, A., Sasada, H., and Kanazaki, M. 1982. Requirements of larval prawn *Penaeus japonicus* for cholesterol and soybean phospholipids. Mem. Fac. Fish. Agoshima Univ. 31: 193-199.

Teshima, S. and Kanazawa, A., 1983. Variation in lipid composition during the ovarian maturation of the prawn. Nippon Suisan Gakkaishi. 49 : 957-962.

Teshima, S., Kanazawa, A., Kakuta, Y., 1986a. Effects of dietary phospholipids on growth and body composition of the juvenile prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52, 155-158.

Teshima, S., Kanazawa, A., KaKuta, Y., 1986b. Effects of dietary phospholipids on lipid transport in the juvenile prawn. Aquaculture. 52 : 159-163.

Teshima, S., Kanazawa, A., Kakuta, Y., 1986c. Growth, Survival and body composition of the prawn larvae receiving several dietary phospholipids. Mem. Fac. Fish., Kagashima Univ. 35, 17-27.

Teshima, S., Kanazawa, A., Kakata, Y., 1986d. Role of dietary phospholipids in the transport of ^{14}C tripalmitin in the prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 52, 519-524. Teshima, S., Kanazawa, A., Sasada, H. and Kawasaki, M., 1982. Requirements of larval prawn *Penaeus japonicus*, for cholesterol and soybean phospholipids. Mem. Fac. Fish. agoshima Univ., 31: 193-199.

Tocher, D. R., Mourente, G. and Sargent, J. R., 1992. Metabolism of [1-^{14}C] docosahexaenoate (22:6 n-3), [1-^{14}C] eicosapentanoate (20:5 n-3) and [1-^{14}C] linolenate (18:3 n-3) in brain cells from juvenile turbot *Scophthalmus maximus*. Lipid. 27 : 494-499.

Xu, X. L., Ji, W. J., Castell, J. D., and O' Dor, R. K., 1994a. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. Aquaculture. 119 : 359-370.

Xu, X. L., Ji, W. J., Castell, J. D., O' Dor, R. K., 1994b. Essential fatty acid requirement of the Chinese prawn, *Penaeus chinensis*. Aquaculture. 127 : 29-40.