

| | | |
|---------------------------|--|------------|
| Thesis Title | Effects of Carotenoid Pigments from <i>Rhodotorula rubra</i> and <i>Leucaena leucocephala</i> on Colour Change of Fancy Carp (<i>Cyprinus carpio</i> Linn.) | |
| Author | Mr. Nuttaporn Chanchay | |
| Degree | Master of Science (Biotechnology) | |
| Thesis Advisory Committee | Assoc. Prof. Dr. Naiyatat Poosaran | Chirperson |
| | Assoc. Prof. Puntipa Pongpiachan | Member |
| | Asst. Prof. Dr. Bunyat Montien-art | Member |

ABSTRACT

Carotenoids, important pigments used for increase fish colour, can be obtained by chemical synthesis or from natural sources. Chemical process is costly, therefore, biochemical production of carotenoids by microorganisms or plants is preferable. Furthermore, microorganisms and plants, containing carotenoids, can be used directly as feed ingredient. *Rhodotorula rubra* grew well in yeast malt extract medium and produced 30.679 $\mu\text{g} / \text{g}$ (cell dry weight) of carotenoids. The optimal ratio of molasses to water for carotenoid production by *Rhodotorula rubra* in molasses medium, was 1 to 20. The supplementation of 5 per cent (w / v) sucrose in the medium provided the better yield of carotenoid content of 164.54 $\mu\text{g} / \text{g}$ cell dry weight and biomass yield of 0.1964 g / l. The total sugar and the total nitrogen content in supplemented medium were 3.141 and 4.620 g / l, respectively.

To reduce toxic substances in lead tree leaves (*Leucaena leucocephala*), they were dried at 60 °C for 24 h, then soaked in water for 72 h, at room temperature and dried again at 60 °C for 48 h. Mimosine content was reduced from 4.346 to 0.227 per cent or 94.777 per cent of reduction was achieved. In addition, tannin content was reduced from 37.582 to 0.249 per cent or 99.337 per cent of reduction was achieved.

The nutrient composition of yeast (*Rhodotorula rubra*) and lead tree (*Leucaena leucocephala*) were analyzed. It was found that they contained 164.540 and 281.593 $\mu\text{g} / \text{g}$ (cell dry weight) of carotenoids, 39.123 and 25.081 per cent of protein, 3.142 and 4.795 per cent of lipids, and 24.335 and 29.422 per cent of carbohydrates, respectively.

In this experiment, fancy carp were kept in 250 litre a glass aquarium and fed nine test diets. There were a basal diet (as control), a commercial diets, a basal diet which contained pigment from CAROPHYLL Red 30 $\mu\text{g} / \text{g}$ dry weight, a basal diet which contained pigment from *Leucaena leucocephala*. The three levels were 15, 30 and 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ dry weight (three test diets) and a basal diet which contained pigment from *Rhodotorula rubra*. The three levels were 15, 30 and 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ dry weight (three test diets). The diets were fed to the fancy carp for eight weeks. Carotenoids in fish flesh, the changes of L (Lightness), a (Redness) and b (Yellowness) in fish scales and flesh were also determined. It was found that the basal diet supplemented with 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ pigment from *Leucaena leucocephala*, provided ΔW of carotenoid contents in fish flesh (0.7232) which was significantly higher than the other treatments. The basal diet, which contained pigment from *Rhodotorula rubra* 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ (dry weight), provided ΔW of the L (Lightness) value in fish scales and flesh (12.5181 and 10.3987) which decreased significantly higher than the other treatments. The basal diet, which contained pigment from *Rhodotorula rubra* 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ (dry weight), provided ΔW of the a (Redness) value in fish scales and flesh (9.1212 and 7.6818) which were significantly higher than the other treatments. And the basal diet, which contained pigment from *Leucaena leucocephala* 45 $\mu\text{g} / \text{g}$ (dry weight), provided ΔW of the b (Yellowness) value in fish scales and flesh (13.9958 and 9.7720) which were significantly higher than the other treatments. Carotenoid pigments had not effect on absolute growth and BWG of fancy carp, when they were fed with the tested diets contained various pigment sources and levels of carotenoids for 8 weeks.

| | | |
|--------------------------|--|---------------|
| ชื่อเรื่อง | ผลของรงควัตถุแคโรทีนอยด์ที่ได้จาก <i>Rhodotorula rubra</i> และไบโกระถินต่อการเปลี่ยนสีของปลาแฟนซีคาร์พ (<i>Cyprinus carpio</i> Linn.) | |
| ผู้เขียน | นายณัฐพร จันทร์ฉาย | |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) | |
| คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ | รศ.ดร.นัยทัศน์ ภูศรีธัญย์ | ประธานกรรมการ |
| | รศ. พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์ | กรรมการ |
| | ผศ. ดร. บัญญัติ มนเทียนอาสน์ | กรรมการ |

บทคัดย่อ

แคโรทีนอยด์เป็นสารสีที่สำคัญในการเพิ่มความเข้มของสีปลาอาจได้จากธรรมชาติ หรือสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี แต่เนื่องจากแคโรทีนอยด์ที่ได้จากกระบวนการทางเคมีมีราคาแพง ดังนั้น น่าจะมีการใช้แคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ (จุลินทรีย์หรือพืช) เป็นส่วนผสมในอาหารปลาโดยตรง จากการศึกษา *Rhodotorula rubra* เพาะเลี้ยงในอาหาร yeast malt extract medium พบว่าสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 30.679 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อทำการศึกษาลักษณะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตรงควัตถุแคโรทีนอยด์โดยใช้กากน้ำตาลเป็นอาหาร พบว่าที่ความเจือจางของกากน้ำตาลต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 20 โดยเติมน้ำตาลซูโครส 5.00 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดถึง 164.540 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง, ปริมาณมวลเซลล์เท่ากับ 0.1964 กรัมต่อลิตร และอาหารกากน้ำตาลเจือจางดังกล่าวมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) เท่ากับ 3.141 และ 4.620 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การศึกษาลดปริมาณสารพิษในไบโกระถินทำได้โดยอบไบโกระถินสดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแช่น้ำเป็นเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และนำมาอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสามารถลดปริมาณสารไมโมซิน และแทนนินได้สูงสุดถึง 94.777 และ 99.337 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบคุณค่าทางอาหารของยีสต์ (*Rhodotorula rubra*) และ ไบโกระดิน (*Leucaena leucocephala*) พบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 164.540 และ 281.593 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง, โปรตีน 39.123 และ 25.081 เปอร์เซ็นต์, ไขมัน 3.142 และ 4.795 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 24.335 และ 29.422 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดลองเลี้ยงปลาแพนซีคาร์พในตู้กระจกขนาดความจุ 250 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร 9 สูตร ดังนี้คือ สูตรอาหารพื้นฐาน (ชุดควบคุม), สูตรอาหารทางการค้า, สูตรอาหารควบคุมที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (CAROPHYLL Red) 30 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง, สูตรอาหารควบคุมที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากกระถิน (*Leucaena leucocephala*) 3 ระดับ คือ 15, 30 และ 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (รวม 3 สูตร) และสูตรอาหารควบคุมที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากยีสต์ (*Rhodotorula rubra*) 3 ระดับ คือ 15, 30 และ 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (รวม 3 สูตร) โดยให้กินเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ที่เพิ่มขึ้นในเนื้อปลา, ค่าความสว่าง (L : Lightness), ค่าสีแดงและสีเขียว (a : Redness) และค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (b : Yellowness) ที่เปลี่ยนแปลงไปในเกล็ดปลา และเนื้อปลาสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จากการทดลองพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากกระถิน 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งให้ค่าผลต่างระหว่างสัปดาห์ที่ 1 และ 8 (ΔW) ของปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นมากกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.7232, ปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากยีสต์ 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งให้ค่า ΔW ของค่าความสว่างในเกล็ดปลา และเนื้อปลาลดลงมากกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ 12.5181 และ 10.3987, ปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากยีสต์ 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ให้ค่า ΔW ของค่าสีแดงและสีเขียวในเกล็ดปลา และเนื้อปลาเพิ่มขึ้นมากกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 9.1212 และ 7.6818, ปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ประกอบด้วยแคโรทีนอยด์จากกระถิน 45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ให้ค่า ΔW ของค่าสีเหลืองและสีน้ำเงินในเกล็ดปลา และเนื้อปลาเพิ่มขึ้นมากกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 13.9958 และ 9.7720 ตามลำดับ และจากการทดลองพบว่าแหล่ง และปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่ใช้ในอาหารปลาแต่ละสูตรไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาแพนซีคาร์พ