สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ

SELECTION OF ALGAE AS FEED SUPPLEMENT FOR BLACK TIGER SHRIMP (*PENAEUS MONODON*)

T058533

ประภาศิริ ศรีบุญเรือง

PRAPASIRI SRIBOONRUANG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-15-1151-5

QW.
2/3441
2547
ส.1

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 58533
วัน,เดือน,ปี 25 ส.ค. 2549

b.11422634
i.....

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SELECTION OF ALGAE AS FEED SUPPLEMENT FOR BLACK TIGER SHRIMP (*PENAEUS MONODON*)

PRAPASIRI SRIBOONRUANG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMEMT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2004

ISBN 974-15-1151-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ
นักศึกษา	นางสาวประภาศิริ ศรีบุญเรือง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.สุริยา สาสนรักกิจ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เพื่อคัดเลือกสาหร่ายที่ใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในระยะโพสลาวา (P_{23}) สาหร่ายที่ใช้ในการทดลองมี 5 สายพันธุ์ คือ *Spirulina* sp.TISTR8250, *Chlorella* sp.TISTR8261, *Scenedesmus* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. นำสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์เลี้ยงในสูตรอาหารเฉพาะเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการสร้างแคโรทีนอยด์ โดยศึกษาถึงความเข้มข้นของไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรด-เป็นด่างเริ่มต้นและความเข้มแสง จากผลการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นสาหร่ายที่สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม พบว่าสาหร่ายนี้ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 4.78 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลิตเซลล์ได้ 1.22 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร การนำสาหร่ายมาเป็นอาหารเสริมในอาหารเลี้ยงกุ้ง ทำได้โดยการนำผงสาหร่ายที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็งมาผสมกับอาหารกุ้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าอาหารกุ้งที่เติมผงสาหร่าย 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จะได้กุ้งที่ผลิตสีได้ดีที่สุดคือพบแคโรทีนอยด์ 119.41 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักกุ้งสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Selection of Algae as Feed Supplement for Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)
Student	Miss Prapasiri Sriboonruang
Student ID.	42065201
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2004
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nuanphan Naranong
Thesis Co - Advisor	Dr. Suriya Sassanarakkit

ABSTRACT

This study was designed to determine the selection of algae as feed supplement for black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in postlarvae (P_{23}). Five algal strains used in the study were *Spirulina* sp.TISTR8250, *Chlorella* sp.TISTR8261, *Scenedesmus* sp., *Chaetoceros* sp. and *Dunaliella* sp. Each algae was cultivated in a suitable medium and optimal conditions for growth and carotenoid production including nitrate, phosphate, magnesium concentrations, initial pH and light intensity were investigated. From the results, *Chlorella* sp.TISTR8261 was selected as the highest carotenoid- producing ability. The strain TISTR8261 produced 4.78 mg carotenoid/l with 1.22 g dry weight/l when cultivated in the optimal condition. For shrimp feed supplement, the algal cells were lyophilized after that it was mixed in the shrimp feed at various concentrations. The high level of pigment synthesis of the shrimp was obtained when 4 % algal dry weight was added in the shrimp feed with a production of 119.41 µg carotenoid/ g wet weight.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดีด้วยคำแนะนำและคำปรึกษาจากอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และความเมตตาจากท่าน ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.สุริยา สาสนรักกิจ ผู้อำนวยการศูนย์เทคโนโลยีปุ๋ย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา คำตักเตือน รวมทั้งความอนุเคราะห์ทุน อุปกรณ์และสถานที่ซึ่งช่วยให้ผู้ทำวิจัยสามารถดำเนินการวิจัยไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ผศ. วีนา ชูโชติ และ ผศ. สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ที่ให้คำแนะนำแก่ผู้ทำวิจัยขอขอบพระคุณ

กราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้โอกาสลูกเรียนและทำวิทยานิพนธ์ คอยให้กำลังใจรวมทั้งคุณน้าและพี่น้องด้วย

ขอขอบคุณพี่กนกอร พี่อัจฉรา ที่ให้คำปรึกษาดี ๆ และพี่ ๆ น้อง ๆในห้องปฏิบัติการสาหร่ายล่างที่ช่วยเหลือในงานที่ต้องใช้แรง

ขอบคุณพี่ ๆ ที่ศูนย์เทคโนโลยีปุ๋ยที่อำนวยความสะดวกและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณประชา กองสุข สำหรับกำลังใจที่มีมาโดยตลอด

ประภาศิริ ศรีบุญเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ..... IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญรูป..... VII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์..... 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....1

1.3 สมมติฐานของการศึกษา..... 2

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย..... 2

1.5 ขอบเขตการวิจัย..... 2

1.6 ขั้นตอนการศึกษา..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 กุ้งกุลาดำ 3

2.2 สาหร่าย.....7

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 16

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 16

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง..... 18

3.3 การวิเคราะห์..... 22

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....26

4.1 การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ..... 26

4.1.1 ไนเตรท..... 26

4.1.2 ฟอสเฟต.....34

4.1.3 แมกนีเซียม.....42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.4 ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหาร 43
4.1.5 ความเข้มแสง.....55
4.1.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต.....56
แคโรทีนอยด์
4.2 การเลี้ยงกุ้ง.....71
4.2.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้ง..... 71
4.2.2 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง..... 73
4.2.3 ตรวจคุณภาพกุ้ง..... 74
4.2.4 คุณภาพน้ำบางประการที่ใช้เลี้ยงกุ้ง..... 75

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 80

บรรณานุกรม..... 82

ภาคผนวก ก 87
ภาคผนวก ข 90
ภาคผนวก ค 95

ประวัติผู้เขียน..... 105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงสีของสาหร่ายในดิวิชันต่าง ๆ.....9

2.2 แสดงตัวอย่างสาหร่ายที่นำไปใช้ประโยชน์.....13

2.3 ชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำในปัจจุบัน..... 14

4.1 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของ.....28
สาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.2 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของ.....36
สาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.3 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์.....44
ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.4 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์.....49
ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.5 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของ.....57
สาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.6 แสดงผลของสภาวะปกติและสภาวะปรับปรุงต่อการเจริญ.....65
และแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.7 แสดงการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....72

4.8 แสดงอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....73

4.9 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ.....74

4.10 แสดงช่วงอุณหภูมิและอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำที่ใช้ใน..... 75
การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

4.11 แสดงค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.....76

4.12 แสดงค่าความเค็มของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งของอาหารสูตรต่าง ๆ.....76

4.13 แสดงค่าแอมโมเนียน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.....77

4.14 แสดงค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.....78

4.15 แสดงค่าซีโอดี.....78

4.16 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อ..... 79
Vibrio sp.ในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ลักษณะและส่วนต่าง ๆ ของกุ้ง....4

2.2 วงจรชีวิตกุ้ง....5

2.3 หน่วยไอโซพรีน....10

2.4 ไลโคพีน....10

2.5 โครงสร้างของ แอลฟา, เบต้า และ แกมมา – แคโรทีน....11

2.6 โครงสร้างของแซนโทฟิลล์บางชนิด....12

4.1 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ....29
Chlorella sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.2 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ....29
Chlorella sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.3 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ....30
Scenedesmus sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.4 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ....30
Scenedesmus sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.5 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ....31
Spirulina sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.6 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ....31
Spirulina sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.7 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ....32
Chaetoceros sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.8 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ....32
Chaetoceros sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.9 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ....33
Dunaliella sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.10 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ....33
Dunaliella sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.11 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ 37
Chlorella sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.12 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ..... 37
Chlorella sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.13 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบของ 38
Scenedesmus sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.14 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ 38
Scenedesmus sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.15 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ..... 39
Spirulina sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.16 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ 39
Spirulina sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.17 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ 40
Chaetoceros sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.18 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ 40
Chaetoceros sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.19 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ..... 41
Dunaliella sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.20 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ..... 41
Dunaliella sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.21 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ..... 45
Chlorella sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.22 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ..... 45
Chlorella sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.23 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ..... 46
Scenedesmus sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.24 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....46
Scenedesmus sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.25 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ.....47
Spirulina sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.26 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....47
Spirulina sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.27 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ.....50
Chlorella sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.28 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....50
Chlorella sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.29 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ.....51
Scenedesmus sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.30 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....51
Scenedesmus sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.31 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโต.....52
ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.32 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์.....52
ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.33 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ.....53
Chaetoceros sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.34 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....53
Chaetoceros sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.35 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ.....54
Dunaliella sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.36 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ.....54
Dunaliella sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.37 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261.....58
เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.38 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 58
ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.39 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. 59
เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.40 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp.....59
ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.41 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.TISTR8250.....60
เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.42 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250.....60
ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.43 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. 61
เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.44 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chaetoceros* sp. 61
ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.45 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella* sp. 62
เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.46 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Dunaliella* sp.....62
ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.47 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....66
ปรับปรุงของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.48 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....66
ปรับปรุงของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.49 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....67
ปรับปรุงของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.50 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....67
ปรับปรุงของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.51 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....68
ปรับปรุงของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.52 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....68
ปรับปรุงของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.53 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....69
ปรับปรุงของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.54 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....69
ปรับปรุงของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.55 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....70
ปรับปรุงของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

4.56 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่.....70
ปรับปรุงของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

4.57 สีกุ้งหลังต้มของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของวิทยานิพนธ์

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกกุ้งกุลาดำเป็นรายใหญ่ของโลก โดยมีพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำประมาณ 45,000 ไร่ ผลผลิตปีละประมาณ 250,000 - 300,000 ตัน และมีส่วนแบ่งตลาดโลกประมาณร้อยละ 30 และในปี 2544 ไทยเราส่งออกกุ้งกุลาดำมีมูลค่าทั้งสิ้น 86,242 ล้านบาท โดยเฉพาะตลาดนอกประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา รองลงมาคือญี่ปุ่นและสหภาพยุโรปหรืออียู ในปี 2542 สหรัฐอเมริกานำเข้ากุ้งแช่เย็นแช่แข็งทั้งหมด 282,000 ตัน เป็นกุ้งจากไทย 75,136 ตัน คิดเป็นร้อยละ 27 กุ้งแปรรูปนำเข้าทั้งหมด 48,545 ตัน เป็นกุ้งจากไทย 38,900 ตันคิดเป็นร้อยละ 80 (ศศิมา, 2545) จะเห็นได้ว่ากุ้งที่ส่งออกของไทยมีส่วนแบ่งของตลาดสูงมาก ซึ่งตลาดต่างประเทศเหล่านี้สามารถรองรับผลผลิตกุ้งของไทย และมีแนวโน้มว่าความต้องการผลิตได้เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ การพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีมากขึ้น โดยมีการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแทนอาหารจากธรรมชาติเพื่อทำให้ผลผลิตต่อพื้นที่สูงขึ้น ซึ่งอาหารสำเร็จรูปดังกล่าวได้มีการพัฒนาให้มีคุณค่าทางอาหารต้องเพียงพอต่อความต้องการของกุ้ง และทำให้กุ้งเจริญเติบโตได้ดี แต่ยังมีปัญหาที่ทำให้กุ้งที่เลี้ยงเจริญเติบโตไม่แน่นอน อ่อนแอ เป็นโรคง่าย มีอัตราการรอดต่ำ นอกจากนี้ยังมีสีผิดธรรมชาติ (มีสีฟ้า) เพราะได้รับเม็ดสีไม่เพียงพอเนื่องจากแพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในบ่อเลี้ยงมีจำนวนน้อยไม่พอต่อความต้องการของกุ้งซึ่งอยู่กันอย่างหนาแน่น (ชลอ, 2543)

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้จึงได้นำสาหร่ายซึ่งเป็นแหล่งอาหารธรรมชาติมาเป็นส่วนผสมของอาหารกุ้ง เพื่อสาหร่ายจะได้เป็นอาหารเสริมที่ดีสำหรับลูกกุ้งกุลาดำทั้งในด้านการเจริญเติบโต เพิ่มอัตราการรอด และเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 คัดเลือกสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตดีและมีศักยภาพสูงในการสร้างแคโรทีนอยด์เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ

1.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย

1.2.3 ศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารแต่ละสูตร

1.2.4 ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดตายของลูกกุ้งในอาหารแต่ละสูตร

1.2.5 ศึกษาคุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำบางประการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

สาหร่ายสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมจะมีอัตราการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์สูงและเมื่อนำสาหร่ายมาเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะทำให้กุ้งเจริญเติบโตมีสีสันตามตลาดต้องการ

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

ณรงค์ศักดิ์ (2533) ได้เลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่าย *Spirulina* ในรูปผงแห้ง เมื่อนำมาเลี้ยงกุ้งพบว่ากุ้งมีสีสันเพิ่มมากขึ้น จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาสาหร่ายชนิดอื่น ๆ นอกจาก *Spirulina* ซึ่งมีการสะสมแคโรทีนอยด์อยู่ด้วย โดยแนวทางการทดลองได้รวบรวมมาจากงานวิจัยของนักวิทยาศาสตร์หลายท่านที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์และการเลี้ยงกุ้งกุลาดำดังแสดงในบรรณานุกรม

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้นำสาหร่ายจากคลังเก็บเชื้อจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มหาวิทยาลัยบูรพา และสาหร่ายที่แยกได้จากธรรมชาติ นำมาคัดเลือกจากการแปรผันไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นและความเข้มแสง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ณ. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ วว. (บางเขน) หลังจากนั้นนำมาผสมเป็นอาหารเสริมเพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ศูนย์เทคโนโลยีปุ้ย วว. (รังสิตคลอง 5) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1.6 ขั้นตอนการศึกษา

นำสาหร่ายมาทำการทดลองคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการเจริญและการสร้างแคโรทีนอยด์ โดยคัดเลือกจากการแปรผันธาตุอาหารไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นและความเข้มแสง ในระดับห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นจะนำสาหร่ายที่คัดเลือกได้ มาทำการเพาะเลี้ยงขยายในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1,000 ลิตร เพื่อให้ได้ปริมาณสาหร่ายที่ต้องการนำมาทำเป็นผงและผสมกับอาหารกุ้งตามอัตราส่วนต่าง ๆ ที่กำหนดและนำมาเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ศึกษาคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งบางประการและปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

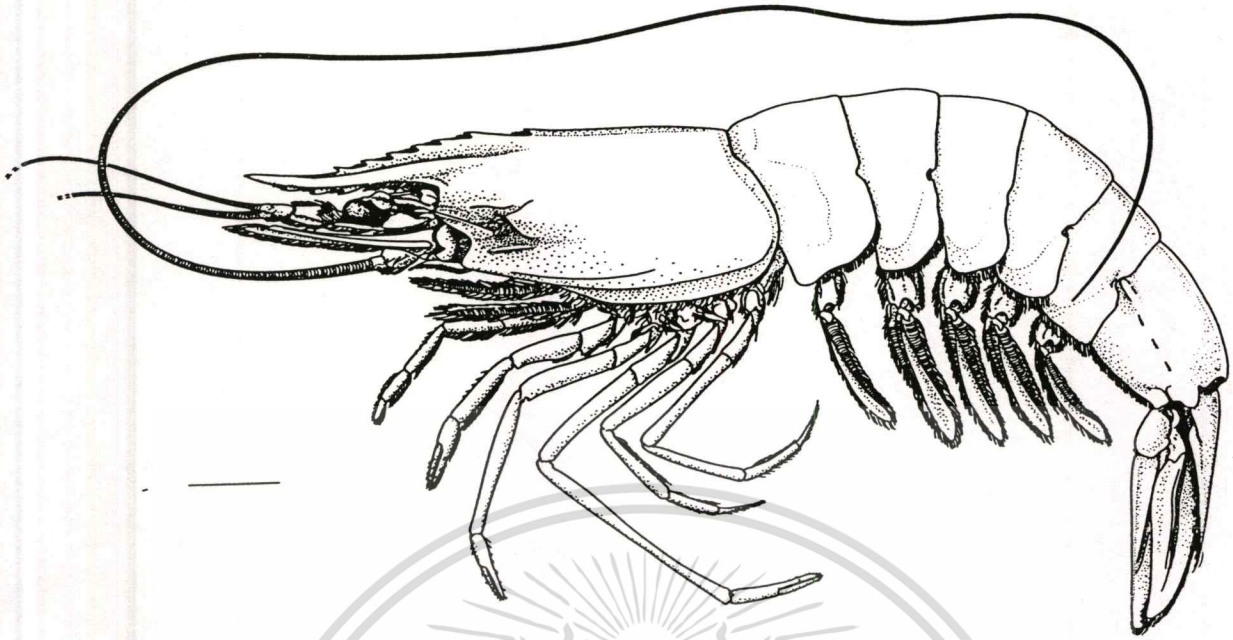
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ หรือกุ้งกะลา หรือกุ้งม้าลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* และมีชื่อเป็นภาษาอังกฤษว่า Tiger prawn กุ้งชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Penaeidae กุ้งมีลำตัวเป็นข้อปล้อง ทั้งหมดมีประมาณ 19 ปล้อง แต่ละปล้องมีระยางค์ 1 คู่ ระยางค์แต่ละคู่มีหน้าที่แตกต่างกัน ลำตัวของกุ้งแบ่งออกได้ 3 ส่วนใหญ่ ๆ คือ หัว อกและลำตัว ส่วนหัวของกุ้งติดกับอก มีเปลือกคลุม มีห้าปล้องแต่รวมเป็นปล้องเดียว ตอนหน้าสุดของปล้องที่หนึ่งนั้นเปลือกหุ้มตัวจะยื่นเป็นฟันแหลมไปข้างหน้าเรียกว่ากรี ใต้ส่วนนี้ลงมามีตาหนึ่งคู่ ปากกุ้งอยู่ระหว่างขากรรไกร ส่วนหัวมีระยางค์ห้าคู่ สองคู่แรกเป็นหนวดใช้ในการสัมผัส ระยางค์คู่ที่สามได้แก่ขากรรไกรล่าง มีหน้าที่ในการขบเคี้ยวอาหาร ส่วนคู่ที่สี่และคู่ที่ห้าเป็นขากรรไกรบน มีหน้าที่เช่นเดียวกับขากรรไกรล่าง (บรรจง, 2521)

ส่วนอกมีแปดปล้อง ได้แก่ปล้องที่ 6 – 13 ระยางค์สามคู่แรก (ระยางค์คู่ที่ 6 คู่ที่ 7 คู่ที่ 8) อยู่บนอก เรียกว่า maxillipeds มีหน้าที่ช่วยในการกินอาหารระยางค์คู่ที่ 9 คู่ที่ 10 คู่ที่ 11 มีลักษณะเป็นก้าม ก้ามแต่ละอันจะมีขนาดและความยาวเท่ากัน อันเป็นลักษณะเฉพาะของกุ้งทะเลในวงศ์ Penaeidae กุ้งบางวงศ์ที่ปลายขาเดินสองคู่แรกแม้จะเป็นก้ามแต่ก็มีขนาดไม่เท่ากัน คือใหญ่อันหนึ่ง เล็กอันหนึ่ง ระยางค์สามคู่นี้ มีหน้าที่ช่วยในการเดิน เคลื่อนไหว และทำความสะอาดลำตัว ลำตัวมีหกปล้อง เปลือกปล้องท้องอันที่สองไม่ทับปล้องแรก ระยางค์คู่ที่ 14 คู่ที่ 15 คู่ที่ 16 คู่ที่ 17 และคู่ที่ 18 มีลักษณะคล้ายในพายใช้สำหรับว่ายน้ำ ส่วนระยางค์คู่ที่ 19 หรือหางประกอบด้วยแพนหางและหางรูปพัด ยกขึ้นลงได้ตามประสงค์ (บรรจง, 2521) ในขณะที่กุ้งยังมีชีวิตอยู่ลำตัวจะเป็นสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้อง ๆ โคนขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้อง ๆ เปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน หนวดมีสีดำไม่มีลาย ฟันกรีด้านบนมี 7 – 8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ ร่องข้างกรีทั้งสองด้านมีลักษณะแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีอันสุดท้าย ที่ขาเกินคู่ที่ 5 ไม่มีระยางค์อันนอก ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำได้แก่น่านน้ำแถบไต้หวัน ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และที่พบมากได้แก่ ออสเตรเลียและอินเดีย กุ้งชนิดนี้อยู่ในเขตร้อนชอบอาศัยอยู่ในบริเวณน้ำลึก ห่างออกจากฝั่งและชอบพื้นทะเลที่เป็นดินทราย สามารถทนอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและความเค็มต่ำ เช่น บริเวณป่าชายเลน เป็นกุ้งที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ลักษณะและส่วนต่าง ๆ ของกุ้ง (ที่มา :Farfante และ Kensley, 1997)

2.1.1 การวิวัฒนาการและการเปลี่ยนรูปร่างของกุ้ง

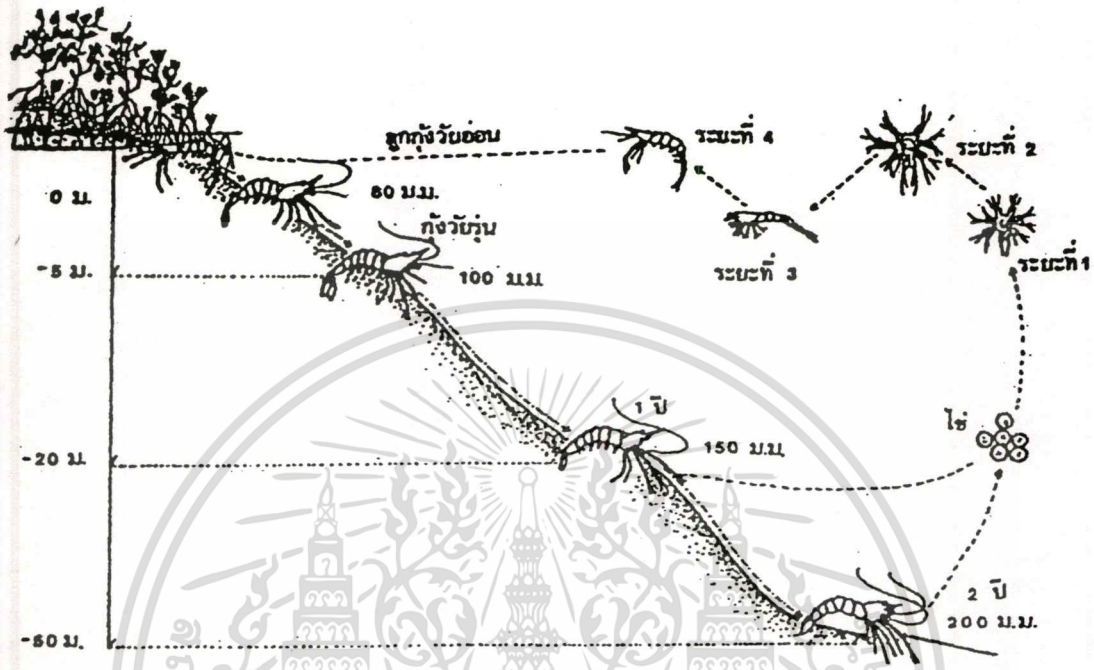
2.1.1.1 ลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะหนึ่ง (Nauplius) เป็นลูกกุ้งที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ จะมีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ระยะนี้ลูกกุ้งยังไม่กินอาหาร แต่จะได้อาหารส่วนใหญ่จากถุงอาหารที่ติดตัวมาและจะมีชีวิตส่วนใหญ่อยู่ตามหน้าดิน กุ้งระยะนี้กินเวลาประมาณ 3 วัน

2.1.1.2 ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่สอง (Protozoea) ลูกกุ้งจะมีลำตัวยาวขึ้น ส่วนหัวโตเห็นได้ชัด ลูกกุ้งจะค่อย ๆ ลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำ และเริ่มกินอาหาร อาหารของลูกกุ้งในระยะนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแพลงก์ตอนพืชเล็ก ๆ กุ้งระยะนี้กินเวลาประมาณ 4 - 5 วัน

2.1.1.3 ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่สาม (Mysis) หลังออกไข่ประมาณ 9 – 10 วัน ลูกกุ้งระยะนี้มีลักษณะคล้ายพ่อแม่มากขึ้น มีการลอกคราบประมาณ 3 ครั้ง กุ้งระยะนี้จะมีนิสัยในการกินอาหารจำพวกไรน้ำเค็ม (ประพันธ์, 2530) ลูกกุ้งสามารถมองเห็นได้ชัด กุ้งระยะนี้กินเวลาประมาณ 3 - 4 วัน (วีณะ และอหิงส์, 2531)

2.1.1.4 ลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะที่สี่ (Postlarva) ระยะโพสลาวา คือระยะตัวอ่อนขั้นสุดท้าย ระยะนี้ลูกกุ้งจะมีตัวยาวประมาณ 5.50 มิลลิเมตร ลูกกุ้งมีระยางค์ครบเหมือนกุ้งเต็มวัย ลูกกุ้งจะวิวัฒนาการไปเรื่อย ๆ จนเข้าสู่กุ้งวัยรุ่น หลังการลอกคราบแต่ละครั้งรูปร่างลักษณะจะเปลี่ยนแปลงไปสมบูรณ์ยิ่งขึ้น กุ้งระยะนี้จะเลี้ยงตัวอยู่บริเวณป่าไม้ชายเลนหรือในแหล่งน้ำกร่อยประมาณ 3 – 4 เดือน ก็จะโตเป็นกุ้งวัยรุ่น เมื่ออายุได้ 6 เดือน กุ้งจะเดินทางออกสู่ทะเลเพื่อผสมพันธุ์ต่อไป (บรรจง, 2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตกุ้ง (ที่มา : บรรจง, 2521)

2.1.2 การลอกคราบ

กุ้งจำเป็นต้องลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโต ทั้งนี้เพราะเปลือกกุ้งเป็นอวัยวะที่ไม่สามารถเพิ่มขนาดได้เหมือนกับเปลือกหอยหรือกระดองเต่าได้ ตามปกติก่อนการลอกคราบกุ้งกินอาหารน้อยลง ระหว่างการลอกคราบกุ้งไม่กินอาหาะและหลังการลอกคราบกุ้งกินอาหารมากขึ้นเพื่อชดเชยพลังงานที่ใช้ไปในการลอกคราบ ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ของพลังงานที่กุ้งได้รับจากอาหาร และพลังงานจำนวนนี้ส่วนใหญ่ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ กุ้งใช้ในการสร้างเปลือกคลุมลำตัวแทนส่วนที่ลอกทิ้งไป (เวียง, 2542) การลอกคราบของกุ้งแต่ละครั้งอยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาทส่วนปลายและฮอร์โมนสองชนิดที่อยู่ในก้านตา ดังนั้นถ้ามีการตัดก้านตาออกจะทำให้กุ้งลอกคราบได้เร็วขึ้น แต่โดยทั่วไปกุ้งจะลอกคราบช้าหรือเร็วนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ หลายอย่างด้วย เช่น วัยของกุ้ง อาหาร แสง และอุณหภูมิ ในการลอกคราบของกุ้งกุลาดำจะสูญเสียสารรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ไปประมาณร้อยละ 30 ซึ่งสารรงควัตถุส่วนใหญ่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อผิวชั้นนอก (epidermal tissue) และเปลือก (exoskeleton) (สุกิจ และพูนสิน, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ชนิดของรงควัตถุที่พบในกุ้ง

รงควัตถุที่พบในครัสเตเซียนจำพวกกุ้งมี 6 ชนิด ได้แก่

2.1.3.1 ฮีโมไซยานิน (hemocyanin) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่พบในสัตว์ 2 ไฟลัม คือ มอลลัสกา และ อาร์โทรโปดา ซึ่งจะพบอยู่ในเลือดและในเซลล์ เป็นโปรตีนที่มีทองแดงมาเกาะอยู่ซึ่งสามารถจับกับออกซิเจนได้จึงทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ

2.1.3.2 ไรโบฟลาวิน (riboflavin) และอนุพันธ์ พบในเนื้อเยื่อของกุ้งในรูปของฟลาวิน อะดีนิน ไดนิวคลีโอไทด์ (flavin adenine dinucleotide : FAD) ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขนย้ายอิเลคตรอนในกระบวนการหายใจและออกซิเดชัน

2.1.3.3 เทอริดิน (pteridines) เป็นสารประกอบที่สามารถละลายได้ในน้ำมีทั้งชนิดที่มีสีและไม่มีสี ทำหน้าที่ในกระบวนการสร้างเมลานิน (melanogenesis)

2.1.3.4 เมลานิน (melanin) เป็นรงควัตถุให้สีน้ำตาลจนถึงสีดำ เกี่ยวข้องกับการรับแสงในการมองเห็น

2.1.3.5 โอมโมโครม (ommochromes) พบในสัตว์ที่ไม่มีการสร้างเมลานิน โอโมโครมในตาจะทำหน้าที่แทนเมลานิน

2.1.3.6 แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รงควัตถุนี้อยู่ในพลาสติด (plastids) ภายในไซโต - พลาสซึมของเซลล์ แคโรทีนอยด์ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในไขมัน สามารถอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ คือ โครโมโปรตีน (chromoproteins) และเป็นสารเชิงซ้อนที่พบทั่วไปในสัตว์พวกครัสเตเซียน ซึ่งสัตว์น้ำจะได้แคโรทีนอยด์จากอาหารตามธรรมชาติ (Pan และคณะ, 2001)

2.1.4 ส่วนประกอบของอาหารกุ้ง

ในธรรมชาติกุ้งกุลาดำกินทั้งพืชและสัตว์ ทั้งที่มีชีวิต ตาย และเน่าเปื่อย พฤติกรรมในการกินอาหารและชนิดของอาหารที่กินแตกต่างกันไปตามขนาดของกุ้ง กุ้งวัยอ่อนระยะโปรโตซูเอียและระยะไมซิสหากินกลางน้ำและกินแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ ตามลำดับ หลังจากคว่ำตัวแล้วหากินตามพื้นท้องน้ำ กุ้งที่นำมาเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นกุ้งที่คว่ำแล้วอย่างน้อย 15 วัน (P_{15}) อาหารที่เกษตรกรนิยมในขั้นนี้แยกเป็น 2 ประเภท คือ อาหารสด เช่น เนื้อหอยบดหรือสับ และอาหารอัดเม็ดหรืออาหารสำเร็จรูป (เวียง, 2542) ซึ่งอาหารสำเร็จรูปของกุ้งนั้นต้องมีโภชนาการในอาหารมากกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่น ส่วนประกอบทางโภชนาการที่กุ้งต้องการมีดังต่อไปนี้

2.1.4.1 โปรตีน กุ้งต้องการโปรตีนเพื่อการดำรงชีวิตและสร้างความเจริญเติบโตแก่ร่างกาย เพื่อประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์และควบคุมปริมาณน้ำและเกลือในร่างกาย แหล่งโปรตีนที่ดีสำหรับอาหารกุ้งคือ ปลาหมึกป่น ปลาป่น ปลาสด เปลือกและหัวกุ้งป่น กากถั่วเหลือง และยีสต์

2.1.4.2 คาร์โบไฮเดรท ได้แก่ แป้งและน้ำตาล และสารอาหารที่ช่วยในการขับถ่ายที่เรียกว่า เยื่อใย นอกจากเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญแก่เซลล์ต่าง ๆ ในตัวกุ้งแล้วยังถูกนำไปสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นไคติน ซึ่งมีความสำคัญต่อการสร้างหรือการแข็งตัวของเปลือกกุ้ง ถ้าอาหารไม่มีคาร์โบไฮเดรทอยู่เลย กุ้งก็จะใช้โครงสร้างของคาร์บอนจากโปรตีนไปสร้างไคติน ดังนั้นคาร์โบไฮเดรทในอาหารจะเป็นผู้ช่วยประหยัดการใช้โปรตีนในการสร้างไคติน (มะลิ, 2531) แหล่งคาร์โบไฮเดรทที่มักใช้เป็นอาหารกุ้งคือ ปลายข้าว รำข้าว ข้าวโพด ข้าวกล้อง ข้าวฟ่าง และมันเส้น

2.1.4.3 เยื่อใย เป็นสารอาหารที่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า กุ้งนำไปใช้ได้หรือไม่เพียงใด แต่เยื่อใยทำหน้าที่ให้อาหารผ่านทางเดินอาหารได้สะดวกถ่ายออกง่าย วัตถุดิบอาหารที่มีเยื่อใยมากคือ รำ และ กากกุ้งป่น

2.1.4.4 ไขมัน เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพการเจริญเติบโต การลอกคราบและการสืบพันธุ์ของกุ้ง แหล่งที่มาของไขมันคือ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปลา มันกุ้ง อาหารกุ้งถ้ามีปริมาณไขมันที่พอเหมาะจะดี แต่ถ้ามีปริมาณมากก็ทำให้อาหารมีกลิ่นหืน กุ้งไม่กิน โดยปกติอาหารกุ้งควรมีไขมันประมาณร้อยละ 8 (บรรจง, 2521)

2.1.4.5 วิตามิน วิตามินเป็นสารที่กุ้งต้องการน้อยมาก แต่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้ง วิตามินที่กุ้งต้องการคือ วิตามินบี ๑ บี 6 และวิตามินซี

2.1.4.6 เกลือแร่ นำไปใช้ในการสร้างเปลือก ทำให้เปลือกแข็งแรงเร็วขณะลอกคราบ คอยควบคุมเลือดและสร้างน้ำย่อย ช่วยในการควบคุมปริมาณน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกาย ระบบประสาทและกล้ามเนื้อให้อยู่ในระดับที่สมดุลย์ เกลือแร่หลักที่กุ้งต้องการคือ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปตัสเซียม แมงกานีส และซัลเฟอร์ เกลือแร่เหล่านี้จะมีอยู่มากในปลาป่น เปลือกกุ้งป่น เกลือแร่ย่อยที่ต้องการมี 6 ชนิดคือ เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ทองเหลือง ไอโอดีน โคบอลท์ (มะลิ, 2531)

2.1.4.7 สารเหนียว กุ้งเป็นสัตว์ที่กินอาหารช้าจับอาหารแล้วยังแทะกินอย่างช้า ๆ ถ้าไม่มีสารเหนียว อาหารจะแตกละลายก่อนที่กุ้งจะกินเข้าไป ชนิดของสารเหนียวที่นิยมใช้ในการผสมอาหารอัดเม็ด เช่น สารเหนียวซี เอ็ม ซี (C.M.C.) กัวกัม แป้งสาลี รำข้าวและเปลือกกุ้ง สาหร่ายทะเล กล้วยน้ำว้า ปลาเป็ด

2.2 สาหร่าย

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำตรงกับภาษาอังกฤษว่า algae และภาษากรีกว่า phykos เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก จนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ จนถึงขนาดใหญ่ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าซึ่งดูเหมือนมีราก ลำต้น และใบ ซึ่งรวมเรียกว่า ทัลลัส (thallus) ส่วนใหญ่จะมีคลอโรฟิลล์ช่วยในการสังเคราะห์แสง สาหร่ายสามารถแบ่งหมวดหมู่ออกเป็น 9 ดิวิชัน โดยยึดตาม Bold และ Wynne (1978) (อ้างตามยุวดี, 2542) ซึ่งจำแนกได้ดังนี้

1. Division Cyanophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae)
2. Division Chlorophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีเขียว (green algae)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Division Charophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายไฟ (stoneworts)
4. Division Euglenophyta ได้แก่ พวกสาหร่าย euglenoid
5. Division Phaeophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)
6. Division Chrysophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (golden algae) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (yellow green algae) และไดอะตอม (diatom)
7. Division Pyrrhophyta ได้แก่ พวกสาหร่าย dinoflagellates
8. Division Cryptophyta ได้แก่ พวกสาหร่าย cryptomonads
9. Division Rhodophyta ได้แก่ พวกสาหร่ายสีแดง (red algae)

2.3.1 การจัดจำแนกสาหร่ายออกเป็นหมวดหมู่ข้างต้นพิจารณาจากลักษณะสำคัญดังนี้

2.3.1.1 รงควัตถุ รงควัตถุในสาหร่ายมีหลายชนิดเช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฟโคบิลิน รงควัตถุทั้งหลายนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการสร้างอาหารของสาหร่าย บางชนิดมีผลทำให้สีของสาหร่ายคล้อยตามสีของรงควัตถุ สาหร่ายแต่ละชนิดมีรงควัตถุแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ เช่น สาหร่าย *Spirulina* sp. มีแคโรทีนอยด์ประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Chronakis และคณะ, 2000) สาหร่าย *Chlorella sorokiniana* มีปริมาณแคโรทีนอยด์ประมาณ 0.69 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Matsukawa และคณะ, 2000) สาหร่าย *Dunaliella salina* มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Marin, 1998) สาหร่าย *Haematococcus pluvialis* มีปริมาณแคโรทีนอยด์ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Choubert และ Heinrich, 1993) เป็นต้น สาหร่ายสีเขียวมีการผลิตแคโรทีนอยด์ประมาณ 2,000 – 20,000 ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์ หรือประมาณ 0.2 – 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง (Johnson, 1991) สีของสาหร่ายในดิวิชันต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

2.3.1.2 องค์ประกอบของผนังเซลล์ ส่วนใหญ่ผนังเซลล์ของสาหร่ายประกอบไปด้วย ไซแลน เซลลูโลส เพคติน ไดติน ซิลิกา และหินปูน เป็นต้น ผนังเซลล์ของสาหร่ายแต่ละชนิดมีองค์ประกอบแตกต่างกันไป

2.3.1.3 อาหารที่สะสมอยู่ในเซลล์ จากการสร้างอาหารของสาหร่ายจะได้สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเก็บสะสมไว้ในรูปแป้ง แมนนิทอล ไขมัน น้ำมัน คอเรสเทอรอล พารามายรอน เป็นต้น

2.3.1.4 จำนวนและตำแหน่งของแฟลกเจลลัม สาหร่ายหลายชนิดสามารถเคลื่อนที่ได้บางชนิดเคลื่อนที่ไม่ได้ สาหร่ายที่สามารถเคลื่อนที่ได้ก็โดยอาศัยแฟลกเจลลัม ซึ่งแต่ละชนิดจะมีจำนวน ลักษณะและตำแหน่งที่แฟลกเจลลัมฝังตัวอยู่นั้นแตกต่างกันไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงสีของสาหร่ายในดิวิชันต่าง ๆ (ที่มา : สมศักดิ์, 2525)

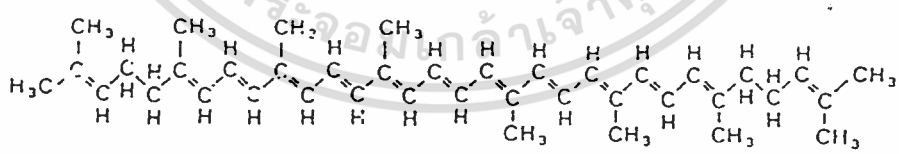
ดิวิชัน	สารสีชนิดต่าง ๆ	แหล่งที่อยู่สาหร่าย
Cyanophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, เบต้า-แคโรทีน, แฟลวิซิน, แซนโทฟิลล์ เช่น มิกโซแซนทิน, มิกโซแซนโทฟิลล์, ซี-ไฟโคไซยานิน, แอลโลไฟโคไซยานิน, ซีไฟโคอิริ - ทริน	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล, บนบก
Chlorophyta	คลอโรฟิลล์-เอ,-บี, แอลฟา-,เบต้า- และแกมมา-แคโรทีน แซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล, บนบก
Charophyta	เหมือน Chlorophyta	น้ำจืด, น้ำกร่อย
Euglenophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, -บี, เบต้า-แคโรทีน, แซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล, บนบก
Phaeophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, ซี, เบต้า-แคโรทีน, ฟิวโคแซนทิน, และแซนโทฟิลล์อื่นอีก 6-7 ชนิด	น้ำจืดยังไม่ปรากฏ น้ำกร่อย, น้ำทะเล
Chrysophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, อี, เบต้า-แคโรทีน, แซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด ไดอะโตแซนทิน, ไดอะไดโนแซนทิน	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล
Pyrrhophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, บี, เบต้า-แคโรทีน, ไดอะไดโนแซนทิน, ไดโนแซนทิน, นีโอไดโนแซนทิน เพริดินิน และแซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล
Cryptophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, ซี, แอลฟา-, เบต้า-และเอพสิลอน-แคโร - ทีน, แซนโทฟิลล์ที่เด่น (แอลโลแซนทิน,ครอโคแซนทิน, โมนาโคแซนทิน), ไฟโคบิลิน	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล
Rhodophyta	คลอโรฟิลล์-เอ, อาร์-และซี-ไฟโคไซยานิน, แอลโลไฟโคไซยานิน, อาร์และบี-ไฟโคอิริทริน แอลฟา-, เบต้า-แคโรทีน แซนโทฟิลล์อีกหลายชนิด	น้ำจืด, น้ำกร่อย น้ำทะเล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ชนิดของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุสีเหลืองและสีแดงซึ่งส่วนใหญ่ละลายในไขมันได้ พบอยู่ทั่วไปในผลิตผลของพืชและสัตว์ในธรรมชาติ รงควัตถุของพวกแคโรทีนอยด์จัดเป็นพวกเตตระเทอร์ปีน (Tetraterpene) ซึ่งประกอบด้วยไอโซพรีน (Isoprene) 4 หน่วย (รูปที่ 2.3) มาต่อกันเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 40 อะตอม เกิดเป็น C_{40} เรียก ไลโคพีน (lycopene) (รูปที่ 2.4) ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้ง 2 ข้าง อาจมีคาร์บอนอะตอมที่ต่อกันเป็นวง (ring structure) มีตั้งแต่สีเหลือง สีส้ม และสีแดง แคโรทีนอยด์มีส่วนในการสังเคราะห์แสงโดยเป็นตัวช่วยในการถ่ายทอดพลังงานรังสีที่ได้รับไปยังคลอโรฟิลล์ (ลัดดา, 2542) นอกจากนี้ยังเป็นฉากป้องกันเซลล์ให้พ้นจากการเสียสภาพ เนื่องจากแสงที่มีความเข้มสูงจะป้องกันให้คลอโรฟิลล์สามารถทำหน้าที่อยู่ได้ทำให้เกิดเสถียรภาพในการสังเคราะห์แสงของคลอโรฟิลล์มากขึ้น (วรา - ทิพย์, 2540)

รูปที่ 2.3 หน่วยไอโซพรีน (ที่มา : กนกอร, 2543)

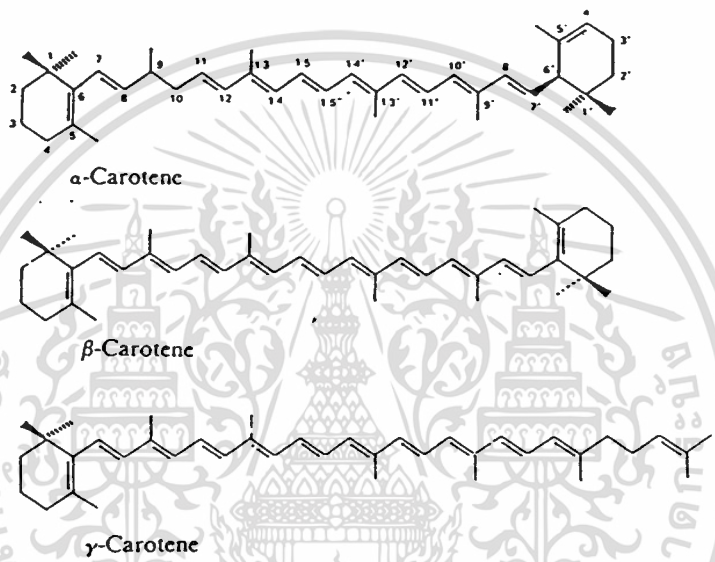


รูปที่ 2.4 ไลโคพีน (ที่มา : Goodwin และคณะ, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์ สามารถแบ่งเป็น 2 พวกใหญ่ ๆ ตามโครงสร้างทางเคมีได้ดังนี้

2.3.2.1 แคโรทีน (Carotenes) โมเลกุลของแคโรทีนเป็นไฮโดรคาร์บอนซึ่งประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนเชื่อมต่อกัน เป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่ และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือทั้ง 2 ปลาย จะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงเรียกว่า ไอโอโนนริง สามารถแบ่งย่อยได้เป็น แอลฟา - แคโรทีน เบต้า - แคโรทีน และแกมมา - แคโรทีน (รูปที่ 2.5) ทั้ง 3 แบบจะแตกต่างกันที่ตำแหน่งของพันธะคู่ ชนิดที่มีบทบาทมากคือ เบต้า – แคโรทีน เนื่องจากสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้

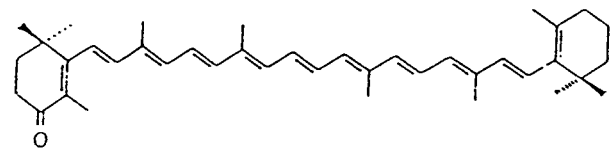


รูปที่ 2.5 โครงสร้างของแอลฟา, เบต้า และ แกมมา – แคโรทีน (ที่มา : Khachik และคณะ, 1986)

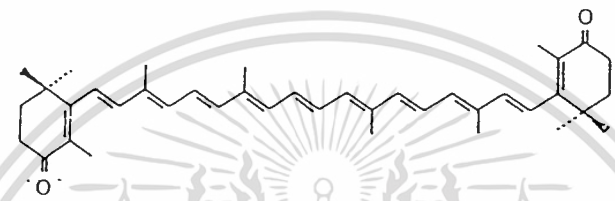
2.3.2.2 แซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) เกิดจากการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุลของแคโรทีน ตัวอย่างของแซนโทฟิลล์ เช่น echieneone canthaxanthin astaxanthin (รูปที่ 2.6) แซนโทฟิลล์ที่พบในปลาส่วนมากได้แก่ lutein และ astaxanthin ส่วนในครัสตาเซียนตัวที่พบมากที่สุดได้แก่ astaxanthin ซึ่งมีอยู่ในครัสตาเซียนเกือบทุกชนิด แซนโทฟิลล์ เป็นแคโรทีนอยด์ที่มีบทบาทในการให้สีในสิ่งมีชีวิต Yamada และคณะ(1990) พบว่าเมื่อทำการผสมแอสตาแซนทีน เบต้าแคโรทีนและแคนทาแซนทินในอาหารเลี้ยงกุ้ง แอสตาแซนทีนจะเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อของกุ้งในอัตราที่สูงกว่าเบต้าแคโรทีน และ แคนทาแซนทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

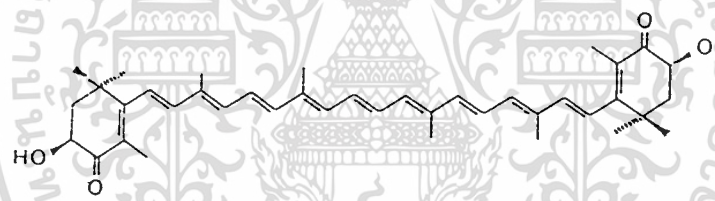
Menasveta และคณะ (1993) รายงานว่าเมื่อเพิ่มแอสตาแซนทีน 50 พีพีเอ็ม ลงในอาหารที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งมีสีเข้มขึ้นจากสีฟ้าเปลี่ยนเป็นสีม่วงจางหรือสีม่วงเข้ม เมื่อนำกุ้งไปต้มมีสีแดงเข้ม



Echinenone



Canthaxanthin



Astaxanthin

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของแซนโทฟิลล์บางชนิด (ที่มา : Goodwin และคณะ,1984)

2.3.3 ประโยชน์ของสาหร่าย

ในปัจจุบันได้มีการนำสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้แก่ ปุ๋ยชีวภาพ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพหรือเพื่อใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารสัตว์ สาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดทั้งน้ำจืดและน้ำเค็มยังนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหลายแห่งของประเทศ ณรงค์ศักดิ์ (2533) ได้เลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยสูตรอาหารที่มีสาหร่าย *Spirulina* ผสมอยู่ 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่มีสาหร่าย *Spirulina* 10 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตดีที่สุด อัตราการรอดตาย ประสิทธิภาพของโปรตีน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสม *Spirulina* ทุกระดับจะดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้ใส่ *Spirulina* ปริมาณแค-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรทีนอยด์ในกุ้งกุลาดำจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณ *Spirulina* ที่ผสมในอาหาร ขณะที่ชุดควบคุมไม่มีการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ Gouveia และคณะ (1996) พบว่า เมื่อผสม *Chlorella vulgaris* ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผสมลงไปในอาหาร 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มสีสันให้ปลาเทราซ์ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายมีศักยภาพที่จะเป็นแหล่งในการผลิตวิตามิน เม็ดสีต่าง ๆ การนำสาหร่ายไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงตัวอย่างสาหร่ายที่นำไปใช้ประโยชน์ (ที่มา : อาภารัตน์, 2540)

ประเภทการใช้ประโยชน์	ลักษณะการใช้ประโยชน์	สายพันธุ์สาหร่าย
ด้านอุตสาหกรรม	อาหารเสริมสุขภาพ	*Arthrospira*
		Chlorella
		Dunaliella
	เบต้า-แคโรทีน	*Spirulina*
		Dunaliella
	สารสี - ส้ม, แดง	*Dunaliella*
	สารสี - ม่วง, ชมพู, แดง	*Calothrix*
		Nostoc
	สารสี - ฟ้า, น้ำเงิน	*Arthrospira*
		Fischerella
		Hapalosiphon
		Sitgonema
		Spirulina
ด้านการเกษตร	ปุ๋ยชีวภาพและสารปรับปรุง	*Anabaena*
		Nostoc
	การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด	*Chlorella*
		Spirulina
		Scenedesmus
	การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม	*Chlorella*
		Dunaliella
		Chaetoceros
		Isochrysis
		Tetraselmis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงสำหรับอนุบาลลูกสัตว์น้ำมีหลายชนิด เช่น *Tetraselmis* sp., *Isochrysis* sp., *Chlorella* sp., *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros calcitrans* ชนิดแพลงก์ตอนพืชอื่น ๆ ที่ใช้อนุบาลลูกกุ้ง แสดงไว้ในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่นิยมเลี้ยงเพื่ออนุบาลลูกสัตว์น้ำในปัจจุบัน (ที่มา : ลัดดา, 2540)

วงศ์ (Family)	ชื่อวิทยาศาสตร์
Bacillariophyceae	*Skeletonema costatum, Thalassiosira* sp. *Chaetoceros calcitrans, Cyclotella* sp.
Prymnesiophyceae	*Isochrysis galbana*
Prasinophyceae	*Tetraselmis suecica, T. chuii*
Chlorophyceae	*Dunaliella tertiolecta, Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Chlamydomonas* sp.
Cyanophyceae	*Spirulina platensis*

2.3.4 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภท คือ

2.3.4.1 ปัจจัยทางเคมี

การเจริญเติบโตของสาหร่ายขึ้นกับอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสาหร่าย อาหารหรือธาตุอาหารซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ

2.3.4.1.1 กลุ่มอาหารหลัก ธาตุอาหารหลักคือธาตุที่ประกอบเป็นโครงสร้างของสาหร่าย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ปริมาณค่อนข้างมากประกอบด้วย คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ และโปตัสเซียม

2.3.4.1.2 กลุ่มอาหารรอง ธาตุอาหารซึ่งสาหร่ายต้องการใช้น้อย ธาตุอาหารรองเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลที่จำเป็น เช่น เอนไซม์ เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตหรือเป็นส่วนประกอบของโมเลกุล ธาตุอาหารรอง ได้แก่ เหล็ก โบรอน แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โมลิบดินัม โคบอลท์ นิเกิล ซิลิกา และเซเลเนียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4.2 ปัจจัยทางกายภาพ

2.3.4.2.1 แสงสว่าง แสงเป็นปัจจัยหนึ่งเนื่องจากเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง แสงที่สาหร่ายสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้คือ แสงในช่วงที่ตาเรามองเห็น (visible light) มีความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 380 - 750 นาโนเมตร (รวมทรัพย์, 2540)

2.3.4.2.2 อุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในน้ำทำให้สิ่งมีชีวิตในน้ำมีการปรับตัวให้เข้ากัน สาหร่ายน้ำจืดเกือบทุกชนิดเจริญเติบโตได้ดีที่ระดับ15 - 25 องศาเซลเซียส (ลัดดา, 2540) Borowitzka และคณะ (1991) รายงานว่า *Haematococcus pluvialis* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อมีอุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส

2.3.4.2.3 ความเป็นกรดเป็นด่าง เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งเพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการความเป็นกรดเป็นด่างในระดับที่แตกต่างกัน เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงมีสภาพเป็นด่าง สาหร่าย *Spirulina* สามารถเจริญได้ดีในค่าความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 9 และ 11 (Clement และคณะ, 1980) สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เจริญเติบโตได้ดีที่ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 6.5 – 8.0 ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างสูงเกิน 8.0 หรือต่ำกว่า 6.45 อัตราการเจริญจะลดลง (Behrens และคณะ, 1994) Liu และ Lee (2000) รายงานว่าสาหร่าย *Chlorococcum* sp. ที่ความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 8 จะเหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์และแอสตาแซนทิน

2.3.4.2.4 ความเค็ม มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม สาหร่ายบางชนิดชอบอยู่ในน้ำกร่อยที่มีความเค็มประมาณ 28 - 30 ส่วนในพันส่วน บางชนิดทนต่อความเค็มสูงได้ดี เช่น *Dunaliella* เป็นต้น Marin และคณะ (1998) ได้ทดลองแปรผันความเค็มอาหารเลี้ยงเป็น 9, 14, 21 % w/v โซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าที่ความเค็ม 21 % w/v โซเดียมไฮดรอกไซด์ สาหร่าย *Dunaliella salina* สามารถเจริญเติบโตได้และมีการสะสมแคโรทีนอยด์มากที่สุด แต่สาหร่ายบางชนิด เช่น *Haematococcus pluvialis* ไม่สามารถเจริญได้เมื่อมีความเค็มสูงกว่า 1% w/v โซเดียม-ไฮดรอกไซด์ (Borowitzka และคณะ, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. เครื่องเขย่า (Shaker) New Brunswick Scientific ของ Brunswick Scientific USA
2. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) model PHB2 ของ Yokokawa Electric Corporation
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง รุ่น Spectronic 20 ของ Bausch & lomb
4. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave) รุ่น SS – 325 ของ Tomy
5. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น RC 285 ของ Sorvall
6. กรวยแยก (Separatory funnel) 250 มิลลิลิตร ของ Wite Preciso และ Pyrex no. 6402
7. ตู้อบ (Oven) ของ Mammert
8. เครื่องชั่งละเอียด รุ่น Precisa 220M ของ Swiss Quality
9. เครื่องเขย่าสาร (Vortex) model K-550-GB ของ Scientific Industries, Inc. USA
10. ตู้เขี่ยเชื้อ รุ่น Faster Bio 48
11. อ่างน้ำร้อน (Water bath) รุ่น GFL 1083
12. หลอดฟลูออเรสเซนต์ รุ่น TLD 36 W Daylight 2600/m. 72Lm/W ของ Philips
13. หลอดเพาะเลี้ยง (Culture tube) เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร มีช่องให้อากาศเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร
14. ปั๊มลมให้อากาศ รุ่น Heavy duty industrial ของ Puma Taiwan
15. โถดูดความชื้น (Desiccator) รุ่น Glaswerk wertheim GL32
16. เครื่องแก้ว เช่น ฟลาสก์ บีกเกอร์ กระบอกตวง ฯลฯ
17. ตู้เลี้ยงกุ้งขนาด 200 ลิตร
18. วาล์วปรับแรงลมแบบพลาสติก
19. หัวทรายให้อากาศ
20. สายยางขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิลิตร
21. สายยางซิลิโคนเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริก
2. กรดซิตริก
3. แคลเซียมคลอไรด์
4. คอปเปอร์ซัลเฟต
5. ไดเอทิลอีเทอร์
6. เฟอริกซัลเฟต
7. เมทานอล
8. แมกนีเซียมซัลเฟต
9. แมงกานีสคลอไรด์
10. โปตัสเซียมไนเตรท
11. โปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
12. โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์
13. โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต
14. โซเดียมไฮดรอกไซด์
15. โซเดียมไบฟอสเฟต
16. โซเดียมไนเตรท
17. โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
18. โซเดียมคลอไรด์
19. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส
20. อะซิโตน
21. อะซิโตไนไตรท์
22. แอลกอฮอล์ 99.8 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

58533

3.2 วิธีการดำเนินการทดลอง

การทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง มีวิธีการดังนี้

3.2.1 การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ

3.2.1.1 เชื้อสาหร่าย

เชื้อสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองนี้มี 5 ชนิดคือ *Spirulina* sp. TISTR8250, *Chlorella* sp.TISTR8261 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย *Scenedesmus* sp. แยกได้จากธรรมชาติ *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา นำสาหร่ายมาเก็บไว้ในอาหารวุ้น (slant) เมื่อจะนำสาหร่ายไปทดลองจึงนำไปถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวที่บรรจุในฟลาสก์

3.2.1.2 การเตรียมสาหร่าย

สาหร่าย *Spirulina* sp.TISTR8250 เลี้ยงในอาหาร BG-11 (ภาคผนวก ข1) *Scenedesmus* sp. เลี้ยงในอาหาร BBM (ภาคผนวก ข2) *Chlorella* sp.TISTR8261 เลี้ยงในอาหาร N-8 (ภาคผนวก ข3) *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. เลี้ยงในอาหาร f/2 (ภาคผนวก ข4) นำตัวอย่างสาหร่ายมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร 100 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 14 วัน ให้แสงสว่างจากฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาว ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 รอบต่อนาที จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในหลอดที่มีสูตรอาหารปริมาตร 250 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 10 วัน ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาว ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ให้อากาศ 3 วีวีเอ็ม (vvm) เก็บตัวอย่างวัดการเจริญเติบโตด้วยการวัดความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร หาปริมาณแคโรทีนอยด์ตามวิธีของ KMITT (1996)

3.2.1.3 การคัดเลือกสาหร่าย

เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกันจึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงของสาหร่ายในแต่ละสูตรโดยแปรผันไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรดเป็นด่าง และความเข้มแสง การทดลองมีดังนี้

3.2.1.3.1 ไนเตรท

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงที่บรรจุอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร เตรียมปริมาณไนเตรทในรูปของโซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ในอาหาร BG-11, BBM และ f/2 และโปตัสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในอาหาร N-8 เท่ากับ 0.5, 1 และ 2 เท่าของอาหารในแต่ละสูตร โดยเติมเชื้อตั้งต้นที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร เท่ากับ 0.02 ให้แสงแสงสว่างจากหลอดฟลูออ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรสเซนต์แสงสีขาวอย่างต่อเนื่อง ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ให้อากาศ 3 วีวีเอ็ม เก็บตัวอย่างเพื่อวัดการเจริญโดยวัดความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร ทุก ๆ 2 วัน เป็นเวลา 10 วัน และวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ในวันสุดท้าย

3.2.1.3.2 ฟอสเฟต

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงที่บรรจุอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร เตรียมปริมาณฟอสเฟตในรูปของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ในอาหาร BBM และ N-8 ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ในอาหาร BG–11 และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ในอาหาร f/2 เท่ากับ 0.5 , 1 และ 2 เท่าในแต่ละสูตร เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3.1

3.2.1.3.3 แมกนีเซียม

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงที่บรรจุอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร เตรียมปริมาณแมกนีเซียมในรูปของแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$) เท่ากับ 0.5 , 1 และ 2 เท่าในแต่ละสูตร เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3.1

3.2.1.3.4 ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหาร

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงที่บรรจุอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร โดยให้ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของสูตรอาหาร N-8 , BBM และ f/2 เป็น 6, 7 และ 8 สูตรอาหาร BG – 11 เป็น 7, 8 และ 9 เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3.1

3.2.1.3.5 ความเข้มแสง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในหลอดเพาะเลี้ยงที่บรรจุอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร โดยให้ความเข้มแสงเป็น 2000, 3000 และ 4000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3.1

3.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสาหร่ายในการใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ

3.2.2.1 การเตรียมสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้ง

นำสาหร่ายที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงเพื่อผสมในอาหารกุ้งโดยเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีอาหารเหลวที่เหมาะสมปริมาตร 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ 3 วีวีเอ็ม ในความเข้มแสงที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.1.3.1 เป็นเวลา 10 วัน หลังจากถ่ายเซลล์สาหร่ายเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1000 ลิตร บรรจุอาหารประมาณ 800 ลิตร เลี้ยงประมาณ 10 วัน แล้วเก็บเกี่ยวเซลล์โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงและล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วหมุนเหวี่ยงแยกตะกอนเซลล์ออกมาทำแห้งเป็นผงโดยใช้เครื่อง Freeze dry จนได้สาหร่ายผงในปริมาณที่ต้องการเพื่อใช้ผสมกับอาหารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงกุ้ง

อาหารทดสอบที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารสำเร็จรูป ซึ่งอาหารดังกล่าวจะนำมาผสมกับสาหร่ายโดยการผสมน้ำเล็กน้อยแล้วบดอาหารให้เข้ากันแล้วนำไปอัดให้เป็นเม็ด หลังจากนั้นอบที่อุณหภูมิ 40 – 45 องศาเซลเซียส จนอาหารแห้งไม่มีความชื้นอยู่ อาหารที่ใช้ในการทดสอบมีสูตรต่าง ๆดังนี้

สูตรที่ 1 กลุ่มควบคุม (อาหารสำเร็จรูป)

สูตรที่ 2 อาหารสำเร็จรูปไม่ผสมสาหร่าย (ผ่านกระบวนการผลิตเช่นเดียวกับการผสมสาหร่าย)

สูตรที่ 3 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 0.5 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 4 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 1 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 5 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 2 เปอร์เซ็นต์

สูตรที่ 6 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 4 เปอร์เซ็นต์

3.2.2.3 การเตรียมน้ำ

เตรียมน้ำทะเลที่ผ่านการกรองผสมกับน้ำประปาที่ผ่านการระเหยคลอรีนปรับให้น้ำมีความเค็ม 10 พีพีที ใส่ในตู้ทดลองที่ทำความสะอาดแล้วโดยให้มีปริมาตร 200 ลิตร เท่ากันทุกตู้ ใส่หัวทรายในตู้ทดลองเพื่อเพิ่มอากาศตลอดเวลา

3.2.2.4 การเตรียมลูกกุ้งและให้อาหาร

กุ้งที่ใช้ในการทดลองเป็นกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ระยะโพสลาวา (P_{15}) โดยทำการอนุบาลลูกกุ้งเป็นเวลาประมาณ 10 วัน หลังจากนั้นนำกุ้งมาใส่ตู้ทดลองไว้ตู้ละ 100 ตัว โดยแต่ละกรรมวิธีทำ 2 ซ้ำ ให้กุ้งกินอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เตรียมไว้วันละ 5 ครั้ง เวลา 7.00, 11.00, 15.00, 19.00 และ 22.00 นาฬิกา ให้ประมาณร้อยละ 6 - 10 ของน้ำหนักตัวกุ้ง โดยคอยปรับอาหารไม่ให้เหลือมากเกินไปจนกุ้งกินไม่หมดในแต่ละมื้อ วันที่มีการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวกุ้งจะไม่มีการให้อาหาร

3.2.2.5 การทำความสะอาดถัง

ทำความสะอาดและดูดตะกอน 2 วัน ต่อ 1 ครั้ง หลังจากให้อาหารมื้อแรกประมาณ 2 ชั่วโมง และถ่ายน้ำออกปริมาณร้อยละ 20 ของปริมาณน้ำทั้งหมด แล้วเติมน้ำใหม่ให้เท่ากับระดับเดิมทำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

3.2.2.6 การวัดการเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และวัดความยาวกุ้งเมื่อเริ่มและจบการทดลองของกุ้งทุกตัว ตรวจนับจำนวนกุ้งที่เหลืออยู่เมื่อครบ 5 สัปดาห์ ชั่งน้ำหนักแห้งโดยนำกุ้งมาอบในตู้อบที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 70 - 80 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้นจนน้ำหนักคงที่ จึงชั่งน้ำ หนัก หาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งโดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง} = \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

3.2.2.7 ศึกษาอัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง คำนวณหาอัตราการรอดตายจากสูตร

$$\text{อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่เหลืออยู่}}{\text{จำนวนกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

3.2.2.8 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง

สุ่มกุ้งกุลาดำจากทุกกลุ่มการทดลองโดยใช้ 2 ชุด ๆ ละประมาณ 2 กรัม (ประมาณ 10 – 15 ตัว) นำกุ้งมาบดหรือสับให้ละเอียด จากนั้นนำไปวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ตามวิธีดัดแปลงจาก Foss และคณะ (1984) (ขั้นตอนการวิเคราะห์หาแคโรทีนอยด์แสดงในภาคผนวก ก)

3.2.2.9 ตรวจคุณภาพกุ้ง

นำกุ้งกุลาดำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 5 นาที แล้วสังเกตสีของกุ้งหลังการต้ม

3..2.2.10 การตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำบางประการ

1. วัดอุณหภูมิของน้ำในตู้ทดลองทุก 2 วัน
2. วัด pH ของน้ำในตู้ทดลองทุก 2 วัน pH ที่เหมาะสมคือ 7.5 - 8.5
3. วัดความเค็มของน้ำทุก 2 วัน โดยความเค็มที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งคือ 10 พีพีที
4. วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำทุก 2 วัน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำควรอยู่ระหว่าง 4 พีพีเอ็มถึงจุดอิ่มตัว
5. วัดแอมโมเนียของน้ำในตู้ทดลองทุก 2 วัน
6. วัดซีโอดีของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งทุกสัปดาห์
7. วัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยใช้อาหาร NA และวัดปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp. โดยใช้อาหาร TCBS ทำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การวิเคราะห์

3.3.1 การวิเคราะห์การเจริญของสาหร่าย

3.3.1.1 การวัดค่าการเจริญ

การวัดค่าการเจริญจะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectronic 20 ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร (กนกอร, 2543)

3.3.1.2 การหาน้ำหนักแห้งของเซลล์

นำตัวอย่างสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงแต่ละชนิดประมาณ 50 มิลลิลิตร มากรองผ่านกระดาษกรอง WhatmanGF/C ยกเว้น *Chlorella* sp.TISTR8261 ใช้กระดาษกรอง Whatman GF/A โดยใช้ suction pump ในการกรอง ล้างเซลล์สาหร่ายด้วยน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย จากนั้นนำกระดาษกรองไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ สาหร่ายที่กรองได้บนกระดาษกรองนำไปทำแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ น้ำหนักแห้งหาได้จากผลต่างระหว่างน้ำหนักกระดาษก่อนและหลังการกรอง

3.3.2 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์วิธีของ King Mongkut's Institute's of Technology Thonburi (1996)

1.1 กรองเซลล์สาหร่าย 5 - 25 มิลลิลิตร ด้วยกระดาษกรอง GF/C

1.2 เอากระดาษกรองที่มีเซลล์อยู่ใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวส์

1.3 เติมเอทานอล 10 มิลลิลิตร และ 60 % โปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

1.4 สกัดในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

1.5 นำไปเซนตริฟิวส์ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

1.6 ใส่สารสกัดลงในกรวยแยก

1.7 เติมไดเอทีลอีเทอร์ (diethyl ether) 15 - 20 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 90 กรัมต่อลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร

1.8 เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นเป็นชั้นสีเหลืองด้านบนและสีเขียวอยู่ด้านล่าง

1.9 ไขชั้นสีเขียวออกช้า ๆ

1.10 เติม โซเดียมคลอไรด์ 90 กรัมต่อลิตร 10 มิลลิลิตร ลงในชั้นสีเหลือง ทำซ้ำ 1.8 - 1.9 จนกระทั่งสารละลายแยกเป็นชั้นสีเหลืองและส่วนใส

1.11 ไขชั้นสีเหลืองออกเติม โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (Na_2SO_4 anhydrous) ลงไปเพื่อดูดน้ำ

1.12 ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย ไดเอทีลอีเทอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.13 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ตามสูตรดังนี้

$$\text{มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์} = \frac{OD_{450} \times 25 \times 1{,}000}{260 \times \text{มิลลิกรัมน้ำหนักแห้ง}}$$

3.3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโตและปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS/PC version 10 ซึ่งแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Compeletely Randomized Design, CRD) ในการวิเคราะห์ F - test และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($LSD_{0.05}$)

3.3.4 การวิเคราะห์แอมโมเนีย

วิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้ชุด Ammonium – Test ของ Merck

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

วิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) โดยใช้เครื่องวัด DO ภาคสนามรุ่น OXI 330I/SET รวมทั้งวัดอุณหภูมิและความเป็นกรดเป็นด่าง

3.3.6 การวิเคราะห์ซีโอดี

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดย่อย (Digestion Vessels) เป็นหลอดแก้วโบโรซิลิเคท (Borosilicate) ขนาด 16 × 100 มิลลิเมตร มีฝาสลักเกลียว
2. บล็อก (Block) หรือที่ใส่หลอดแก้วแบบตัน ทำด้วยอลูมิเนียมความลึกของช่องใส่หลอดประมาณ 45 - 50 มิลลิเมตร การให้ความร้อนเพื่อต้มย่อยสลายโดยวางบล็อคบนเตาแผ่น
3. ตู้อบ (Oven) สามารถควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ประมาณ 150 ± 2 องศาเซลเซียส
4. บิวเรต
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต เข้มข้น 0.1 นอร์มัล

นำโปตัสเซียมไดโครเมต ซึ่งอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักมา 4.913 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 167 มิลลิลิตร และปรอทซัลเฟต 33.3 กรัม ละลายปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กรดซัลฟุริคและซิลเวอร์ซัลเฟต

ชั่งซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 8.8 กรัม ใส่ลงในกรดซัลฟุริคเข้มข้น 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 – 2 วัน เพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลายได้ทั้งหมด ก่อนนำไปใช้ต่อไป

3. สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 นอร์มัล

ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) 19.6 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วเจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. สารละลายเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์

ละลาย 1,10 ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (1,10 – Phenanthroline Monohydrate, $C_{12}H_8N_2.H_2O$) 1.485 กรัม และเฟอรัสซัลเฟต (Ferrous Sulfate, $FeSO_4.7H_2O$) 695 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีการตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต 0.1 นอร์มัล 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วจึงค่อย ๆ เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นเติมเฟอโร-อีน 2 – 3 หยด ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนได้สีน้ำตาลเป็นจุดยุติ

ความเข้มข้นของ FAS, นอร์มัล(N) = (5.0×0.1) ต่อมิลลิลิตร FAS ที่ใช้

5. กรดซัลฟามิค (Sulfamic Acid)

ใช้สำหรับป้องกันการรบกวนของไนไตรท์ (NO_2^-) ปริมาณที่ใช้คือ 10 มิลลิกรัม ต่อทุกๆ 1 มิลลิกรัมของไนไตรท์

6. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (Potassium Hydrogen Phathalate หรือ KHP)

บด KHP เพื่อลดขนาดลงนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนแห้งและมีน้ำหนักคงที่ แล้วละลาย KHP ที่บดและอบแห้งจำนวน 425 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น เจือจางให้เป็น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีค่าซีโอดีเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้ไม่เกิน 3 เดือน

วิธีทำ

1. ใช้หลอดแก้วขนาด 16 × 100 มิลลิลิตร (ปริมาตรตัวอย่างน้ำ 2.5 มิลลิลิตร) ใส่น้ำตัวอย่างลงในหลอดแก้ว เติมน้ำยาย่อยสลายหรือโปตัสเซียมไดโครเมต 1.5 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค 3.5 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ ปิดฝาให้แน่นและเขย่าให้ผสมกัน สำหรับแบลงค์ใช้น้ำกลั่นแล้วทำเหมือนตัวอย่างทุกอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วางหลอดแก้วลงในบล็อค ตั้งอุณหภูมิตู้อบไว้ที่ 150 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3. เมื่อครบ 2 ชั่วโมงแล้ว นำออกจากตู้อบปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

4. เทสารละลายออกจากหลอดแก้วลงในขวดรูปชมพู่ ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างสารละลายในหลอดแก้วให้หมดแล้วเทลงในขวดรูปชมพู่ เติมเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ 2 – 3 หยด แล้วไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต สีของสารละลายจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเขียวอมเหลือง สีฟ้า และสีน้ำตาลแดง ซึ่งแสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกปริมาณสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรต

วิธีการคำนวณ

$$\text{ซีโอดี, มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร} = \frac{(A - B) \times N \times 8000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

A = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรตแบลงค์

B = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นนอร์มัลลิตี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การคัดเลือกสาหร่ายเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ

ทำการคัดเลือกสาหร่าย 5 ชนิด คือ *Spirulina* sp.TISTR8250, *Chlorella* sp.TISTR8261 *Scenedesmus* sp., *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. โดยสาหร่าย *Spirulina* sp.TISTR8250 เลี้ยงในอาหาร BG-11 *Scenedesmus* sp. เลี้ยงในอาหาร BBM *Chlorella* sp.TISTR8261 เลี้ยงในอาหาร N-8 *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. เลี้ยงในอาหาร f/2 นำตัวอย่างสาหร่ายเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาตรอาหารเท่ากับ 250 มิลลิลิตร ให้อากาศ 3 วีวีเอ็ม ให้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาว เพาะเลี้ยงสาหร่ายเป็นเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างวัดการเจริญเติบโตโดยการวัดความขุ่นของเซลล์ที่ความยาวคลื่น 900 นาโนเมตร วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร คัดเลือกสาหร่ายโดยวิธีศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงโดยแปรผันไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารและความเข้มแสง การวิเคราะห์ทางสถิติเป็นแบบ CRD จะเปรียบเทียบผลการทดลองแต่ละเรื่องเฉพาะสาหร่ายแต่ละตัวเท่านั้น ผลการทดลองมีดังนี้

4.1.1 ไนเตรท

เมื่อทดลองแปรผันไนเตรทที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายโดยเตรียมปริมาณไนเตรทในรูปของโซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ในอาหาร BG-11, BBM และ f/2 และโปตัสเซียมไนเตรท (KNO_3) ในอาหาร N-8 เท่ากับ 0.5, 1 และ 2 เท่าของอาหารในแต่ละสูตร จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในวันที่ 10 ได้ผลดังตารางที่ 4.1 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร สามารถผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.01 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเป็น 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.81 และ 0.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าการผลิตเซลล์มีความแตกต่างกันในที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ระหว่างความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่ากับความเข้มข้นไนเตรท 0.5 และ 1 เท่า นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า สาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 ผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดคือ 3.59 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรท 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ 2.99 และ 2.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเข้มข้นไนเตรท 0.5 และ 1 เท่า (รูปที่ 4.1 และ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Scenedesmus sp. มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.22 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเป็น 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.08 และ 0.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 3.55 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรท 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ 1.97 และ 0.98 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.3 และ 4.4)

Spirulina sp.TISTR8250 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.32 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ระหว่างความเข้มข้นไนเตรท 0.5, 1 และ 2 เท่า ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดคือ 3.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ระหว่างความเข้มข้นไนเตรท 0.5 กับ 2 เท่า (รูปที่ 4.5 และ 4.6)

Chaetoceros sp. มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.54 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้นไนเตรท 0.5 และ 1 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.08 และ 1.39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ระหว่างความเข้มข้นไนเตรท 0.5 และ 1 เท่า กับความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า การผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 3.56 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 ความเข้มข้น (รูปที่ 4.7 และ 4.8)

Dunaliella sp. มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ทุกความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่าผลิตปริมาณเซลล์มากที่สุดคือ 0.58 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรทเป็น 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.38 และ 0.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 2 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 3.18 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นไนเตรท 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ 1.55 และ 0.89 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.9 และ 4.10)

การที่สาหร่ายเจริญได้ดีเมื่อเพิ่มปริมาณไนเตรทลงไปในอาหาร เนื่องจากธาตุอาหารไนโตรเจนมีความสำคัญในการเจริญเติบโตใช้ในการสร้างส่วนประกอบของเซลล์ เมื่อมีไนเตรทสูงขึ้นจึงทำให้มีปริมาณเซลล์สาหร่ายมากขึ้นตามไปด้วย และปริมาณแคโรทีนอยด์จึงมีสูงขึ้นตามจำนวนเซลล์ที่มีมากขึ้น อรพรรณ (2532) รายงานว่าเมื่อทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ด้วย

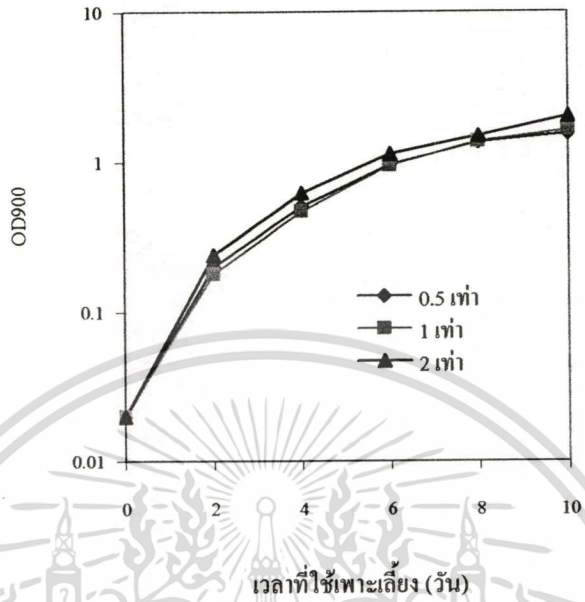
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

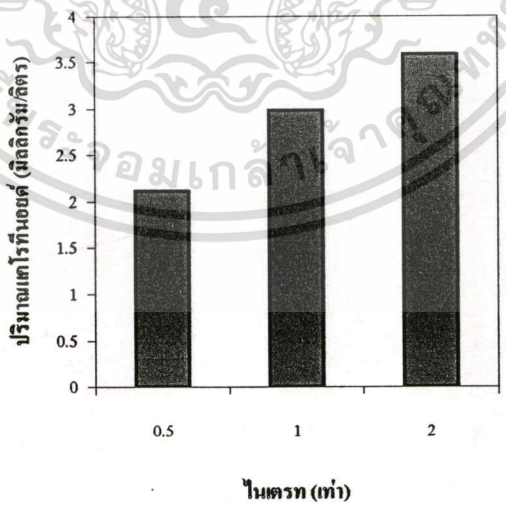
สายพันธุ์สาหร่าย	ความเข้มข้นไนเตรท (เท่า)	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	0.5	0.77^{a}	2.12^{a}	0.434
	1	0.81^{a}	2.99^{b}	0.440
	2	1.01^{b}	3.59^{c}	0.462
Scenedesmus sp.	0.5	0.74^{a}	0.98^{a}	0.384
	1	1.09^{b}	1.97^{b}	0.422
	2	1.22^{c}	3.55^{c}	0.433
Spirulina sp. TISTR8250	0.5	1.03^{ns}	2.13^{a}	0.384
	1	1.10^{ns}	2.98^{ab}	0.391
	2	1.32^{ns}	3.99^{b}	0.409
Chaetoceros sp.	0.5	1.08^{a}	1.09^{a}	0.320
	1	1.39^{a}	1.88^{b}	0.345
	2	1.54^{b}	3.56^{c}	0.356
Dunaliella sp.	0.5	0.25^{a}	0.89^{a}	0.304
	1	0.38^{b}	1.55^{b}	0.347
	2	0.58^{c}	3.18^{c}	0.388

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

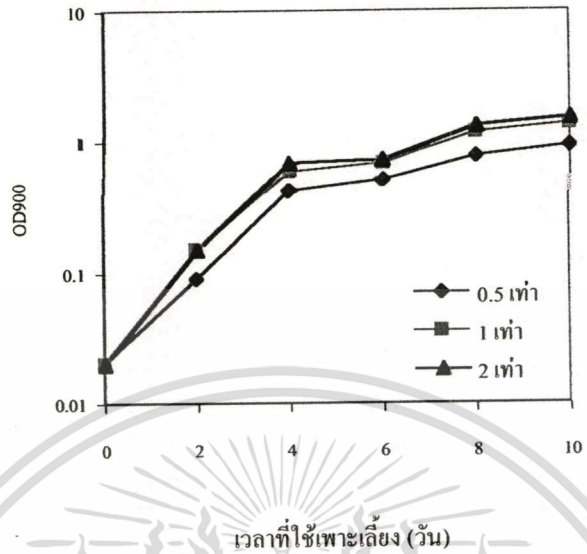


รูปที่ 4.1 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

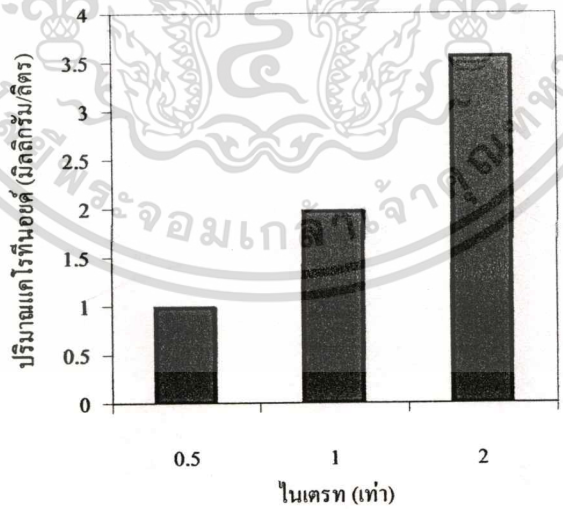


รูปที่ 4.2 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

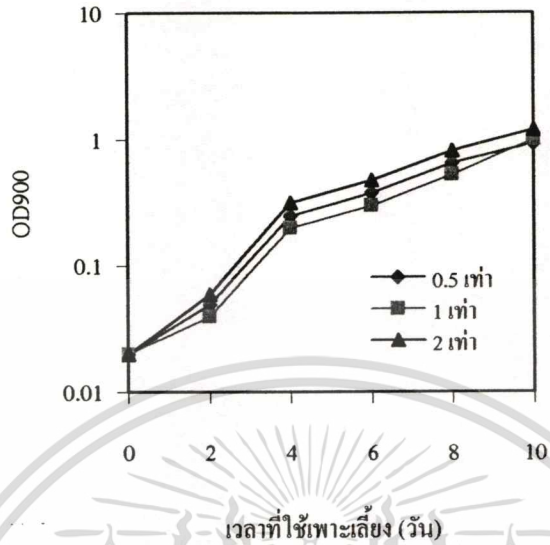


รูปที่ 4.3 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

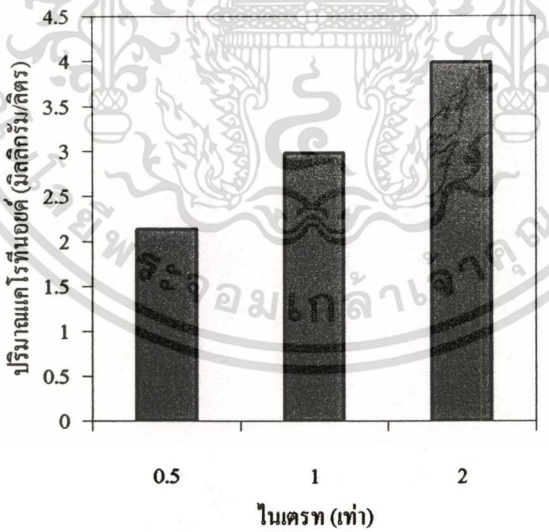


รูปที่ 4.4 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

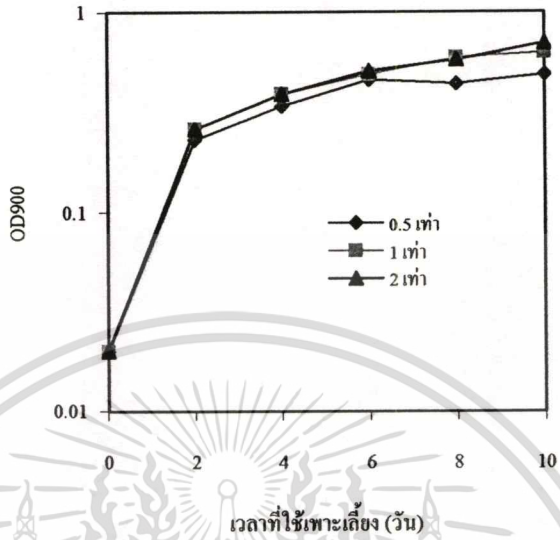


รูปที่ 4.5 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

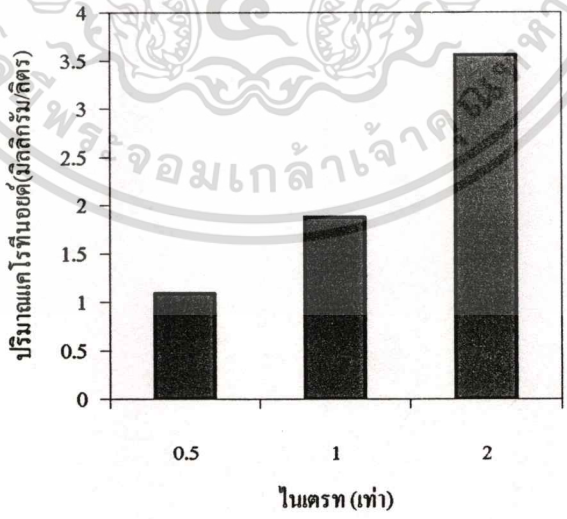


รูปที่ 4.6 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

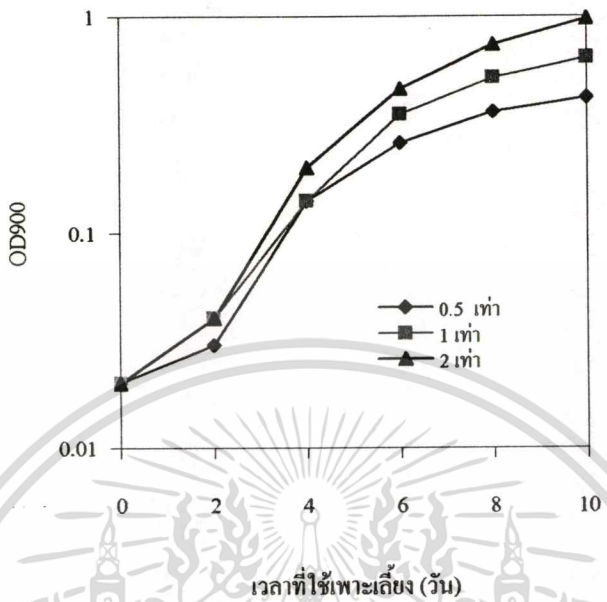


รูปที่ 4.7 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

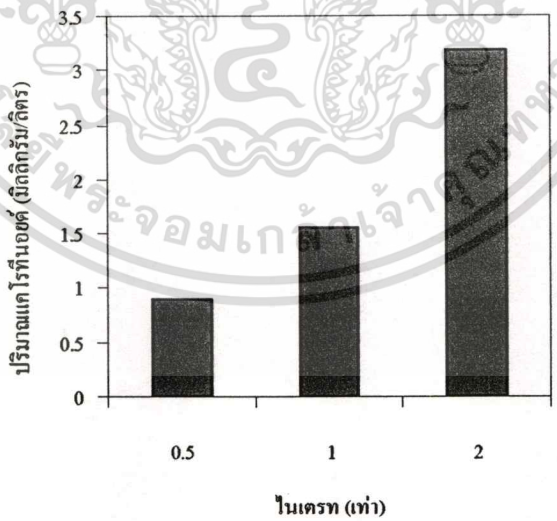


รูปที่ 4.8 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงผลของไนเตรทต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.10 แสดงผลของไนเตรทต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่แปรผันไนเตรทในรูปของ KNO_3 เป็น 0.5, 1, 2, และ 3 เท่าของสูตรอาหาร (1 เท่าตามสูตรอาหารของ Sorokin และ Krauss เท่ากับ 1.25 กรัมต่อลิตร) พบว่าที่ความเข้มข้นไนเตรท 1 เท่า ผลิตคาโรทีนและแซนโทฟิลล์มากที่สุด และผลิตลดลงเมื่อความเข้มข้นไนเตรทสูงขึ้น สำหรับการเจริญของเซลล์นั้นพบว่าความเข้มข้นไนเตรทในช่วงที่ทำการศึกษา เซลล์มีการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกัน แต่การให้ปริมาณไนโตรเจนที่มากเกินพอจะทำให้หยุดการเจริญของสาหร่ายได้เนื่องจากทำให้เกิดความเป็นพิษ (Jeanfils และคณะ, 1993) ถ้าให้ไนโตรเจนที่ต่ำเกินไปก็จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทำให้มีการเจริญเติบโตที่ไม่ดี แต่จะทำให้มีการสะสมแคโรทีนอยด์แทน (Marin และคณะ, 1998) Mandalam และ Palsson (1998) ได้ทดลองเพิ่มโปตัสเซียมไนเตรทลงในอาหาร N-8 พบว่า *Chlorella vulgaris* มีการเจริญเติบโตและการสร้างคลอโรฟิลล์เอไม่แตกต่างกันทางสถิติจากอาหารสูตรเดิม (โปตัสเซียมไนเตรท 1 เท่า เท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร)

4.1.2 ฟอสเฟต

เมื่อทดลองแปรผันฟอสเฟตที่เลี้ยงสาหร่ายโดยเตรียมปริมาณฟอสเฟตในรูปของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ในอาหาร BBM และ N-8 ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ในอาหาร BG-11 และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ในอาหาร f/2 เท่ากับ 0.5, 1 และ 2 เท่าในแต่ละสูตร ได้ผลดังตารางที่ 4.2 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นฟอสเฟตเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร สามารถผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.59 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นฟอสเฟตเป็น 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.57 และ 0.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 0.5 เท่ากับที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 1 และ 2 เท่า ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 เท่า มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของแคโรทีนอยด์มีค่าเหมือนกับการเจริญเติบโต (รูปที่ 4.11 และ 4.12)

Scenedesmus sp. มีการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 0.5, 1 และ 2 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.43, 1.32, และ 1.46 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.87 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 และ 2 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.77 และ 2.44 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.13 และ 4.14)

Spirulina sp.TISTR8250 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นฟอสเฟตเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.19 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 2 เท่า มีการผลิตเซลล์ได้ไม่ต่างกันมากนักคือ 1.05 และ 1.00 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 1 กับ 2 เท่า ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 เท่า มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.64 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติกับที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5 และ 2 เท่า ที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.02 และ 2.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.15 และ 4.16)

Chaetoceros sp. มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นฟอสเฟตเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.69 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.45 และ 0.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 1 กับ 2 เท่า แต่ทั้ง 2 ความเข้มข้นมีความแตกต่างกันทางสถิติกับที่ความเข้มข้นของฟอสเฟต 0.5 เท่า ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 2 เท่า มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.30 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 และ 0.5 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.94 และ 1.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีแตกต่างกันระหว่างที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5 และ 2 เท่า (รูปที่ 4.7 และ 4.18)

Dunaliella sp. มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ทุกความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5 และ 1 เท่าผลิตปริมาณเซลล์มากที่สุดคือ 0.43 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 2 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.41 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 0.5 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 1.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้นฟอสเฟต 1 และ 2 เท่า มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ใกล้เคียงกันคือ 1.54 และ 1.57 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.19 และ 4.20)

เมื่อเพิ่มปริมาณฟอสเฟตทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เป็นเพราะฟอสเฟตเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญของเซลล์ เนื่องจากฟอสฟอรัสมีหน้าที่สำคัญในเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวกับการถ่ายทอดพลังงานโดยเป็นองค์ประกอบของสารที่ให้พลังงาน เช่น ATP จึงทำให้มีพลังงานในการสร้างเซลล์และแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ในการทดลองพบว่า *Spirulina* sp.TISTR8250, *Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.TISTR8261 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณฟอสเฟตเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร อาจเป็นเพราะปริมาณฟอสเฟตที่มีมากเกินพอไปยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ยกเว้น *Chaetoceros* sp. เช่นเดียวกับกนกอร (2543) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตลงไปในอาหารที่เลี้ยงสาหร่ายกลับผลิตแคโรทีนอยด์ได้ลงลง ฟอสเฟตมีความเข้มข้นมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การสังเคราะห์เบต้าแคโรทีนลดลง (Dholakia และ Modi, 1984) ปริมาณความต้องการฟอสเฟตของสาหร่ายจะแตกต่างกันไปขึ้นกับสายพันธุ์สาหร่ายและสภาวะ

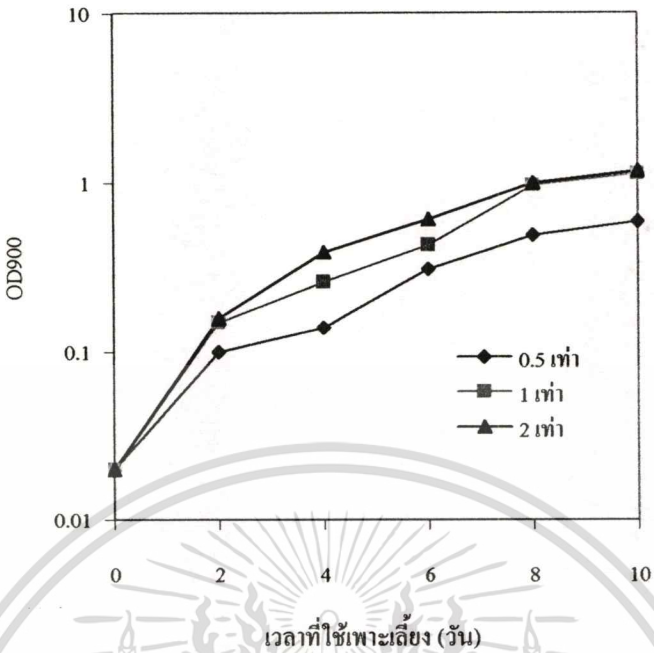
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ใน วันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

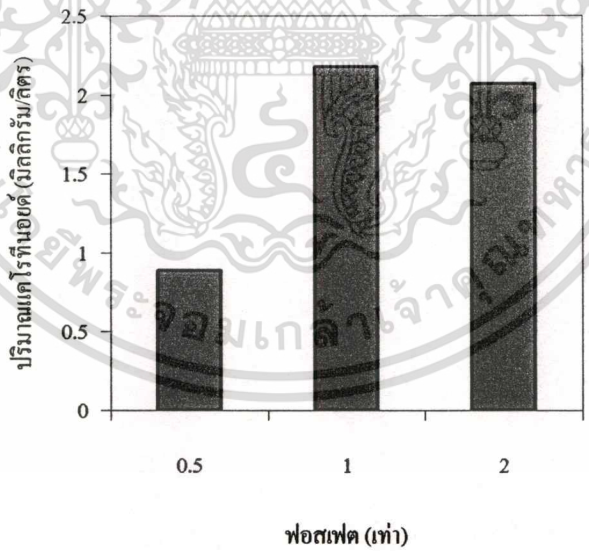
สายพันธุ์สาหร่าย	ความเข้มข้นฟอสเฟต (เท่า)	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	0.5	0.30^{a}	0.89^{a}	0.338
	1	0.57^{b}	2.18^{b}	0.403
	2	0.59^{b}	2.07^{b}	0.408
Scenedesmus sp.	0.5	1.43^{ns}	2.87^{ns}	0.449
	1	1.32^{ns}	2.77^{ns}	0.441
	2	1.46^{ns}	2.44^{ns}	0.452
Spirulina sp. TISTR8250	0.5	1.05^{ab}	2.02^{a}	0.386
	1	1.19^{a}	2.64^{b}	0.398
	2	1.00^{b}	2.06^{a}	0.382
Chaetoceros sp.	0.5	0.90^{a}	1.28^{a}	0.302
	1	1.45^{b}	1.94^{ab}	0.349
	2	1.69^{b}	2.30^{b}	0.365
Dunaliella sp.	0.5	0.43^{ns}	1.58^{ns}	0.357
	1	0.43^{ns}	1.54^{ns}	0.358
	2	0.41^{ns}	1.57^{ns}	0.353

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

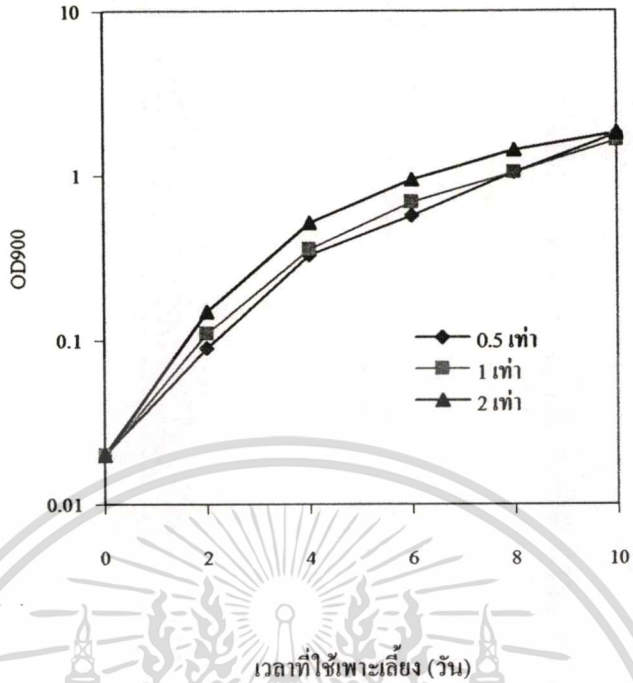


รูปที่ 4.11 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

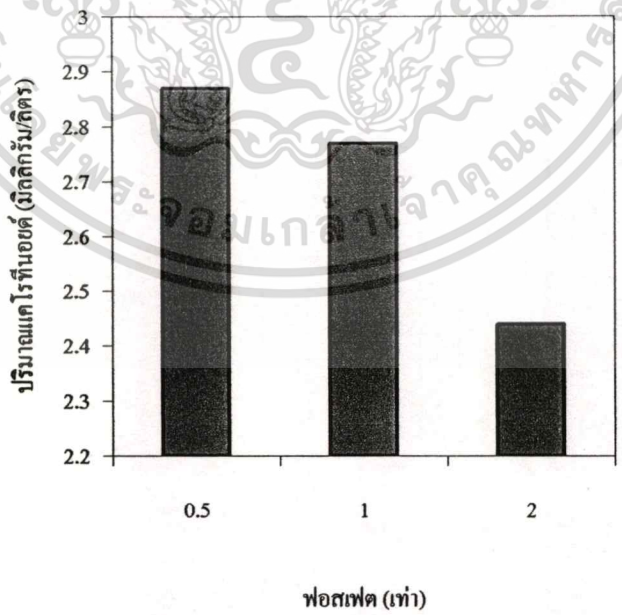


รูปที่ 4.12 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

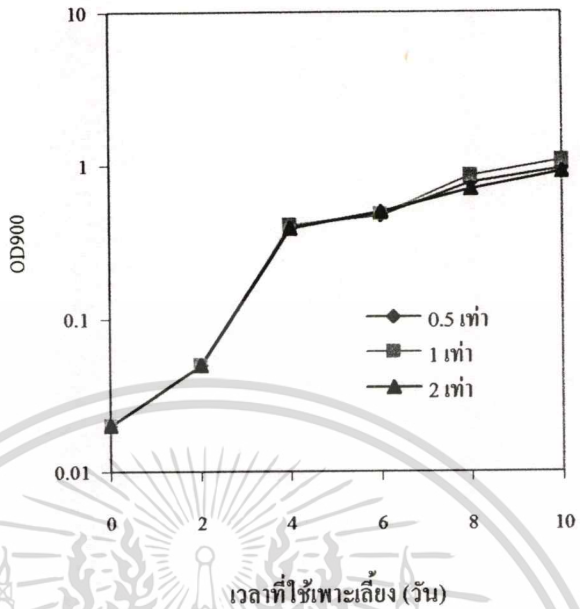


รูปที่ 4.13 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

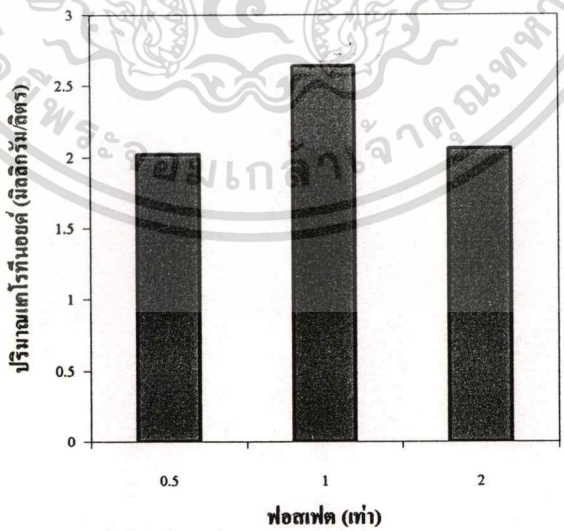


รูปที่ 4.14 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

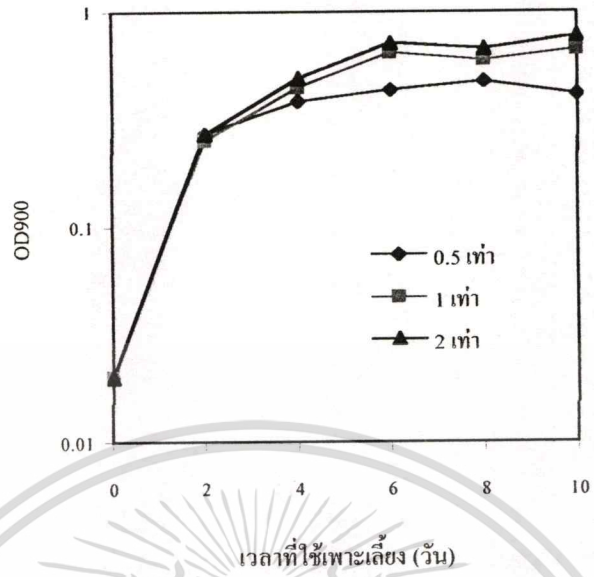


รูปที่ 4.15 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

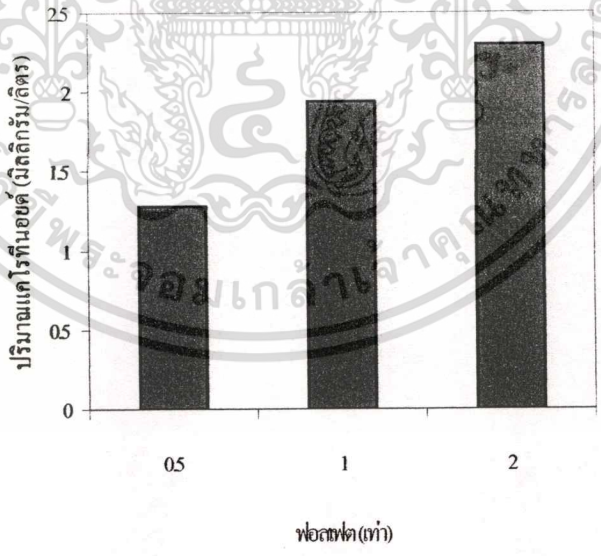


รูปที่ 4.16 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

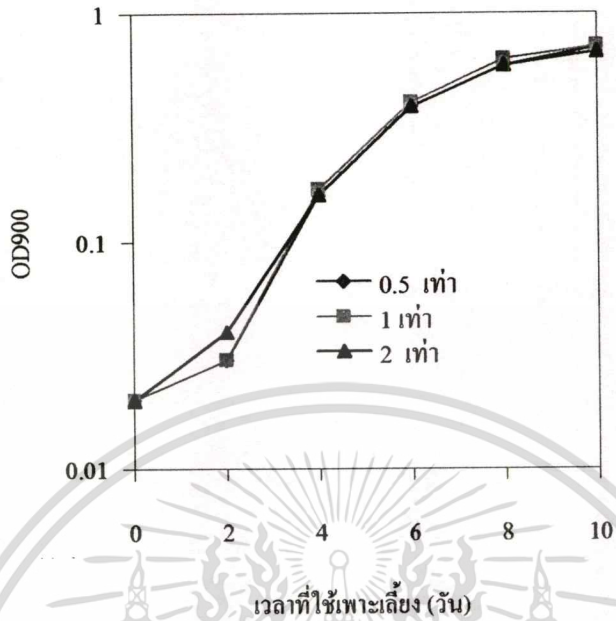


รูปที่ 4.17 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.18 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 แสดงผลของฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

รูปที่ 4.20 แสดงผลของฟอสเฟตต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แวดล้อม ส่วนความเข้มข้นของฟอสเฟตที่เหมาะสมในอาหารขึ้นอยู่กับความสามารถในการทนทานของสาหร่ายแต่ละชนิด

4.1.3 แมกนีเซียม

เมื่อทดลองแปรผันแมกนีเซียมที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายโดยเตรียมปริมาณแมกนีเซียมในรูปของแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$) เท่ากับ 0.5, 1 และ 2 เท่าในแต่ละสูตร ได้ผลดังตารางที่ 4.3 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นของแมกนีเซียมเป็น 0.5 เท่าของสูตรอาหาร สามารถผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.46 กรัมต่อลิตร จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันกับการเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 1 เท่า ซึ่งผลิตเซลล์ได้ 0.45 กรัมต่อลิตร แต่มีความแตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 2 เท่า ซึ่งผลิตเซลล์ได้ 0.32 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 ความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 0.5 เท่า มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุด คือ 1.80 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นของแมกนีเซียม 1 และ 2 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.39 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.21 และ 4.22)

Scenedesmus sp. มีการผลิตเซลล์มากเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นแมกนีเซียมเป็น 1 เท่า ผลิตได้ 0.93 กรัมต่อลิตร จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 1 กับ 2 เท่า ที่ผลิตเซลล์ได้ 0.91 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 0.5 เท่า ผลิตเซลล์ได้ 0.72 กรัมต่อลิตร การผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 1 เท่า มีการผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดคือ 2.32 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 2 และ 0.5 เท่า โดยผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.17 และ 1.86 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 1 กับ 2 เท่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ความเข้มข้นของแมกนีเซียม 1 และ 2 เท่า มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มข้นของแมกนีเซียม 0.5 เท่า (รูปที่ 4.23 และ 4.24)

Spirulina sp.TISTR8250 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) ที่ความเข้มข้นของแมกนีเซียม 2 เท่า ผลิตเซลล์ได้มากที่สุดคือ 1.11 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 1 และ 0.5 เท่า ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.05 และ 0.76 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 2 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.41 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้นแมกนีเซียม 1 และ 0.5 เท่า ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.27 และ 1.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.25 และ 4.26)

การเพิ่มปริมาณแมกนีเซียมลงในสูตรอาหารทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีขึ้นเนื่องจากแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ เมื่อมีคลอโรฟิลล์มากขึ้นทำให้มีการนำพลังงานที่ได้จากการดูดกลืนแสงมาสร้างเซลล์ทำให้มีการเจริญได้ดี แต่ปริมาณแมกนีเซียมที่สูงไม่ช่วยให้มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สะสมแคโรทีนอยด์ เนื่องจากมีการนำแมกนีเซียมไปใช้ในการสร้างคลอโรฟิลล์มากกว่าการสร้างแคโรทีนอยด์ ดังนั้นการผลิตแคโรทีนอยด์จึงเป็นไปอย่างปกติ เซลล์จึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องทำการผลิตให้มากขึ้น ในการทดลอง *Scenedesmus* sp. และ *Chlorella* sp.TISTR8261 ผลิตแคโรทีนอยด์สูงขึ้นเมื่อลดปริมาณแมกนีเซียมเป็นครึ่งหนึ่งของอาหาร เช่นเดียวกับการทดลองของอรพรรณ (2532) เมื่อลดปริมาณแมกนีเซียมในอาหารลงครึ่งเท่าพบว่า *Chlorella* sp. ผลิตแคโรทีนและแซนโทฟิลล์สูงขึ้นกว่าอาหารปกติ เนื่องจากการขาดแมกนีเซียมเป็นสิ่งกระตุ้นให้เซลล์สังเคราะห์คาโรทีนและแซนโทฟิลล์เพิ่มมากขึ้นเพื่อความอยู่รอด ในการทดลองไม่ได้ทดสอบผลของแมกนีเซียมของ *Chaetoceros* sp. และ *Dunaliella* sp. เนื่องจากในสูตรอาหาร f/2 ไม่มีแมกนีเซียมเป็นส่วนผสม เป็นเพราะในน้ำทะเลตามธรรมชาติมีปริมาณแมกนีเซียมเพียงพอกับความต้องการของสาหร่าย สาหร่ายต้องการอิออนบวกสำหรับการเจริญเติบโตซึ่งมีอยู่ในบริเวณที่มีความเค็ม อิออนส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยแคลเซียมอิออนและแมกนีเซียมอิออน การเปลี่ยนแปลงของสมดุลย์ของแคลเซียมอิออนและแมกนีเซียมอิออนจะเกิดขึ้นเมื่อความเค็มของน้ำทะเลเปลี่ยนจาก 1 M เป็น 4 M ซึ่งอัตราส่วนของแมกนีเซียมอิออนต่อแคลเซียมอิออนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Dunaliella tertiolecta* เท่ากับ 4 และการเจริญจะถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของแมกนีเซียมอิออนเพิ่มขึ้น (Borowitzka และ Borowitzka, 1988)

4.1.4 ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหาร

เมื่อทดลองแปรผันความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารโดยให้ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของสูตรอาหาร N-8, BBM และ f/2 เป็น6, 7 และ 8 สูตรอาหาร BG-11 เป็น 7, 8 และ 9 ได้ผลดังตารางที่ 4.4 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 มีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.23 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 7 และ 6 ผลิตเซลล์ได้ 1.19 และ 1.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีค่าแตกต่างกันระหว่าง 6 กับ 8 ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 3.73 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 7 และ 6 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 3.30 และ 2.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติมีผลเช่นเดียวกับการเจริญ (รูปที่ 4.27 และ 4.28)

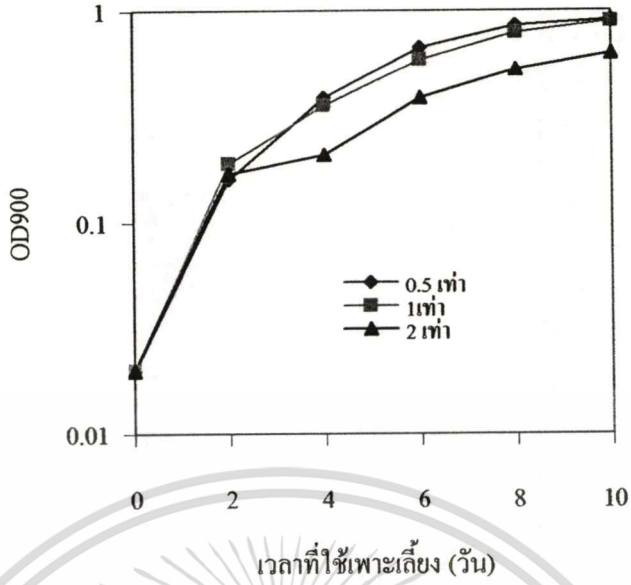
Scenedesmus sp. มีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 6 ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.8 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 และ 7 ผลิตเซลล์ได้ 0.70 และ 0.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีค่าแตกต่างกันระหว่าง 6 กับ 7 ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 1.51 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 6 และ 7 ผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

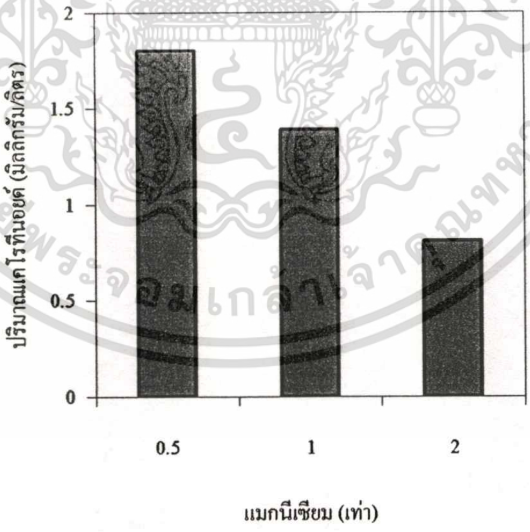
ตารางที่ 4.3 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

สายพันธุ์สาหร่าย	ความเข้มข้นแมกนีเซียม (เท่า)	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	0.5	0.46^{a}	1.80^{a}	0.382
	1	0.45^{a}	1.39^{b}	0.380
	2	0.32^{b}	0.81^{c}	0.345
Scenedesmus sp.	0.5	0.72^{a}	1.86^{a}	0.381
	1	0.93^{b}	2.32^{b}	0.406
	2	0.91^{b}	2.17^{c}	0.404
Spirulina sp. TISTR8250	0.5	0.76^{a}	1.60^{a}	0.354
	1	1.05^{b}	2.27^{b}	0.386
	2	1.11^{c}	2.41^{c}	0.392

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

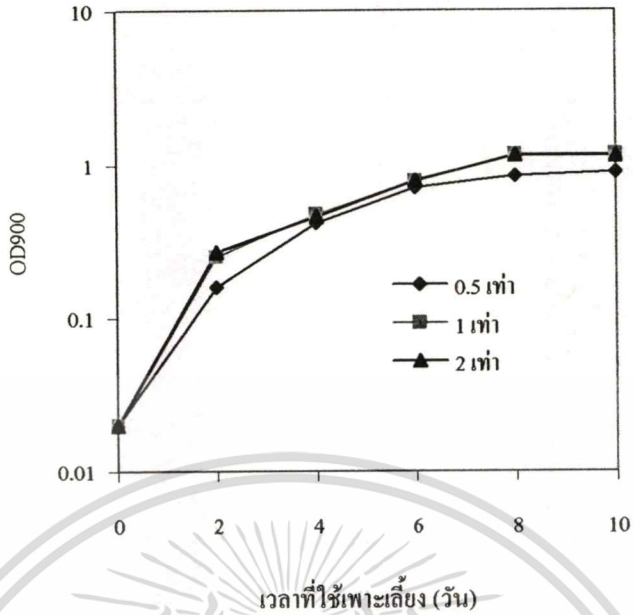


รูปที่ 4.21 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

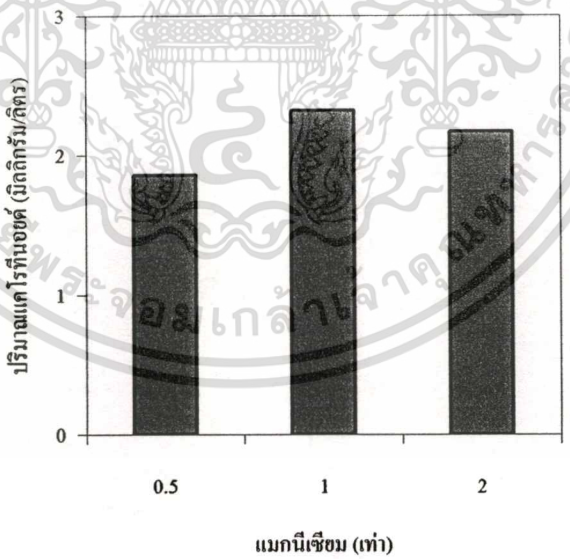


รูปที่ 4.22 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

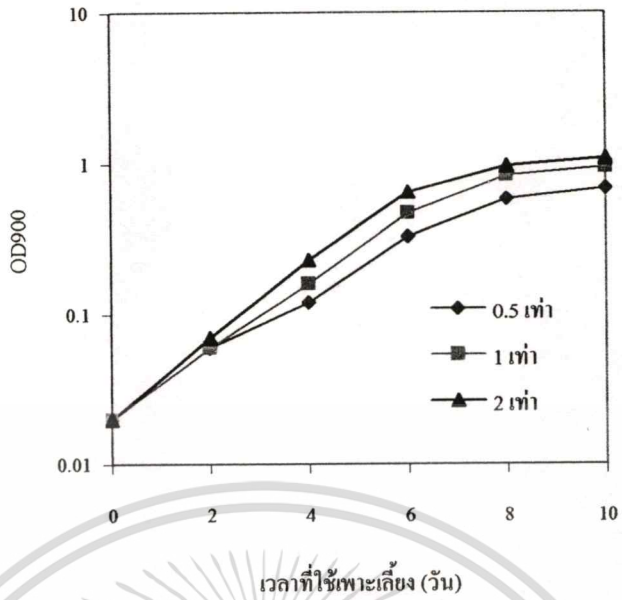


รูปที่ 4.23 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

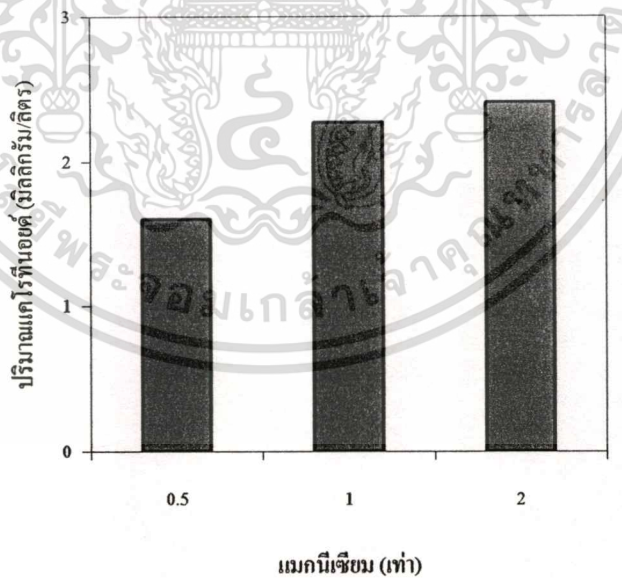


รูปที่ 4.24 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.26 แสดงผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์ได้ 1.10 และ 0.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าแตกต่างกันตามสถิติ (รูปที่ 4.29 และ 4.30)

Spirulina sp.TISTR8250 มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.18 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 7 และ 9 ผลิตเซลล์ได้ ใกล้เคียงกันคือ 1.07 และ 1.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.75 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 7 และ 9 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.30 และ 2.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.31 และ 4.32)

Chaetoceros sp. โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 6 และ 7 มีผลิตปริมาณเซลล์เท่ากันคือ 1.58 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.30 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 6 กับ 7 มีค่าไม่แตกต่างกัน ส่วนความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 8 มีค่าแตกต่างกับ 6 และ 7 ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าไม่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ โดยอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 7 มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.48 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 6 และ 8 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.40 และ 2.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.33 และ 4.34)

Dunaliella sp. มีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 7 ผลิตปริมาณเซลล์คือ 0.47 กรัมต่อลิตร รองลงมาคืออาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 8 และ 6 ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.45 และ 0.41 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 6 กับ 7 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่า อาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นเป็น 6 มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 1.64 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 7 และ 8 ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.55 และ 1.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 6 กับ 8 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 4.35 และ 4.36)

ในการทดลอง *Spirulina* sp.TISTR8250 มีการเจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกันเนื่องจากเป็นสาหร่ายที่เจริญเติบโตได้ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่างที่กว้าง สอดคล้องกับกนกอร (2543) พบว่าไซยาโนแบคทีเรียส่วนมากมีการเจริญไม่แตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงที่ระดับ pH ต่างกันเพียงเล็กน้อย (pH 7-8) ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อ *Dunaliella* sp. เท่ากับ 7 - 8 แต่ถ้าค่านี้สูงหรือต่ำกว่านี้ก็ยังสามารถเจริญได้ดี (วราทิพย์, 2540)

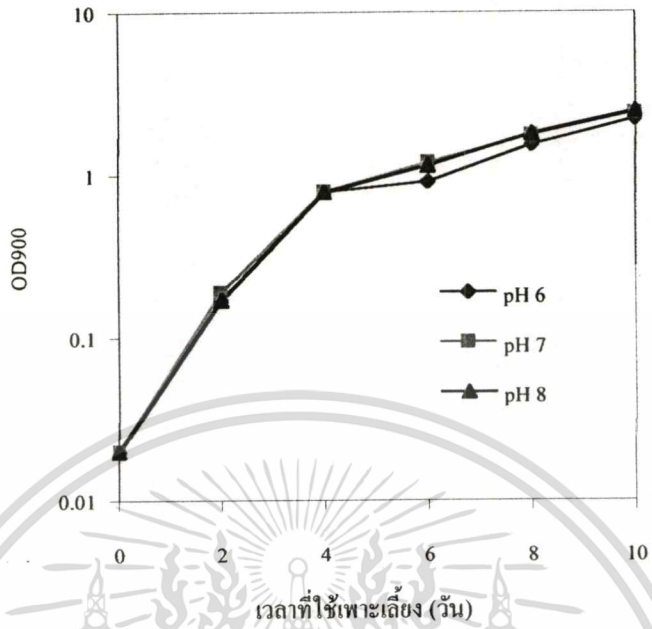
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

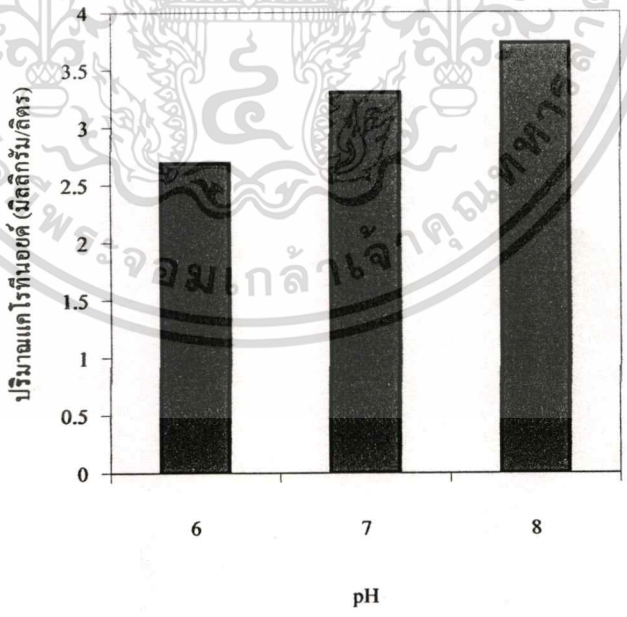
สายพันธุ์สาหร่าย	pH	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	6	1.09^{a}	2.69^{a}	0.469
	7	1.19^{ab}	3.30^{ab}	0.477
	8	1.23^{b}	3.73^{b}	0.481
Scenedesmus sp.	6	0.80^{a}	1.10^{a}	0.391
	7	0.46^{b}	0.80^{b}	0.335
	8	0.70^{ab}	1.51^{c}	0.378
Spirulina sp. TISTR8250	7	1.07^{ns}	2.30^{ns}	0.388
	8	1.18^{ns}	2.75^{ns}	0.398
	9	1.03^{ns}	2.28^{ns}	0.385
Chaetoceros sp.	6	1.58^{a}	2.40^{ns}	0.358
	7	1.58^{a}	2.48^{ns}	0.358
	8	1.30^{b}	2.22^{ns}	0.338
Dunaliella sp.	6	0.41^{a}	1.64^{a}	0.353
	7	0.47^{b}	1.55^{ab}	0.366
	8	0.45^{ab}	1.45^{b}	0.362

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

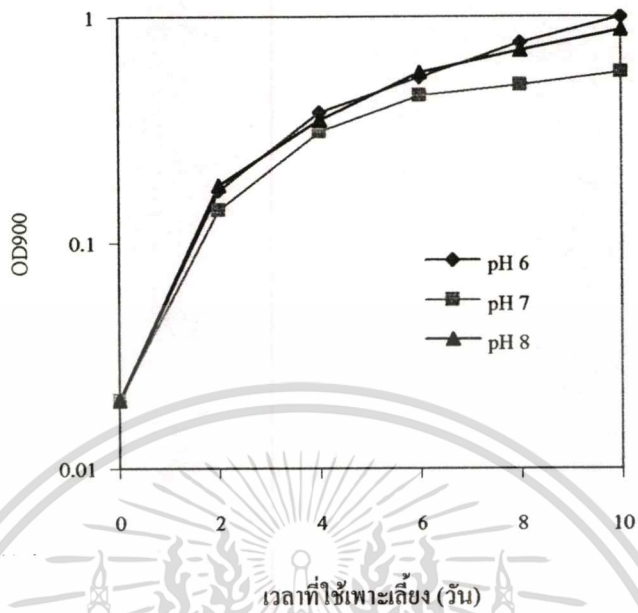


รูปที่ 4.27 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

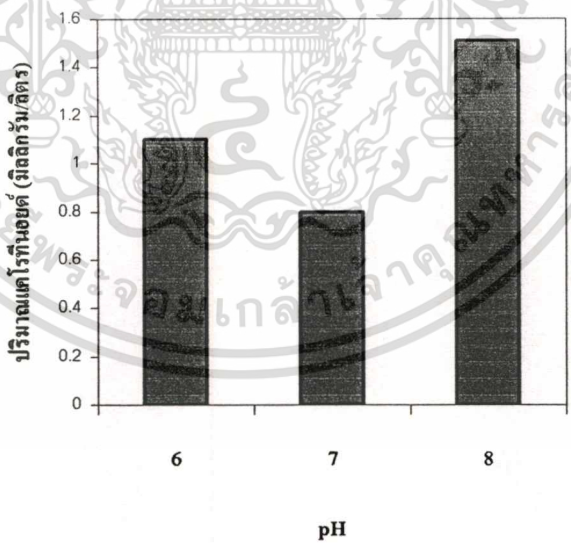


รูปที่ 4.28 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

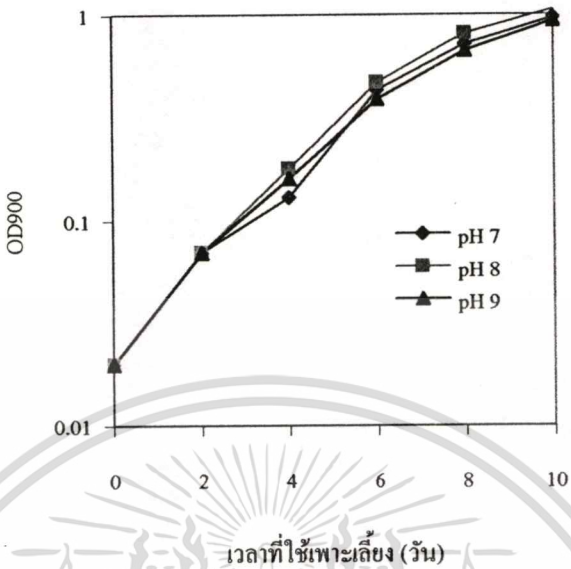


รูปที่ 4.29 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

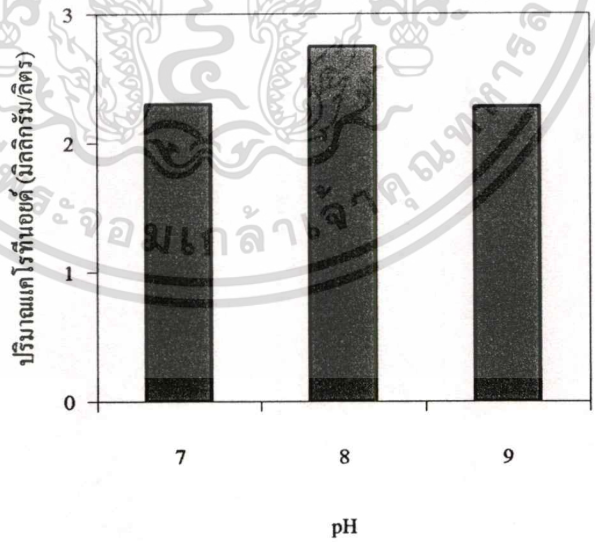


รูปที่ 4.30 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

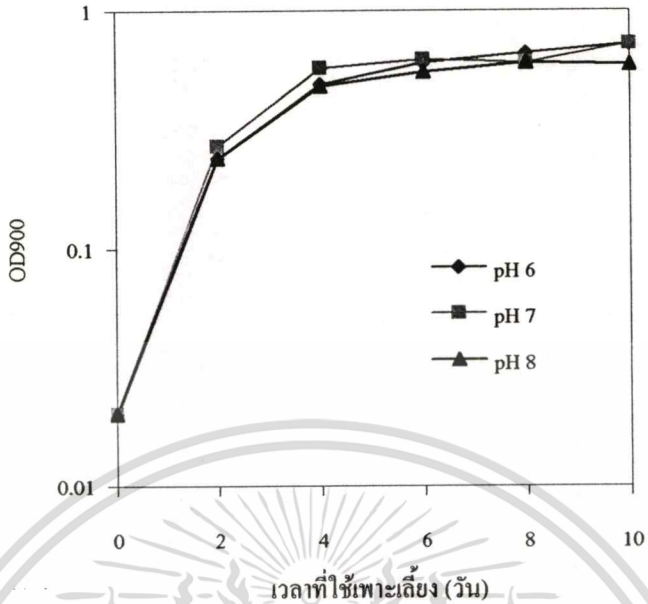


รูปที่ 4.31 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโต ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

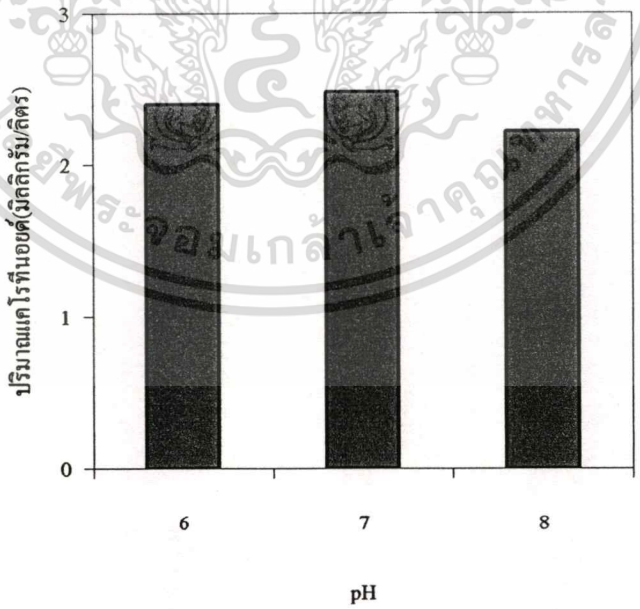


รูปที่ 4.32 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

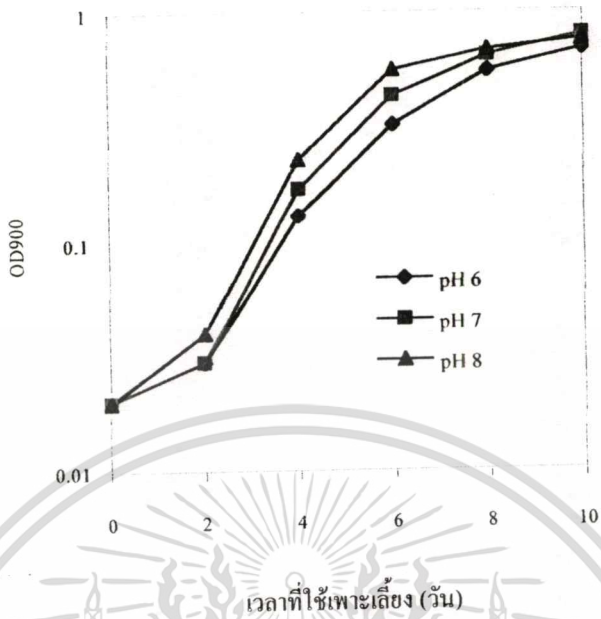


รูปที่ 4.33 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

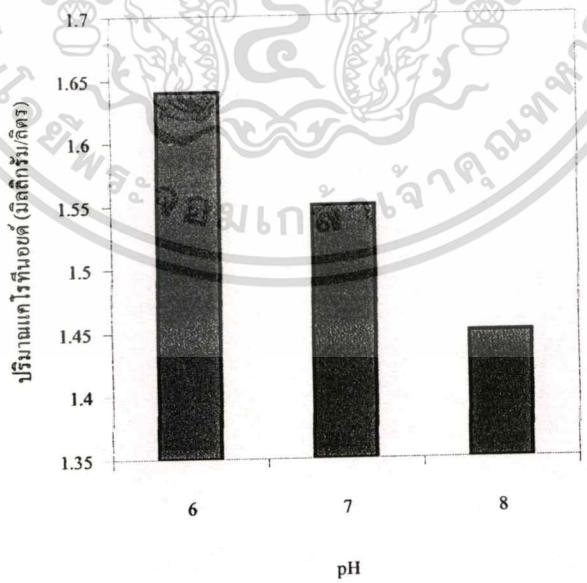


รูปที่ 4.34 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.36 แสดงผลของความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 ความเข้มแสง

เมื่อทดลองแปรผันโดยให้ความเข้มแสงเป็น 2000, 3000 และ 4000 ลักซ์ ได้ผลดังตารางที่ 4.5 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 มีการเจริญแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ให้ความเข้มแสงเป็น 4000 ลักซ์ ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.82 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตเซลล์ได้ 0.38 และ 0.085 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มแสง 4000 ลักซ์ มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.49 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.14 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มแสง 2000 และ 3000 ลักซ์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ที่ความเข้มแสง 4000 ลักซ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มแสง 2000 และ 3000 ลักซ์ (รูปที่ 4.37 และ 4.38)

Scenedesmus sp. มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ให้ความเข้มแสงเป็น 4000 ลักซ์ ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.10 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตเซลล์ได้ 0.62 และ 0.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มแสง 4000 ลักซ์ มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 3.03 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.59 และ 0.56 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.39 และ 4.40)

Spirulina sp.TISTR8250 มีการเจริญแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ให้ความเข้มแสงเป็น 4000 ลักซ์ ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.91 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตเซลล์ได้ 0.57 และ 0.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มแสง 4000 ลักซ์ มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 1.70 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.67 และ 0.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มแสง 3000 และ 4000 ลักซ์ (รูปที่ 4.41 และ 4.42)

Chaetoceros sp. มีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ให้ความเข้มแสงเป็น 4000 ลักซ์ ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 1.01 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตเซลล์ได้ 0.70 และ 0.55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มแสง 2000 กับ 4000 ลักซ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 2.60 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 4000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 2.55 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าที่ความเข้มแสง 2000 ลักซ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มแสง 3000 และ 4000 ลักซ์ (รูปที่ 4.43 และ 4.44)

Dunaliella sp. มีการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) โดยมีการเจริญมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ให้ความเข้มแสงเป็น 4000 ลักซ์ ผลิตปริมาณเซลล์ได้ 0.47 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตเซลล์ได้ 0.39 และ 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าที่ความเข้มแสง 4000 ลักซ์ มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 1.10 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 3000 และ 2000 ลักซ์ ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 0.86 และ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.45 และ 4.46)

จากผลการทดลองพบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีตามความเข้มแสงที่สูงขึ้น เนื่องจากแสงเป็นสิ่งจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อใช้ในการเจริญเพิ่มปริมาณเซลล์ จึงทำให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงขึ้นตามจำนวนเซลล์ที่มีมาก รวมทรัพย์ (2540) กล่าวว่าความเข้มแสงที่เหมาะสมกับสาหร่ายสีเขียวจะอยู่ในช่วง 5 – 7.5 กิโลลักซ์ ขณะที่ไดอะตอมและไดโนแฟลกเจลเลตจะอยู่ในช่วง 10 – 20 และ 25 – 30 กิโลลักซ์ ตามลำดับ Chen และคณะ (1996) พบว่าที่ความเข้มแสงที่มากกว่า 4 กิโลลักซ์ จะไปหยุดยั้งการทำงานของกระบวนการสังเคราะห์แสงของ *Spirulina* sp. และที่ความเข้มแสงต่ำกว่า 2 กิโลลักซ์ อัตราสังเคราะห์แสงจะหยุดลงอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน

4.1.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

หลังจากทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายโดยการแปรผันไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหาร และความเข้มแสงของสาหร่ายในอาหารสูตรต่าง ๆ พบว่าได้สภาวะปรับปรุงการเลี้ยงสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีดังนี้

Chlorella sp.TISTR8261

อาหารสูตร N-8 ใช้ปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณฟอสเฟตเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณแมกนีเซียมเป็น 0.5 เท่าของสูตรอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 8 ให้ความเข้มแสง 4000 ลักซ์

Scenedesmus sp.

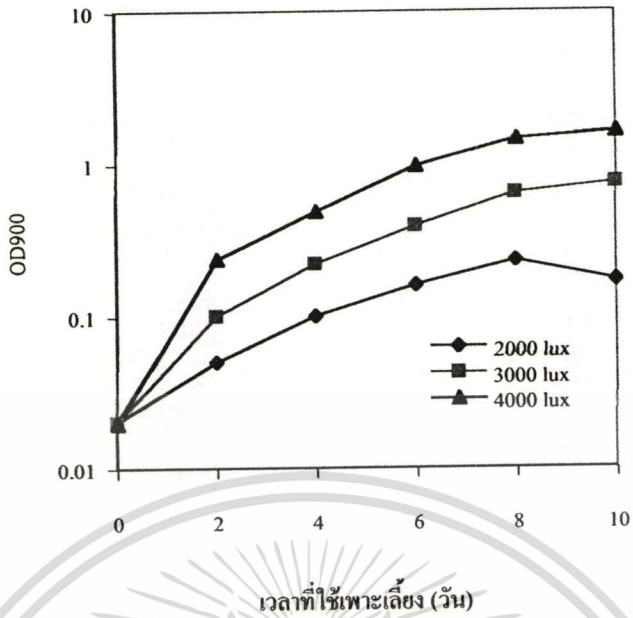
อาหารสูตร BBM ใช้ปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณฟอสเฟตเป็น 0.5 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณแมกนีเซียมเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 8 ให้ความเข้มแสง 4000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

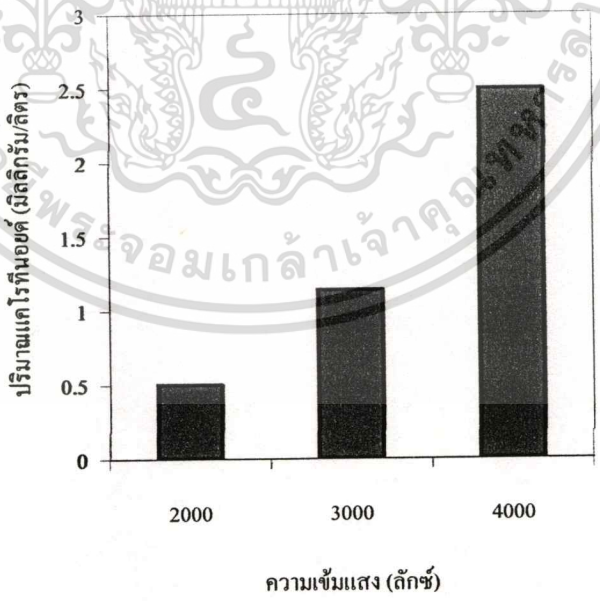
ตารางที่ 4.5 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

สายพันธุ์สาหร่าย	ความเข้มแสง (ลักซ์)	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	2000	0.085^{a}	0.50^{a}	0.214
	3000	0.38^{b}	1.14^{a}	0.362
	4000	0.82^{c}	2.49^{b}	0.44
Scenedesmus sp.	2000	0.18^{a}	0.56^{a}	0.239
	3000	0.62^{b}	1.59^{b}	0.366
	4000	1.10^{c}	3.03^{c}	0.423
Spirulina sp.TISTR8250	2000	0.20^{a}	0.69^{a}	0.219
	3000	0.57^{b}	1.67^{b}	0.326
	4000	0.91^{c}	1.70^{b}	0.373
Chaetoceros sp.	2000	0.55^{a}	0.33^{a}	0.253
	3000	0.70^{ab}	2.60^{b}	0.277
	4000	1.01^{b}	2.55^{b}	0.314
Dunaliella sp.	2000	0.03^{a}	0.46^{a}	0.092
	3000	0.39^{b}	0.86^{b}	0.348
	4000	0.47^{c}	1.10^{c}	0.366

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

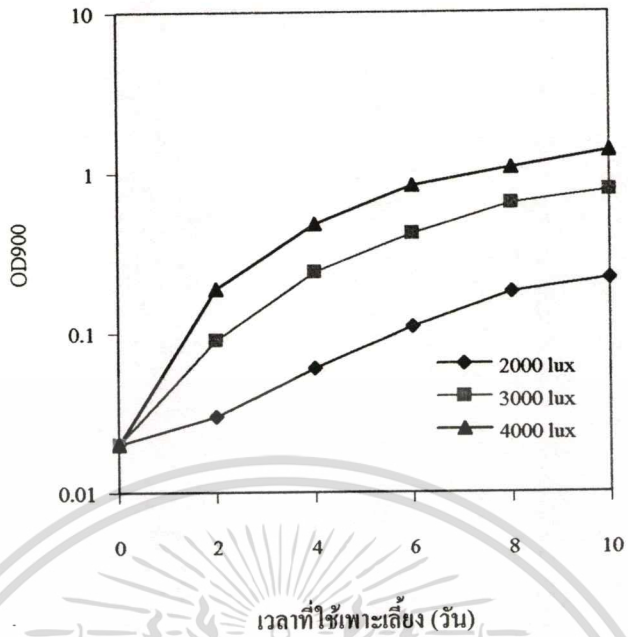


รูปที่ 4.37 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

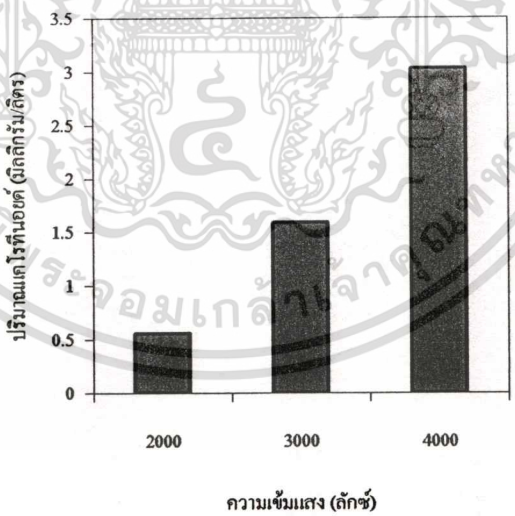


รูปที่ 4.38 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

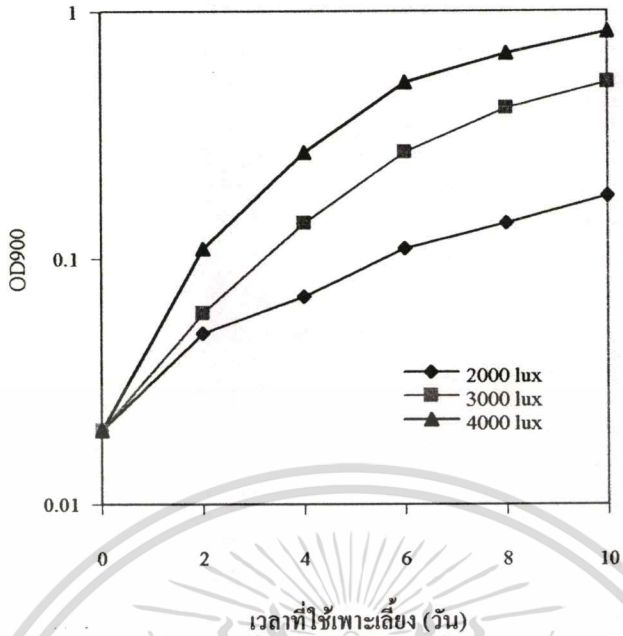


รูปที่ 4.39 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

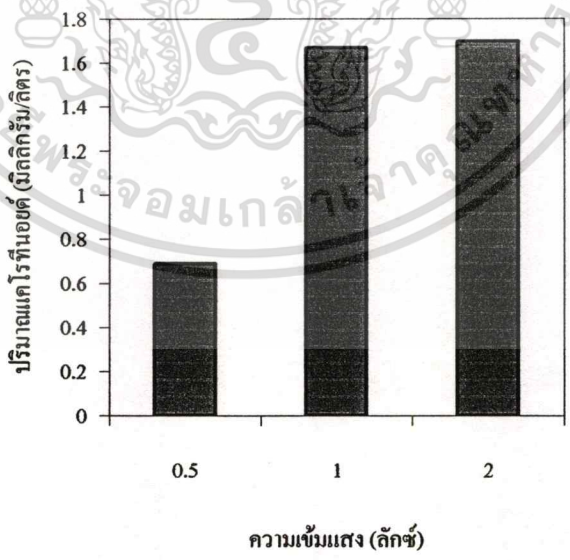


รูปที่ 4.40 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

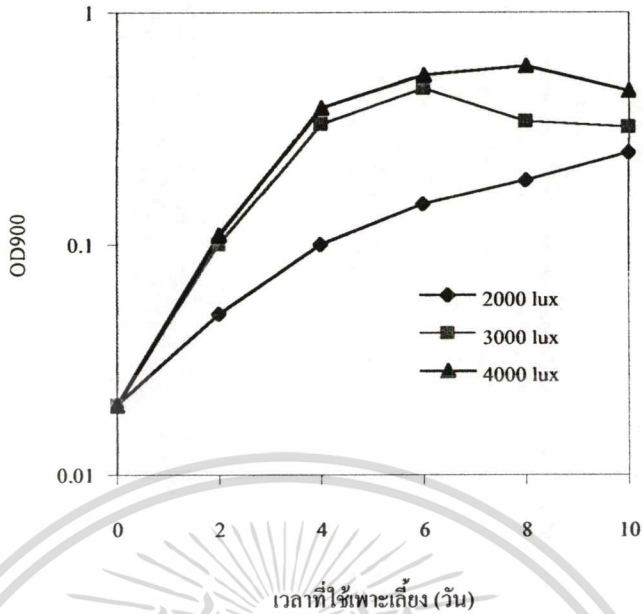


รูปที่ 4.41 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

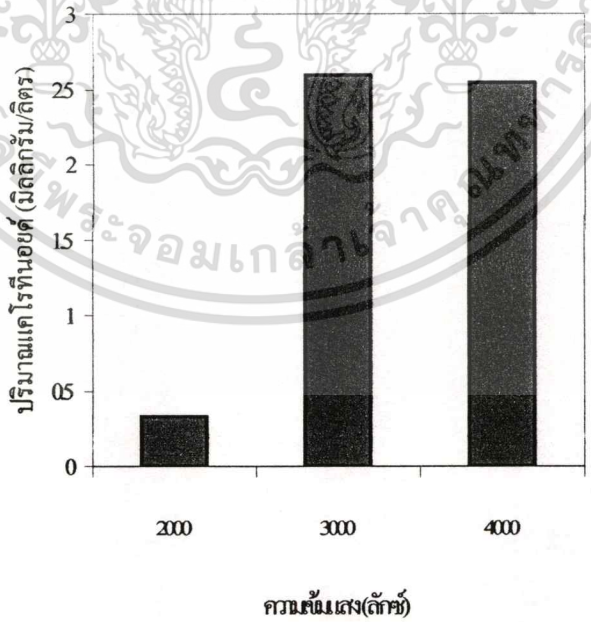


รูปที่ 4.42 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

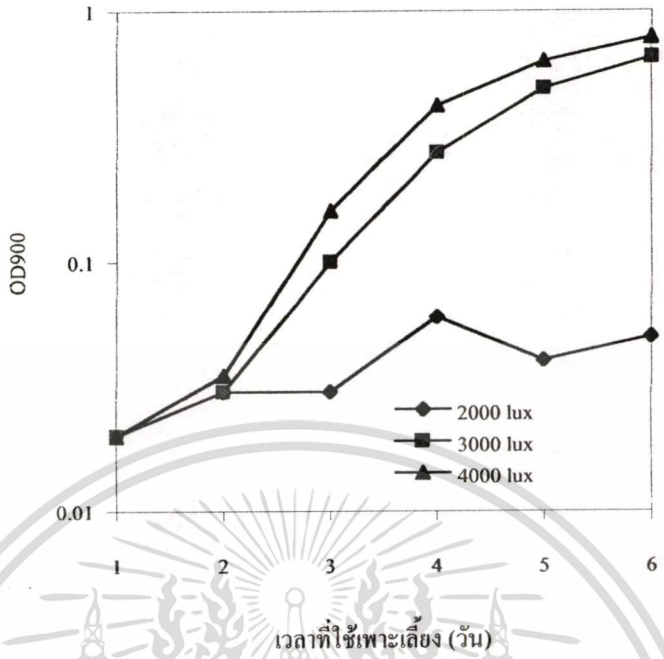


รูปที่ 4.43 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

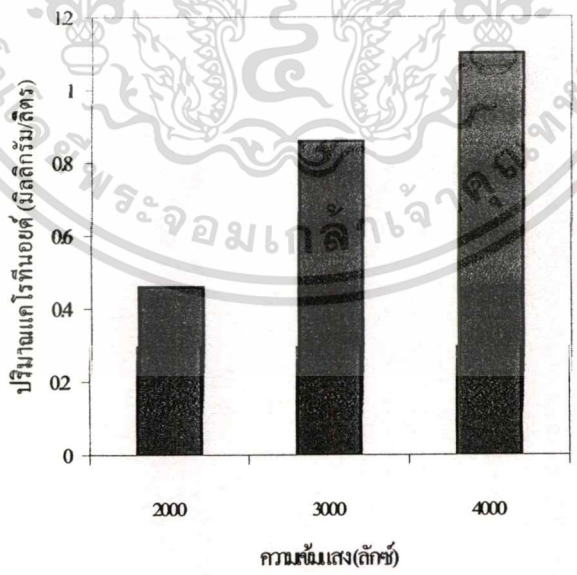


รูปที่ 4.44 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.45 แสดงผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.46 แสดงผลของความเข้มแสงต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spirulina sp.TISTR8250

อาหารสูตร BG-11 ใช้ปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณฟอสเฟตเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณแมกนีเซียมเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 8 ให้ความเข้มแสง 4000 ลักซ์

Chaetoceros sp.

อาหารสูตร f/2 ใช้ปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณฟอสเฟตเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 7 ให้ความเข้มแสง 4000 ลักซ์

Dunaliella sp.

อาหารสูตร f/2 ใช้ปริมาณไนเตรทเป็น 2 เท่าของสูตรอาหาร ปริมาณฟอสเฟตเป็น 1 เท่าของสูตรอาหาร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 7 ให้ความเข้มแสง 4000 ลักซ์

เมื่อทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 5 สายพันธุ์ในอาหารของแต่ละตัว สูตรปกติภายใต้สภาวะปกติเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารของแต่ละสูตรที่ปรับปรุงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ จากการทดลองได้ผลดังตารางที่ 4.6 พบว่า

Chlorella sp.TISTR8261 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในสภาวะที่ปรับปรุงมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) กับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยง โดยเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีการผลิตปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.22 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงปกติที่ผลิตเซลล์ได้ 1.06 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 4.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะปกติที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 3.05 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกัน (รูปที่ 4.47 และ 4.48)

Scenedesmus sp. การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในสภาวะที่ปรับปรุงมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) กับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยง โดยเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีการผลิตปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.50 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงปกติที่ผลิตเซลล์ได้ 1.16 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะปกติที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.47 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกัน (รูปที่ 4.49 และ 4.50)

Spirulina sp.TISTR8250 การเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในสภาวะที่ปรับปรุงไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) กับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยง โดยสภาวะปรับปรุงแล้วพบว่ามีการผลิตเซลล์ได้เท่ากับ 1.50 กรัมต่อลิตร สูงกว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงปกติเพียงเล็กน้อยซึ่งผลิตเซลล์ได้ 1.40 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าเมื่อเลี้ยงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะปกติที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 3.65 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.51 และ 4.52)

Chaetoceros sp. การเจริญเติบโตในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วกับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยงมีปริมาณเซลล์ 0.59 กรัมต่อลิตร สูงกว่าสภาวะปรับปรุงซึ่งผลิตเซลล์ได้ 0.35 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าสภาวะที่ปรับปรุงแล้วกับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.62 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่าสภาวะปกติที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 0.88 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.53 และ 4.54)

Dunaliella sp. การเจริญในสภาวะที่ปรับปรุงไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) กับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยง โดยเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีการผลิตปริมาณเซลล์เท่ากับ 0.59 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงปกติที่ผลิตเซลล์ได้ 0.51 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าสภาวะที่ปรับปรุงแล้วกับสภาวะปกติในการเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 3.56 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าสภาวะปกติที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้ 1.98 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน (รูปที่ 4.55 และ 4.56)

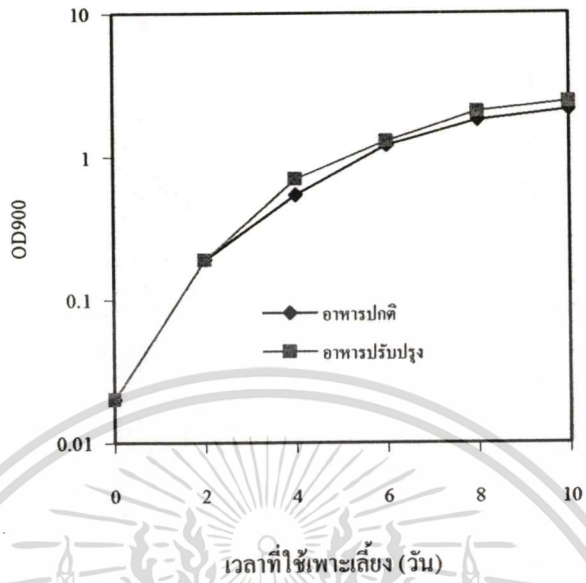
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของสภาวะปกติและสภาวะปรับปรุงต่อการเจริญและแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่าง ๆ ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

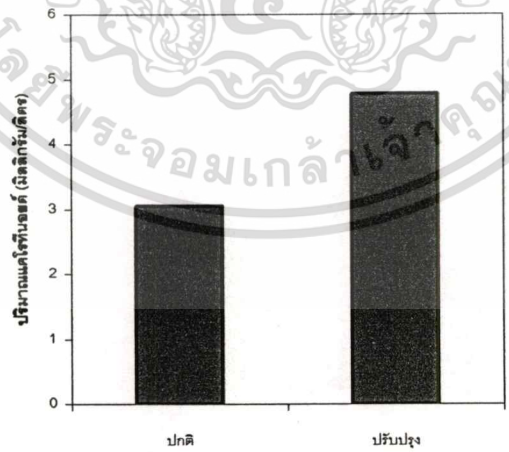
สายพันธุ์สาหร่าย	สภาวะที่เลี้ยง	ปริมาณเซลล์ (g/l)	แคโรทีนอยด์ (mg/l)	μ (d^{-1})
Chlorella sp.TISTR8261	ปกติ	1.06[a]	3.05[a]	0.466
	ปรับปรุง	1.22[b]	4.78[b]	0.479
Scenedesmus sp.	ปกติ	1.16[a]	1.47[a]	0.428
	ปรับปรุง	1.50[b]	2.27[b]	0.454
Spirulina sp. TISTR8250	ปกติ	1.40[ns]	3.65[ns]	0.415
	ปรับปรุง	1.50[ns]	3.71[ns]	0.422
Chaetoceros sp.	ปกติ	0.59[a]	0.88[ns]	0.260
	ปรับปรุง	0.35[b]	0.62[ns]	0.208
Dunaliella sp.	ปกติ	0.51[ns]	1.98[a]	0.375
	ปรับปรุง	0.59[ns]	3.56[b]	0.390

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

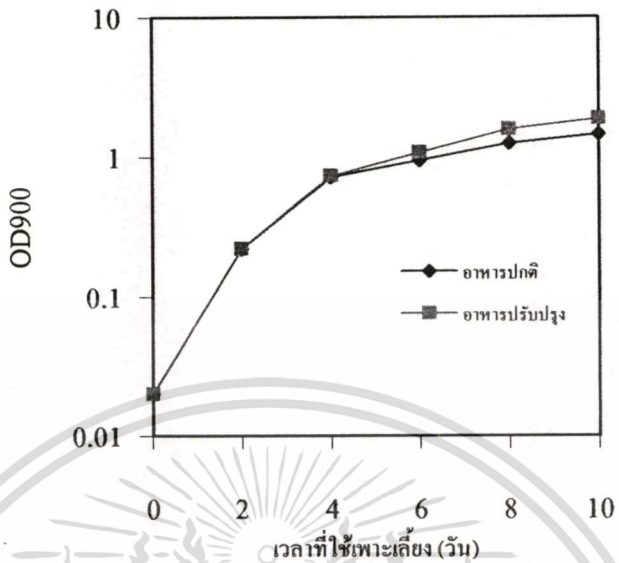


รูปที่ 4.47 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Chlorella* sp.TISTR8261 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

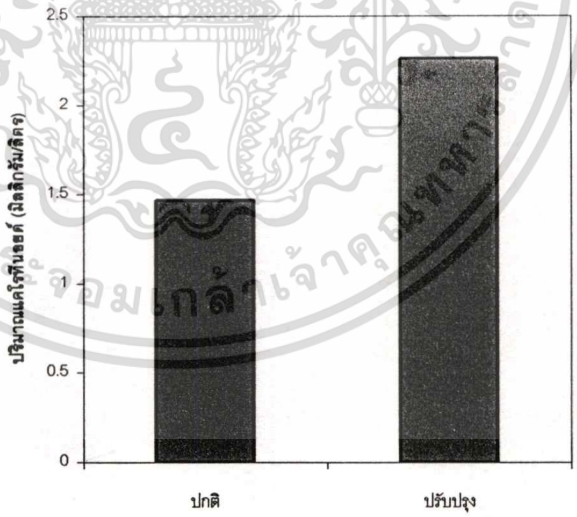


รูปที่ 4.48 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Chlorella* sp.TISTR8261 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

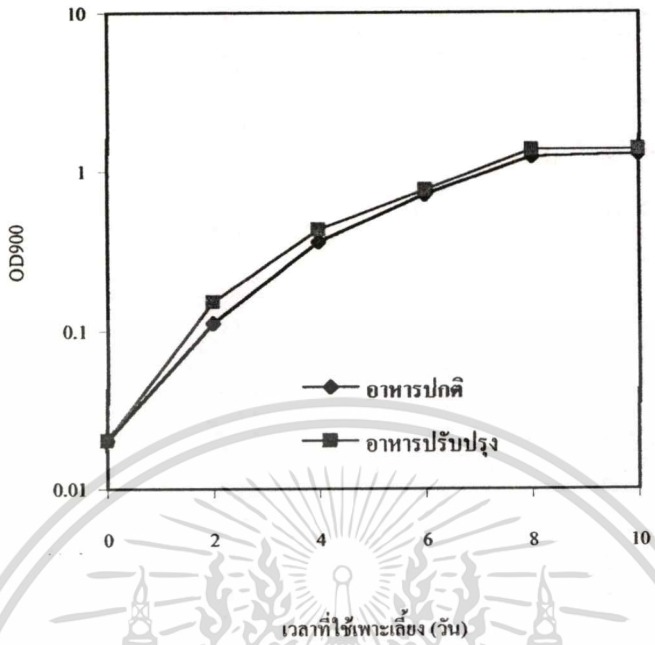


รูปที่ 4.49 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Scenedesmus* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

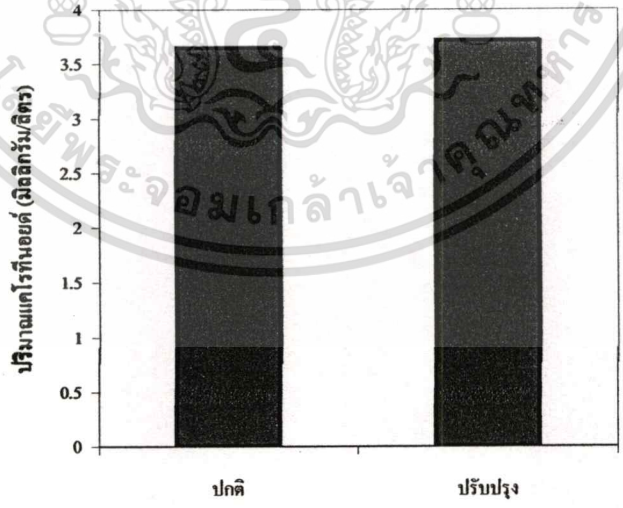


รูปที่ 4.50 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Scenedesmus* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

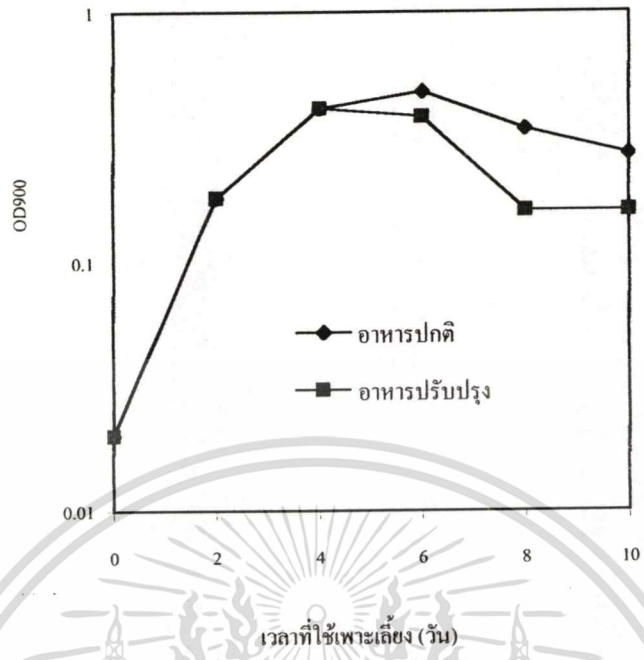


รูปที่ 4.51 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Spirulina* sp.TISTR8250 เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

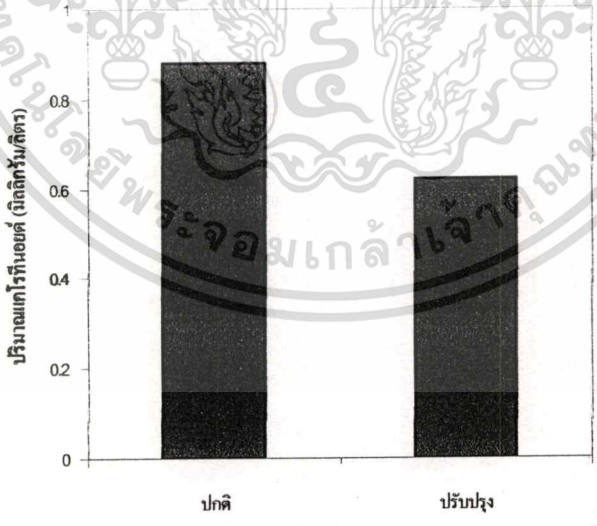


รูปที่ 4.52 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Spirulina* sp.TISTR8250 ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

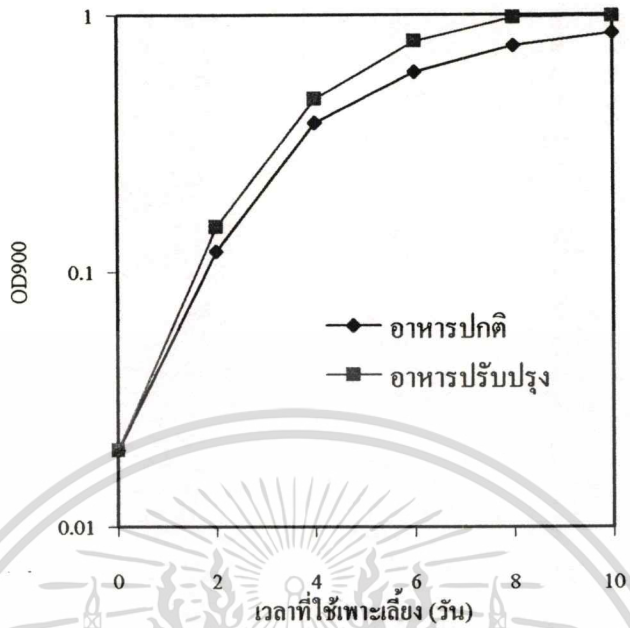


รูปที่ 4.53 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Chaetoceros* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง

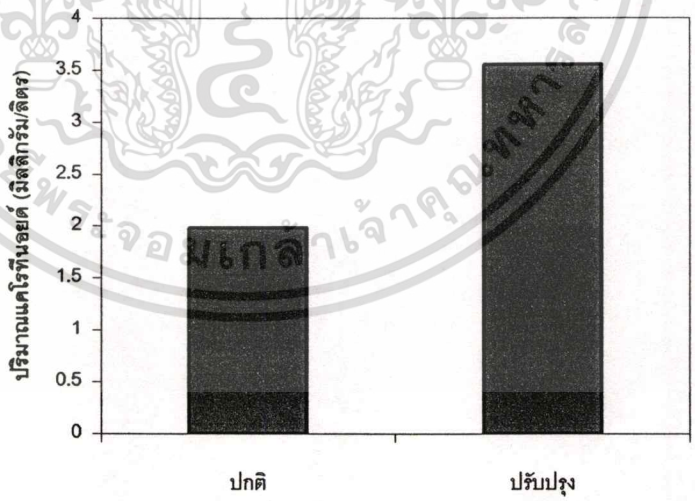


รูปที่ 4.54 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Chaetoceros* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.55 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Dunaliella* sp. เป็นระยะเวลา 10 วัน ของการเพาะเลี้ยง



รูปที่ 4.56 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อเพาะเลี้ยงด้วยสภาวะปกติและสภาวะที่ปรับปรุงของ *Dunaliella* sp. ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การเลี้ยงกุ้ง

4.2.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้ง

เมื่อทำการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยเลี้ยงด้วยอาหารดังนี้คือ สูตรที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อาหารสำเร็จรูป สูตรที่ 2 อาหารไม่ผสมสาหร่าย (ผ่านกระบวนการเช่นเดียวกับการผสมสาหร่าย) สูตรที่ 3 อาหารผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 4 อาหารผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้น 1 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 5 อาหารผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้น 2 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 6 อาหารผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้น 4 เปอร์เซ็นต์ แต่ละชุดการทดลองจะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำนวน 100 ตัวต่อตู้ ให้กุ้งกุลาดำกินอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เตรียมไว้วันละ 5 ครั้ง เวลา 7.00, 11.00, 15.00, 19.00 และ 22.00 นาฬิกา Smith และคณะ (2002) รายงานว่าความถี่ในการให้อาหารกุ้งกุลาดำ 3, 4, 5 และ 6 ครั้งต่อวัน อัตราการเจริญและเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเริ่มการทดลองกุ้งกุลาดำมีน้ำหนักสดเฉลี่ยตัวละประมาณ 0.011 กรัม มีความยาวเฉลี่ยตัวละ 1.52 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยตัวละ 0.00375 กรัม หลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ทำการเก็บกุ้งกุลาดำมาหาค่าการเจริญเติบโตมีผลดังตารางที่ 4.7 พบว่ากุ้งที่มีการเจริญเติบโตดีคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 3 น้ำหนักสดมากที่สุดเฉลี่ยตัวละ 0.243 กรัม มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยตัวละ 0.055 กรัม และมีความยาวลำตัวกุ้งมากที่สุดคือเฉลี่ยตัวละ 3.47 เซนติเมตร รองลงมาคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 5 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยตัวละ 0.209 กรัม มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยตัวละ 0.055 กรัม และมีความยาวลำตัวกุ้งเฉลี่ยตัวละ 3.42 เซนติเมตร กุ้งที่มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุดคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 2 น้ำหนักสดน้อยที่สุดเฉลี่ยตัวละ 0.148 กรัม มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยตัวละ 0.033 กรัม และมีความยาวลำตัวกุ้งน้อยที่สุดคือเฉลี่ยตัวละ 2.97 เซนติเมตร จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้งความยาวลำตัวกุ้งกุลาดำ น้ำหนักแห้ง และน้ำหนักสดของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

อาหารสูตรที่	ความยาว (เซนติเมตร)	นน.สด (กรัม)	นน.แห้ง(กรัม)
1	3.37	0.199	0.052
2	2.97	0.148	0.033
3	3.47	0.243	0.055
4	2.98	0.152	0.035
5	3.42	0.209	0.055
6	3.33	0.156	0.034

หมายเหตุ สูตรที่ 1 กลุ่มควบคุม (อาหารสำเร็จรูป)
สูตรที่ 2 อาหารสำเร็จรูปไม่ผสมสาหร่าย (ผ่านกระบวนการผลิตเช่นเดียวกับการผสมสาหร่าย)
สูตรที่ 3 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 0.5 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 4 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 1 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 5 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 2 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 6 อาหารสำเร็จรูปผสมสาหร่าย 4 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 5 มีอัตราการรอดตายมากที่สุดคือ 94 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารสูตรที่ 3 มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ไม่มีค่าแตกต่างกัน ส่วนกลุ่มที่มีอัตราการรอดตายต่ำที่สุดคือกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 56 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4.8 จากการทดลองแสดงว่าการผสมสาหร่ายลงในอาหารมีส่วนช่วยให้กุ้งมีอัตรารอดตายสูงขึ้น อาจเป็นเพราะแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในสาหร่ายมีส่วนช่วยส่งเสริมกุ้งในการดำรงชีวิต การเก็บสะสมแคโรทีนอยด์ไว้ภายในเซลล์จะเป็นตัวสำรองออกซิเจนหรือเป็นตัวรับอิเลคตรอนซึ่งจะใช้ในสภาวะแวดล้อมที่มีออกซิเจนต่ำทำให้กุ้งสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ (Karnaukhov และคณะ, 1977) นอกจากนี้สาหร่าย *Chlorella* sp. ยังเป็นแหล่งโปรตีน คาร์โบไฮเดรท และวิตามินจึงมีส่วนทำให้กุ้งแข็งแรงขึ้น Yamada และคณะ (1990) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ด้วยอาหารที่ผสมแอสตาแซนทิน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือเบต้าแคโรทีน 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถทำให้กุ้งมีอัตราการรอดตายถึง 91.4 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

อาหารสูตรที่	อัตราการรอดตาย
1	56[a]
2	62.5[ac]
3	89[b]
4	83.5[b]
5	94[b]
6	69.5[c]

4.2.2 การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง

ใช้กุ้งกุลาดำประมาณ 10 – 15 ตัว ในการวิเคราะห์หาแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง จากการทดลองเมื่อให้อาหารกุ้งที่ผสมสาหร่ายในอัตราส่วนต่าง ๆ ผลการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้งมีค่าดังตารางที่ 4.9 จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอาหารสูตรที่ 6 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในกุ้งมากที่สุด คือ 119.41 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง รองลงมาคืออาหารสูตรที่ 5 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในกุ้งคือ 104.02 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง ส่วนอาหารที่เลี้ยงกุ้งแล้วมีปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยที่สุดคืออาหารสูตรที่ 1 มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 33.56 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอาหารสูตรที่ 1 และ 2 กับอาหารสูตรที่ 2 และ 3 ไม่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ แต่อาหารสูตรที่ 4 , 5 และ 6 มีค่าแตกต่างกันทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P_{0.05}$) แสดงว่าสาหร่ายที่ผสมลงในอาหารมีผลต่อการสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง สุวรรณา (2534) ได้วิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้งปกติและกุ้งสีฟ้าซึ่งเป็นกุ้งกุลาดำซึ่งเลี้ยงในบ่อเลี้ยงที่จังหวัดจันทบุรี พบว่าในสัปดาห์ที่ 6 ของการเลี้ยงกุ้งปกติมีปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย 35.78 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กรัม ส่วนกุ้งสีฟ้ามีปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ย 23.79 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กรัม Genevieve และคณะ (1993) รายงานว่าแอสตาแซนทินจะถูกเก็บสะสมไว้ใน integument (carapace และ epidermis) และ hepatopancreas เมื่อให้อาหารที่ผสมด้วยแอสตาแซนทินและแคนทาแซนทิน (50/50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) พบว่าแคโรทีนอยด์จะถูกเก็บสะสมไว้ใน epidermis และยังมีผลทำให้อัตราการรอดตายสูงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ

อาหารสูตรที่	ปริมาณแคโรทีนอยด์ในกุ้ง (ไมโครกรัม/กรัมกุ้ง)
1	33.56[a]
2	43.25[ab]
3	57.01[b]
4	79.26[c]
5	104.02[d]
6	119.41[e]

4.2.3 ตรวจคุณภาพกุ้ง

จากการสุ่มกุ้งกุลาดำที่ทดลองมาต้มเป็นเวลา 5 นาที พบว่ากุ้งที่มีสีสันดีที่สุดคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 6 กุ้งที่ต้มนั้นจะมีสีแดงสดกว่ากุ้งในสูตรอื่น ๆ รองลงมาคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 5 ส่วนกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 3 และ 4 พบว่ากุ้งกุลาดำมีสีใกล้เคียงกัน ส่วนกุ้งที่มีสีซีดจางที่สุดคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1 ดังรูปที่ 4.1

Menasveta และคณะ (1993) ได้ทดลองทำการต้มกุ้งพบว่าเมื่อต้มกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ค้าขายโดยทั่วไปแล้วสีของกุ้งหลังต้มนั้นมีสีเหลืองอ่อนปนส้ม เมื่อต้มกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมแอสตาแซนทิน 0.1 เปอร์เซ็นต์ กุ้งจะมีสีแดงปนส้ม

รูปที่ 4.57 สีกุ้งหลังต้มของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 (เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 คุณภาพน้ำบางประการที่ใช้เลี้ยงกุ้ง

4.2.4.1 อุณหภูมิของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ

จากการตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำของอาหารสูตรต่าง ๆ อยู่ในช่วง 24 - 30 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำตลอดการทดลองมีค่าประมาณ 27 – 28 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงช่วงอุณหภูมิและอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตู้ทดลองอาหารสูตรที่	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)
1	24.3	29.6	27.3
2	24.3	29.7	27.3
3	26.9	30.3	27.8
4	24.9	29.7	27.3
5	27.4	30.6	28.3
6	24.9	29.3	27.2

จากผลการวัดอุณหภูมิโดยเฉลี่ยจะเห็นว่าอุณหภูมิระหว่างกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งอุณหภูมิในช่วงดังกล่าวกุ้งกุลาดำสามารถเจริญเติบโตได้ดี ปกรณ์ (2531) กล่าวว่าอุณหภูมิมีผลต่อการกินอาหารและการเจริญเติบโตของกุ้ง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอยู่ในช่วง 25 – 32 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงกว่านี้จะมีผลทำให้กุ้งร้อนเกินไป และถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส กุ้งจะไม่กินอาหาร

4.2.4.2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ

จากการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในตู้ทดลองพบว่าในแต่ละสัปดาห์ค่าเฉลี่ยความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำอยู่ในช่วง 8.52 – 8.55 โดยค่าความเป็นกรดเป็นด่างสูงสุดคือ 8.93 และต่ำสุดคือ 8.34 ดังตารางที่ 4.11 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรอยู่ระหว่าง 7.5 – 8.5 ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำทะเลหรือน้ำกร่อยตามปกติจะอยู่ในช่วงระดับนี้ (ชลอ, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	ความเป็นกรดเป็นด่าง ของน้ำต่ำสุด	ความเป็นกรดเป็นด่าง ของน้ำสูงสุด	ความเป็นกรดเป็นด่าง ของน้ำเฉลี่ย
1	8.37	8.79	8.54
2	8.35	8.86	8.52
3	8.34	8.83	8.54
4	8.34	8.90	8.54
5	8.37	8.90	8.55
6	8.35	8.93	8.54

4.2.4.3 ความเค็มของน้ำ

จากการวัดความเค็มในระหว่างการทดลองพบว่าความเค็มของน้ำในแต่ละชุดการทดลองในแต่ละสัปดาห์อยู่ในช่วง 9 – 11 พีพีที โดยมีค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองประมาณ 10 พีพีที ดังตารางที่ 4.12 จากการวัดความเค็มที่ทดลองพบว่ามีความเค็มไม่ค่อยแตกต่างกันมากนักระหว่างกลุ่มการทดลอง ปกรณ์ (2531) รายงานว่าความเค็มมีผลต่อการรักษาสมดุลย์ของแร่ธาตุในน้ำร่างกายกุ้งจะสามารถปรับตัวให้อยู่ในความเค็มตั้งแต่ 5 – 30 พีพีที ได้ แต่สำหรับความเค็มของน้ำที่เหมาะสมและการเจริญเติบโตที่ดีแล้วควรอยู่ระหว่าง 10 – 25 พีพีที Saha และคณะ (1999) รายงานว่าบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีความเค็ม 4.6 – 19.42 พีพีที จะมีอุณหภูมิประมาณ 28.2 – 30.2 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 8.45 มีค่าออกซิเจนละลายน้ำประมาณ 4.35 – 6.60 พีพีเอ็ม

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าความเค็มของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งของอาหารสูตรต่าง ๆ

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	ความเค็มของน้ำต่ำสุด (พีพีที)	ความเค็มของน้ำสูงสุด (พีพีที)	ความเค็มของน้ำเฉลี่ย (พีพีที)
1	10	11	10
2	10	11	10
3	9	10	10
4	10	11	10
5	10	11	10
6	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4.4 ค่าแอมโมเนีย

จากการวัดแอมโมเนียของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ามีแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.05 – 1.22 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีดังตารางที่ 4.13 ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำปริมาณแอมโมเนีย (NH_3) ในรูปที่เป็นพิษไม่ควรจะเกิน 0.1 พีพีเอ็ม (ชลอ, 2535)

ตารางที่ 4.13 แสดงค่าแอมโมเนียในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	แอมโมเนียต่ำสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนียสูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนียเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	0.06	0.98	0.14
2	0.05	1.10	0.22
3	0.06	1.08	0.27
4	0.06	1.17	0.25
5	0.07	1.22	0.24
6	0.06	0.80	0.17

4.2.4.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

จากการตรวจสอบค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำพบว่า น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งของอาหารสูตรต่าง ๆ มีค่าดังตารางที่ 4.14 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าประมาณ 5.72 – 5.8 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในแต่ละชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการทดลองเพิ่มขึ้น โดยปกติออกซิเจนที่ละลายน้ำควรรักษาให้อยู่ในระดับ 5 – 8 มิลลิกรัมต่อลิตร (ปกรณ์, 2531) ไม่ควรมีออกซิเจนต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งออกซิเจนระดับนี้จะเป็นอันตรายต่อกุ้ง (ประพันธ์, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 แสดงค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	ปริมาณออกซิเจนต่ำสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจนสูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซิเจนเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	5.32	6.52	5.73
2	5.40	6.42	5.73
3	5.18	6.54	5.47
4	5.17	6.43	5.73
5	5.12	6.53	5.72
6	5.07	6.37	5.8

4.2.4.6 ค่าซีโอดี

จากการตรวจค่าซีโอดีของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างๆ พบว่าค่าซีโอดีของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งอยู่ในช่วง 102.32 – 965.56 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าซีโอดีเฉลี่ยตลอดการทดลองอยู่ในช่วง 421.12 – 508.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 แสดงค่าซีโอดี

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	ซีโอดีต่ำสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ซีโอดีสูงสุด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ซีโอดีเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	150.40	902.40	454.21
2	102.32	902.40	451.45
3	210.56	962.56	508.35
4	120.32	872.32	469.25
5	150.40	812.16	421.12
6	150.40	962.56	478.27

4.2.4.7 การตรวจวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp.

จากการเก็บตัวอย่างน้ำมาตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA พบว่าในสัปดาห์แรกไม่สามารถนับจำนวนแบคทีเรียได้เนื่องจากมีเชื้อปริมาณน้อย เมื่อเลี้ยงกุ้งในเวลาต่อมาพบปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำของสูตรอาหารที่ 1 – 6 มีค่าดังในตารางที่ 4.16 ในการทดลองพบว่าน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงกุ้งกุลาดำมีแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $10^2 - 10^5$ cfu/มิลลิลิตร ส่วนปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp. ในอาหาร TCBS ช่วง 2 สัปดาห์แรกไม่พบเชื้อ *Vibrio* sp. ในสัปดาห์ต่อมาจึงตรวจพบเชื้อซึ่งอยู่ในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งมีเชื้อ *Vibrio* sp. ประมาณ $10^1 - 10^3$ cfu/มิลลิลิตร Otta (1999) พบว่าบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $10^3 - 10^5$ cfu/มิลลิลิตร และมี *Vibrio* sp. ประมาณ $10^1 - 10^4$ cfu/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.16 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp.ในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

ตู้ทดลอง อาหารสูตรที่	เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด cfu/มิลลิลิตร	ปริมาณเชื้อ *Vibrio* sp. cfu/มิลลิลิตร
1	$1.67 \times 10^2 - 3.06 \times 10^4$	$6.70 \times 10^1 - 6.00 \times 10^2$
2	$4.33 \times 10^2 - 9.67 \times 10^3$	$6.70 \times 10^1 - 1.34 \times 10^3$
3	$2.00 \times 10^2 - 2.46 \times 10^5$	$3.00 \times 10^1 - 5.06 \times 10^2$
4	$2.43 \times 10^3 - 2.08 \times 10^5$	$7.33 \times 10^1 - 5.00 \times 10^2$
5	$1.67 \times 10^2 - 7.00 \times 10^4$	$2.33 \times 10^1 - 3.36 \times 10^3$
6	$5.67 \times 10^2 - 3.45 \times 10^4$	$3.67 \times 10^2 - 1.93 \times 10^3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การคัดเลือกสาหร่าย

จากการคัดเลือกสาหร่าย 5 สายพันธุ์ โดยแปรผันไนเตรท ฟอสเฟต แมกนีเซียม ความเป็นกรด-เป็นด่างเริ่มต้นของอาหารและความเข้มแสง พบว่า *Chlorella* sp.TISTR8261 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดคือ 0.479 (d^{-1}) ผลิตปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.22 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตแคโรทีนอยด์สูงคือ 4.78 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสภาพที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Chlorella* sp.TISTR8261 คือ มีไนเตรท 2 เท่า ฟอสเฟต 1 เท่า และแมกนีเซียมเป็น 0.5 เท่าของสูตรอาหาร ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเป็น 8 และความเข้มแสง 4000 ลักซ์

5.2 การเลี้ยงกุ้ง

จากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ด้วยอาหารสำเร็จรูป อาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8261 ในอัตราส่วน 0, 0.5, 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8261 ในอัตราส่วน 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เนื้อกุ้งมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 119.41 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง รองลงมาคืออาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 ในอัตราส่วน 2, 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เนื้อกุ้งมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 104.02, 79.26, 57.01 ไมโครกรัมต่อกรัมกุ้ง ตามลำดับ

เมื่อนำไปต้มกุ้งที่มีสีสันมากที่สุดคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 ในอัตราส่วน 4 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับปริมาณแคโรทีนอยด์ที่มีในเนื้อกุ้ง

การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งที่มีการเจริญเติบโตดีสุดคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 ในอัตราส่วน 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดเท่ากับ 0.243 กรัม น้ำหนักแห้ง 0.055 กรัม ความยาวลำตัว 3.47 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังมีอัตราการรอดตายสูงด้วย กุ้งที่มีอัตราการรอดตายสูงคือกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่าย *Chlorella* sp.TISTR8261 ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตาย 94 เปอร์เซ็นต์ กุ้งที่มีอัตราการรอดตายต่ำสุดคือกุ้งเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป มีอัตราการรอดตาย 56 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการเลี้ยงกุ้งควรมีการคลุมตู้กุ้งให้มิดชิดเพื่อไม่ให้มีแสงรอดเข้ามาได้ เนื่องจากอาจมีสาหร่ายชนิดอื่นขึ้นได้เมื่อได้รับแสง

2. ควรมีการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีอายุมากเพื่อให้อัตราการรอดตายสูงขึ้น เนื่องจากกุ้งอายุมากจะแข็ง-แรงกว่ากุ้งที่มีอายุน้อย

3. ควรมีการเลี้ยงกุ้งในพื้นที่ขนาดใหญ่เพื่อให้กุ้งมีพื้นที่ในการดำรงชีวิต

4. ควรมีการศึกษาการผสมสาหร่ายสดในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

5. ในการผสมสาหร่ายลงไปในอาหารควรมีการศึกษาการเติมสารเหนียวเพิ่มลงไปในอาหารเพื่อให้อาหารเม็ดคงรูปอยู่ได้นานเท่ากับอาหารเม็ดสำเร็จรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กนกอร จารุจารีต. 2543. "ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2543. **หนังสือกุ้งไทย 2000 สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม.** กรุงเทพ ฯ : เจริญรัฐการพิมพ์.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2535. **คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.** กรุงเทพฯ : ฐานเศรษฐกิจ.

ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ. 2533. "การใช้สาหร่ายสไปรูไลนา (*Spirulina* sp.) เป็นแหล่งรงควัตถุคาโรที - นอยด์สำหรับผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำ" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรจง เทียนส่งรัศมี. 2521. **หลักการเลี้ยงกุ้งทะเล.** คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2531. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.** คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประพันธ์ ธารบุปผา. 2530. **การเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนา (กุ้งกุลาดำ).** กรุงเทพฯ : รุ่งเรืองสาส์นการพิมพ์.

มะลิ บุณยรัตผลิน. 2531. **อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ** สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กรุงเทพฯ : ช่อนนทรี.

ชุวดี พีรพรพิศาล. 2542. **สาหร่าย (Algae) ตอนที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รวมทรัพย์ ชำนาญชนา. 2540. "การเลี้ยง *Dunaliella salina* ในช่วงระยะเวลาให้แสงที่แตกต่างกัน" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540. **คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. **แพลงก์ตอนพืช.** ภาควิชาชีววิทยาประมง. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราทิพย์ วงศ์พินทุ. 2540. "การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเบตาคาโรทีนของสาหร่าย *Dunaliella* sp. (Chlorophyceae)" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีณะ อิศราธรรม และ อหิงส์ ปุริทัศน์. 2531. **เทคนิคการเพาะพันธุ์กุ้งทะเลในไต้หวัน** กรุงเทพฯ : มิตรสยาม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ.** ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศศิมา ดำรงสุกิจ. 2545, 5 สิงหาคม. "ปัญหาสารตกค้างยังไม่ยุติ (1) หวั่นส่งออกไทยทรุด." เดลินิวส์. หน้า 7.

สมศักดิ์ แสนสุข. 2525. "ความรู้บางประการเกี่ยวกับสาหร่ายและแนวทางวินิจฉัยเกี่ยวกับสาหร่ายน้ำจืดและน้ำกร่อย." กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยประสานมิตร.

สุวรรณา เบญจธรรมนนท์. 2534. "ผลของสภาพแวดล้อมและรงควัตถุคาโรทีนอยด์ต่อการเกิดสีฟ้าของกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยง" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกิจ รัตนวินิจกุล และ พูนสิน พานิชสุข. 2538. " ผลการเสริมสไปรูไลนาและดอกดาวเรืองในอาหารต่อสีของกุ้งกุลาดำ." เอกสารวิชาการฉบับที่ 3/2538. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

อรพรรณ ทองประสงค์. 2532. "การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคาโรตินอยด์ของสาหร่ายคลอเรลลา" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2540. สายพันธุ์จุลสาหร่าย ณ ศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ วท. วารสารวิทยาศาสตร์สำหรับเยาวชน. หน้า 133 - 134

Behrens, P. W., Sicotle, J. and Delente, J. 1994. "Microalgae as a source of stable isotopically labeled compounds." **Journal of Applied Phycology.** 6 : 113 – 121.

Borowitzka, M.A., Huisman, J.M. and Osborn, A. 1991. "Culture of the astaxanthin – producing green alga *Haematococcus pluvialis*." **Journal of Applied Phycology.** 3 : 295 – 304.

Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. 1988. **Microalgae biotechnology.** New York : Cambridge University Press.

Chen, F., Zhang, Y. and Guo, S. 1996. "Growth and Phycocyanin Formation of *Spirulina platensis* in Photoheterotrophic Culture." **Biotechnology letters.** 18(5) : 603 - 608.

Choubert ,G. and Heinrich ,O. 1993. "Carotenoid pigment of the green algae *Haematococcus pluvialis* : assay on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss,* pigmentation in comparison with synthetic astaxanthin and canthaxanthin." **Aquaculture.** 112 : 217 - 226.

Chronakis, I.S., Galatanu, A.N., Nylander, T., and Lindman, B. 2000. "The behaviour of protein preparation from blue – green algae (*Spirulina platensis.* Strain pacifica) at the air water

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

interface." **Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.** 173 : 181-192.

Clement, C., Lonchamp, D., Rebeller, M. and Landeghem, H.V. 1980. "The Development of *Spirulina* Algae Cultivation" **Chemical Engineering Science.** 35 :119-126.

Dholakia, J.N. and Modi, V.V. 1984. "Regulation of carotenogensis by Inorganic Phosphate in *Blakeslea trispora*." **Journal of General Microbiology.** 130 : 2043 – 2049.

Farfante, I.P. and Kensley, B. 1997. **Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the world.** Paris : Memoires du Museum .

Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Austren, E. and Streiff, K. 1984. "Carotenoids in diets for salmoniods I : pigmention of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin." **Aquaculture.** 41 : 213-226.

Genevieve, N.S., Castillo, R., Petit, H., Sance, S., Martinez, R.G., Milicua, J.C.G., Choubert,G. and Trilles, J.p. 1993. "Utilization of synthetic carotenoids by the prawn *Penaeus japonicus* reared under laboratory conditions." **Aquaculture.** 110 : 151 – 159.

Goodwin, T.W., C.B.E. and F.R.S. 1984. **The biochemistry of the carotenoids volume I Plants.** London : Chapman and Hall.

Gouveia, L.,Veloso, V.,Reis, Fernandes, H.L., Novais, J.M. and Empis, J.A. 1996. "Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris.*" **Bioresource Technology.** 57 : 157-163.

Gouveia, L., Gomes, E., and Empis, J.A. 1997. "Use of *Chlorella vulgaris* in Rainbow Trout, *Oncorhychus mykiss*, Diet to Enhance Muscle Pigmentation." **Journal of Applied Aquaculture.** 7(2) : 61 – 70.

Jeanfils, J., canisius, M.F. and Burlion, N. 1993. "Effect of high nitrate concentration on growth and nitrate uptake by free – living and immobilized *Chlorella vulgaris* cells." **Journal of Applied Phycology.** 5 : 369 – 347.

Johnson, E.A. 1991. "Astaxanthin from Microbial Sources." **Critical Reviews in Biotechnology.** 11(4) : 297 – 326.

Karnaukhov, V.N., Milovidova, N.V. and Kargopolova, I.N. 1977. "On a role of carotenoids in tolerance of sea molluscs to environment pollution." **Comparative Biochemistry and Physiology.** 56A : 189- 193.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Khachik, F., Beecher, G. R. and Whittaker N.F. 1986. "Separation, Identification, and Quantification of the Major Caroteniod and Chlorophyll Constituents in Extracts of Several Green Vegetables by Liquid Chromotography." **Journal of Agriculture and Food Chemistry.** 34 : 603 – 616.

KMITT. 1996. **Laboratory document : A regional workshop on mass cultivation of microalgae.** Bangkok : King Mongkut's Institute of Technology Thonburi.

Liu,B.H. and Lee,Y.K. 2000. "Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp." **Journal of Applied Phycology.** 12 : 301 – 307.

Mahasneh, I.A. 1997. "Production of single cell protein from five strains of the microalga *Chlorella spp.* (Chlorophyta)." **Cytobios.** 90 : 153-161.

Mandalam, R.K. and Palsson,B. 1998. "Elemental Balancing of Biomass and Medium Composition Enhances Growth Capacity in High – Density *Chlorella vulgaris* Culture." **Biotechnology and Bioengineering.** 59(5) : 605 – 611.

Marin, N., Morales, F., Lodeiros, C., and Tamigneaux, E. 1998. "Effect of nitrate concentration on growth and pigment synthesis of *Dunaliella salina* cultivated under low illumination and preadapted to different salinities." **Journal of Applied Phycology.** 10 : 405 – 411.

Matsukawa, R., Hotta, M., Masuda, Y., Chihara, M. and Karube, I. 2000. "Antioxidant from carbon dioxide fixing *Chlorella sorokiniana.*" **Journal of Applied Phycology.** 12 : 263 - 267.

Menasveta, P., Worawattanamateekul, W., Latscha, T. and Clark, J.S. 1993. "Correction of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) Coloration by Astaxanthin." **Aquacultural Engineering.** 12 : 203 – 213.

Otta, S.K., Karunasagar, I. and Karunasagar, I. 1999. "Bacterial flora associated with shrimp culture ponds growing *Penaeus monodon* in India." **Journal of Aquaculture in the Tropics.** 14(4) : 309 - 318.

Pan, C.H., Chien, Y.H. and Cheng, J.H. 2001. "Effect of Light Regime, Algae in the Water, and Dietary Astaxanthin on Pigmentation, Growth, and Survival of Black Tiger Prawn *Penaeus monodon* Post – larvae." **Zoological Studies.** 40(4) : 371 – 382.

Saha, S.B.,Bhattacharrya, S.B. and Choudnury, A. 1999. "Production potential of *Penaeus monodon* (FAB) in low saline environment." **Journal of Aquaculture in the Tropics.** 14(4) : 319 – 325.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Smith, D.M., Burford, M.A., Tabrett, S.J.,Irvin, S.J. and Ward, L. 2002. "The effect of feeding freqvency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)." **Aquaculture.** 207 : 125 – 136.

Yamada, S., Tanaka, Y., Sameshima, M. and Ito, Y. 1990. "Pigmention of Prawn (*Penaeus japonicus*) with Caroteniod." **Aquaculture.** 87 : 323 – 330.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดแคโรทีนอยด์จากเนื้อกุ้ง (ดัดแปลงจาก Foss และคณะ 1984)

วิธีการ

1. นำกุ้งที่จะสกัดแคโรทีนอยด์มาบดให้ละเอียดทั้งเนื้อและเปลือก จากนั้นชั่งมาประมาณ 1 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน)
2. เติมอะซีโตน 30 มิลลิลิตร ลงไป ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที โดยกวนให้เข้ากันเป็นครั้งคราว
3. จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง GF/C
4. นำสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วนั้น (acetone extract) มา 5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และเอทธิล อะซีเตท (ethyl acetate) 2 มิลลิลิตร
5. สารละลายที่ได้จะมีสีเหลืองใสนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 472 นาโนเมตร

หมายเหตุ 1. ถ้าวัดในค่าของ transmittance ต้องเปลี่ยนค่าให้เป็น abosrbance โดยใช้สูตร O.D. = -log T เมื่อ O.D. คือค่า absorbance หรือ optical density และ T คือค่า transmittance ซึ่ง T = %T)

2. Blank test ใช้ acetone 5 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร + ethyl acetate 2 มิลลิลิตร)

วิธีคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาหักลบด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ จากนั้นนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์จากสมการ

$$E^{1\%}_{1cm} = 1900$$

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้เท่ากับ 0.5228 คำนวณตามขั้นตอนดังนี้

1. หักลบค่าการดูดกลืนแสงด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ของค่าที่วัดได้ 10 เปอร์เซ็นต์ ของค่าการดูดกลืนแสง = 0.05228 เพราะฉะนั้นค่าที่หักลบได้คือ 0.5228 - 0.05228 = 0.47052

2. คำนวณตามสมการ $E^{1\%}_{1cm}$ = 1900 ความหมายคือ ถ้าวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 1900 โดยใช้ light path 1 เซนติเมตร แสดงว่าสารละลายนั้นมีความเข้มเข้นของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ หรือเท่ากับ 10,000 ส่วนในล้าน ดังนั้นถ้าค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.47052 แสดงว่ามีความเข้มข้นเท่ากับ

$$\frac{10{,}000 \times 0.47052}{1{,}900} = 2.4764 \text{ ส่วนในล้าน}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำค่าความเข้มข้น 2.4764 ส่วนในล้านไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในตัวกุ้ง

สารละลาย 1,000,000 ส่วน มีแคโรทีนอยด์อยู่ 2.4764 ส่วน

สารละลายที่นำมาวัดแคโรทีนอยด์มาจากสารละลาย 8 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้น

สารละลาย 8 มิลลิลิตร จะมีแคโรทีนอยด์อยู่ $\frac{2.4764 \times 8}{1,000,000} = 1.9811 \times 10^{-5}$ กรัม

สารละลาย 8 มิลลิลิตร มาจากสารอะซิโตนสกัด 5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้น สารละลายอะซิโตนสกัด 30 มิลลิลิตร มีแคโรทีนอยด์เท่ากับ

$$\frac{1.9811 \times 10^{-5}}{5} \times 30 \text{ กรัม} = 1.18887 \times 10^{-4} \text{ กรัม}$$

อะซิโตนสกัดนี้สกัดจากเนื้อกุ้ง 1 กรัม ดังนั้น

ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ = 1.1887×10^{-4} กรัมต่อกรัมเนื้อกุ้ง 1 กรัม คือ

= 118.87 ไมโครกรัมต่อกรัมเนื้อกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารเลี้ยงสาหร่าย

1. สูตรอาหาร BG - 11

$NaNO_3$	1.5	กรัม
$K_2HPO_4 .3H_2O$	0.040	กรัม
$MgSO_4 .7H_2O$	0.075	กรัม
$CaCl_2 .2H_2O$	0.036	กรัม
Citric acid	0.006	กรัม
Ferric ammonim citrate	0.006	กรัม
Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA)	0.001	กรัม
(disodium magnesium salt)		
$NaHCO_3$	5.0	กรัม
*Trace metal mix	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับให้เป็น pH 7.4 ด้วย HCl 1 N หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

***Trace metal mix ประกอบด้วย**

H_3BO_3	2.860	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
$MnCl_2 .4H_2O$	1.810	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
$Zn SO_4 .7H_2O$	0.222	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
$Na_2MoO_4 .2H_2O$	0.049	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
$CuSO_4 .5H_2O$	0.079	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
$Co(NO_3)_2 .6H_2O$	0.049	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สูตร Bold' s basal medium (BBM) **สำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียว**

Macronutrient	กรัม
$NaNO_3$	10
$CaCl_2.2H_2O$	1
$MgSO_4.7H_2O$	3
K_2HPO_4	3
KH_2PO_4	7
NaCl	1

แต่ละชนิดละลายในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร

Trace element	กรัมต่อลิตร
1) EDTA	50
KOH (85%)	31
2) H-Fe stock	กรัมต่อลิตร
$FeSO_4.7H_2O$	4.98

ใช้น้ำที่เติมกรด (acidified water) แทนน้ำกลั่นธรรมดา เตรียมโดยการเตรียม conc. H_2SO_4 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร

3) Boron stock	กรัมต่อลิตร
H_2BO_3	11.42
4) H-H5 stock	กรัมต่อลิตร
$ZnSO_4.7H_2O$	8.82
MoO_3	0.71
$Co(NO_3).6H_2O$	0.49
$MnCl_2.4H_2O$	1.44
$CuSO_4.5H_2O$	1.57

ใช้น้ำที่เติมกรดแทนน้ำกลั่นธรรมดา

เตรียมอาหารเหลว โดยผสมสารละลายทั้ง 2 ประเภทเข้าด้วยกัน ดังนี้

Macronutrient solution **ชนิดละ** 10 **มิลลิลิตร**

Trace element solution **ชนิดละ** 1 **มิลลิลิตร**

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 **ลิตร**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สูตรอาหาร N-8

$Na_2HPO_4.2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
FeEDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4.7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture*	1.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยเติมน้ำไม่มีประจุ (deionized water) ปรับpH ให้เป็น 6.8 ด้วย NaOH หรือ HCl สำหรับอาหารแข็งเติมวุ้นปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 psi 15 นาที

* Trace element mixture สำหรับอาหาร N-8

$Al_2(SO_4)_3.18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	3.20	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สูตรอาหาร f/2

$NaNO_3$	75	มิลลิกรัม
$NaH_2PO_4.H_2O$	5	มิลลิกรัม
$Na_2SiO_3.9H_2O$	15 – 30	มิลลิกรัม

Trace metals

Na_2EDTA	4.36	มิลลิกรัม
$FeCl_3.6H_2O$	3.15	มิลลิกรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.022	มิลลิกรัม
$CoCl_2.6H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
$MnCl_2.4H_2O$	0.18	มิลลิกรัม
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.006	มิลลิกรัม

Vitamins

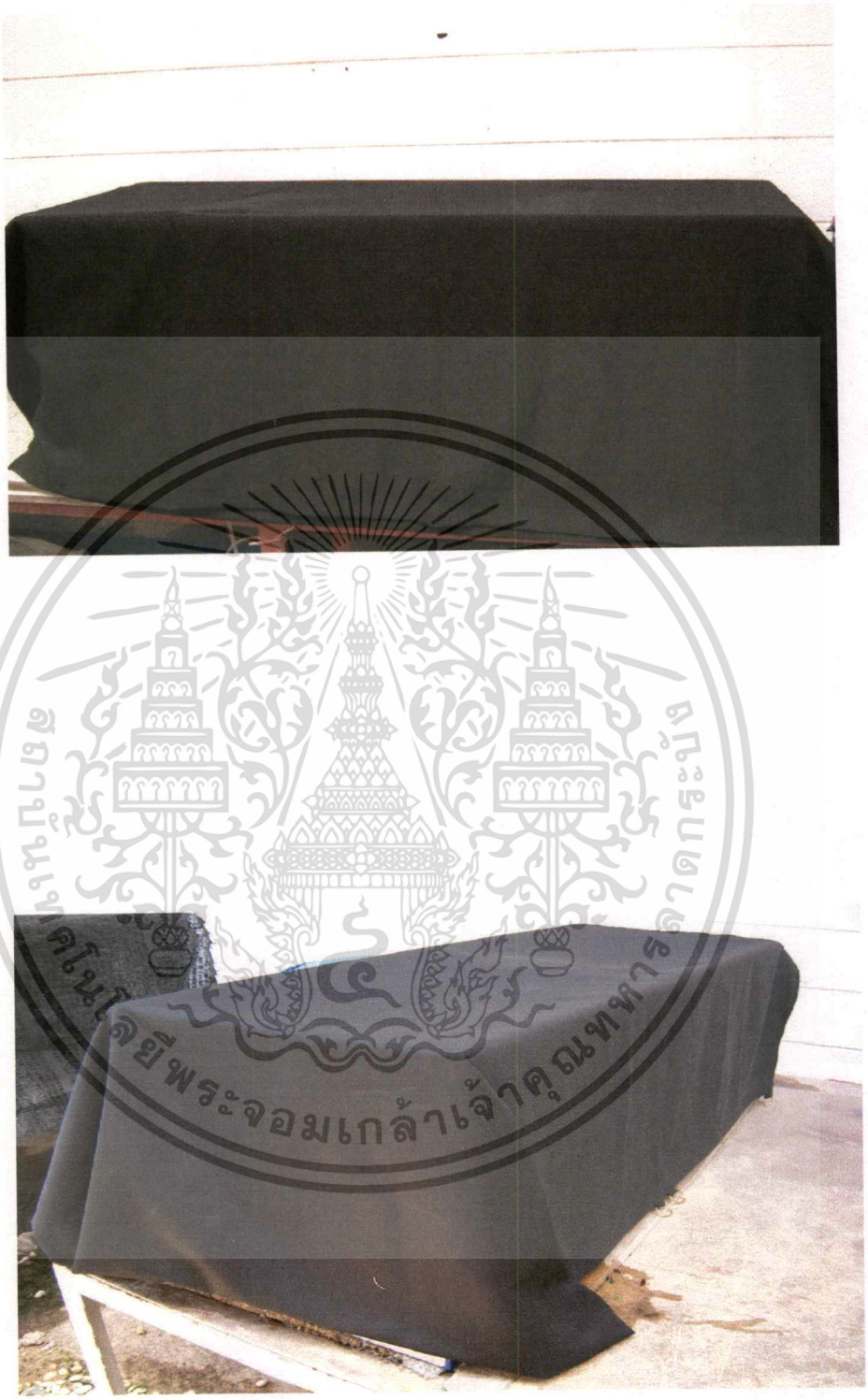
Thaimin. HCl	0.1	มิลลิกรัม
Biotin	0.5	ไมโครกรัม
B_{12}	0.5	ไมโครกรัม

เติมน้ำทะเลจนครบ 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

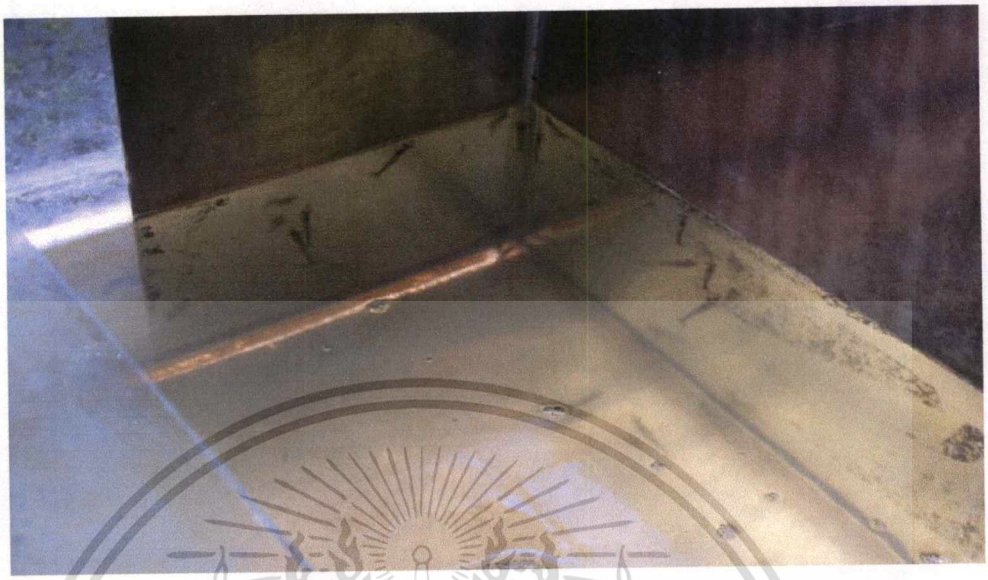
ภาคผนวก ค.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



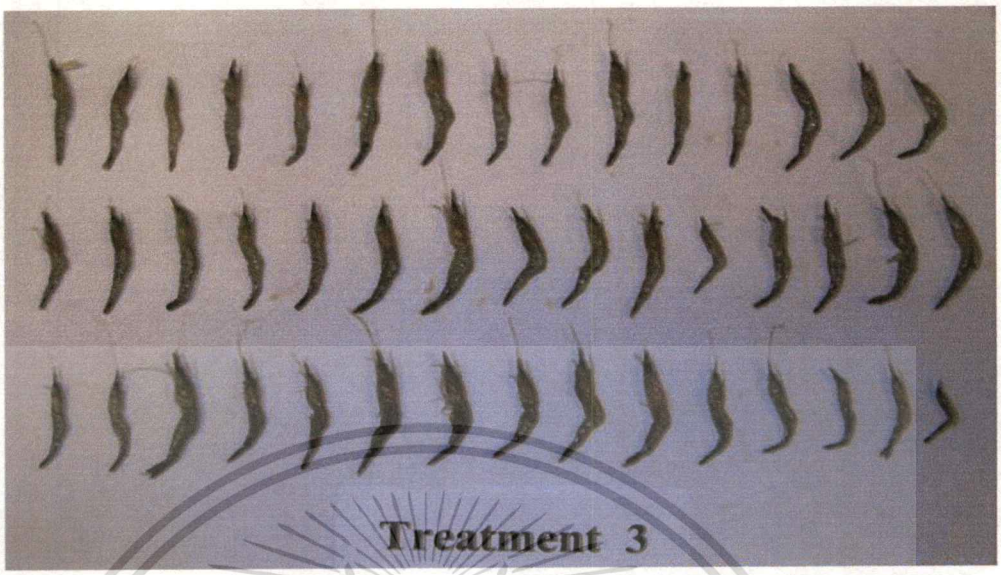
รูปที่ ผ1 ตู้ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



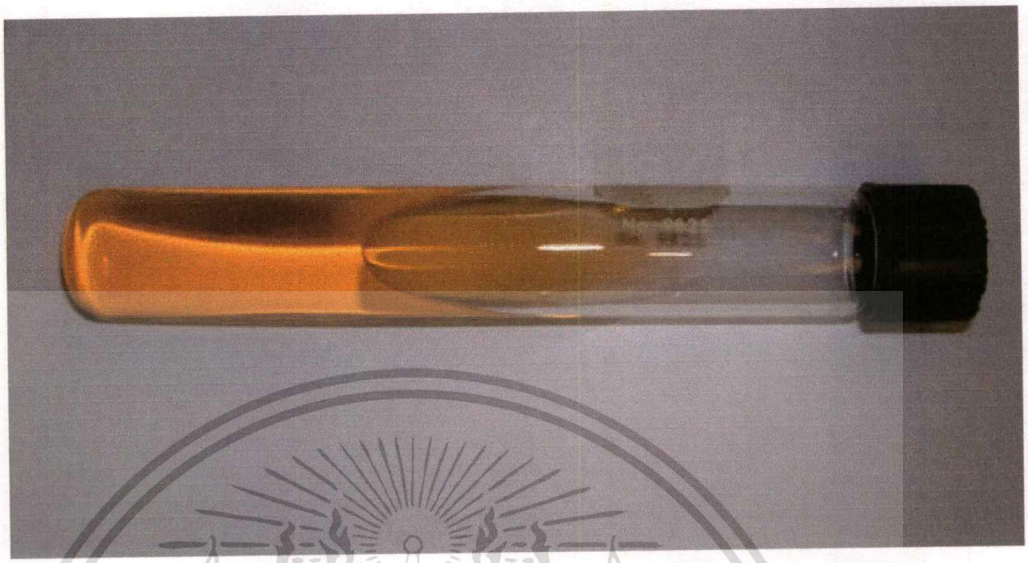
รูปที่ ผ2 ภาพกุ้งกุลาดำในตู้ทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

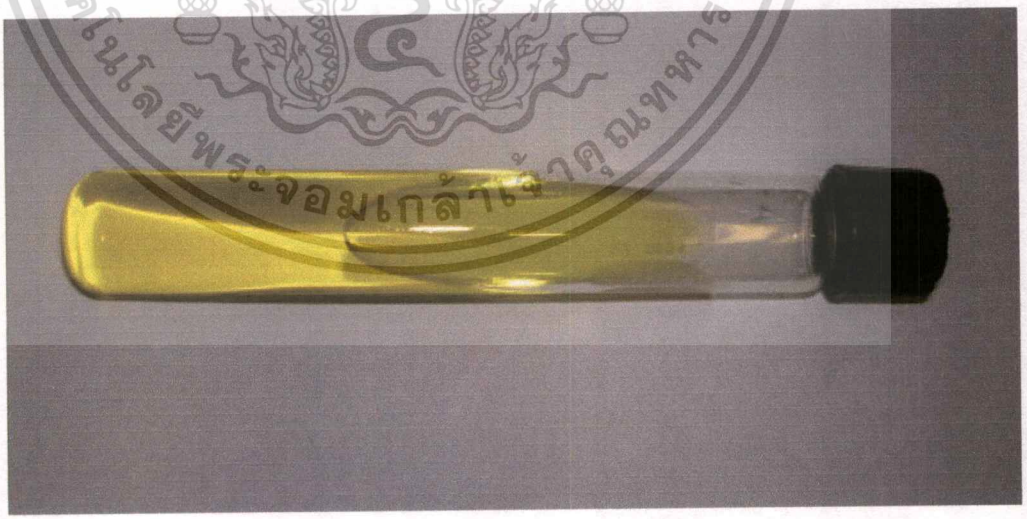


รูปที่ ผ3 กุ้งที่นำมาวัดความยาวและน้ำหนักสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

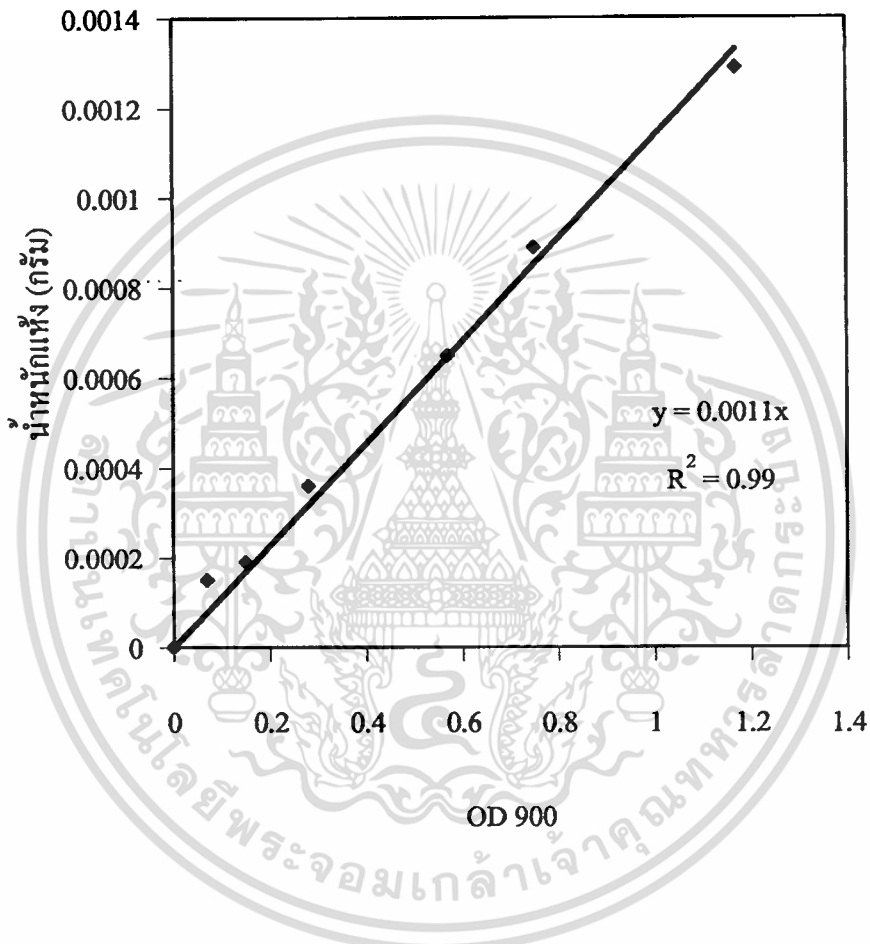


รูปที่ ผ4 แคโรทีนอยด์ในกุ้งกุลาดำ



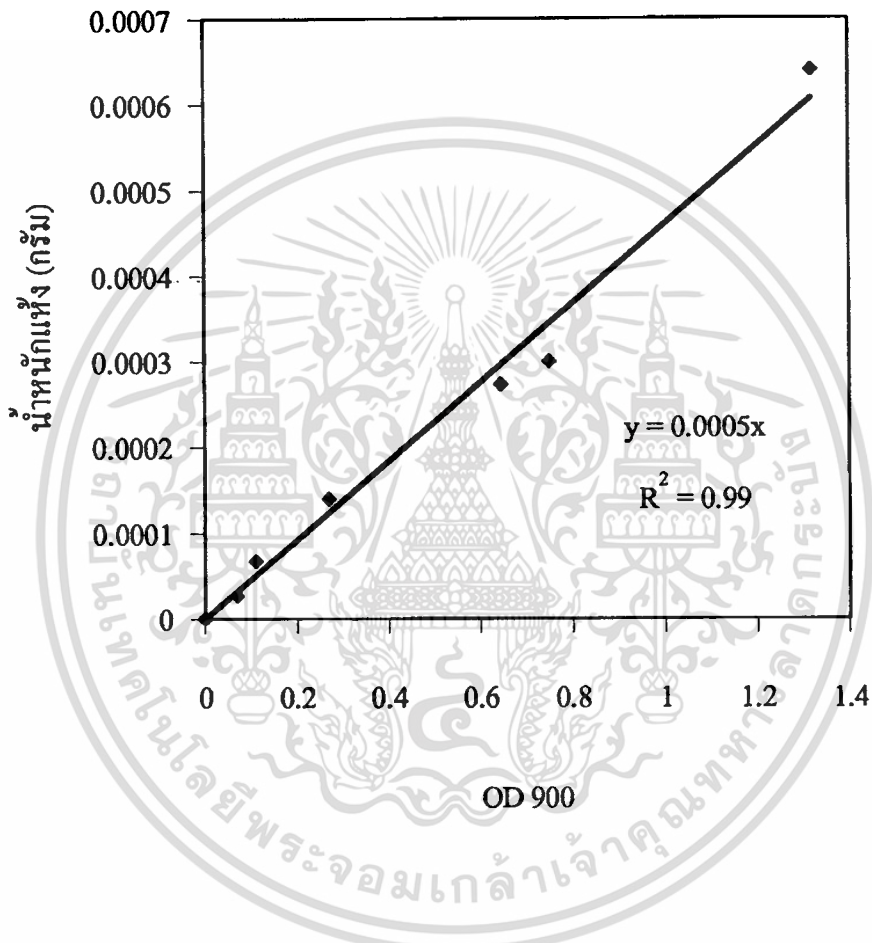
รูปที่ ผ5 แคโรทีนอยด์ของ *Chlorella* sp.TISTR8261

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



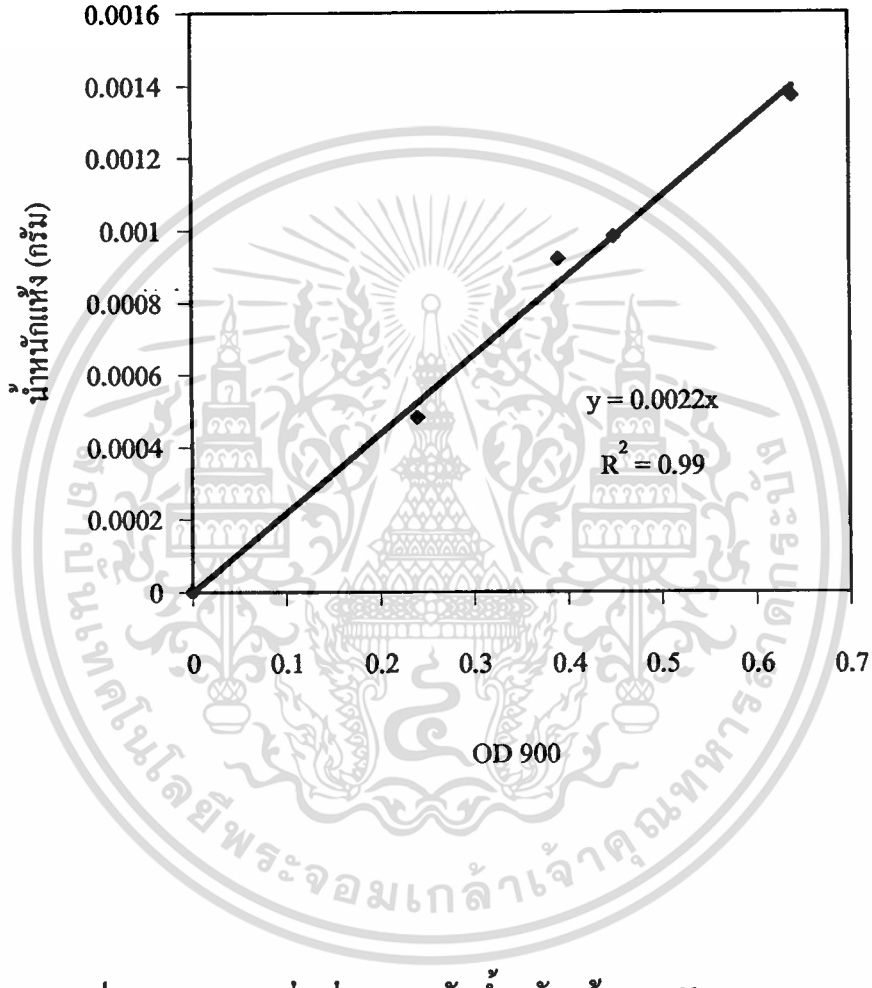
รูปที่ ผ6 กราฟมาตราฐานระหว่างค่า OD_{900} กับน้ำหนักแห้งของ *Spirulina* sp.TISTR8250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



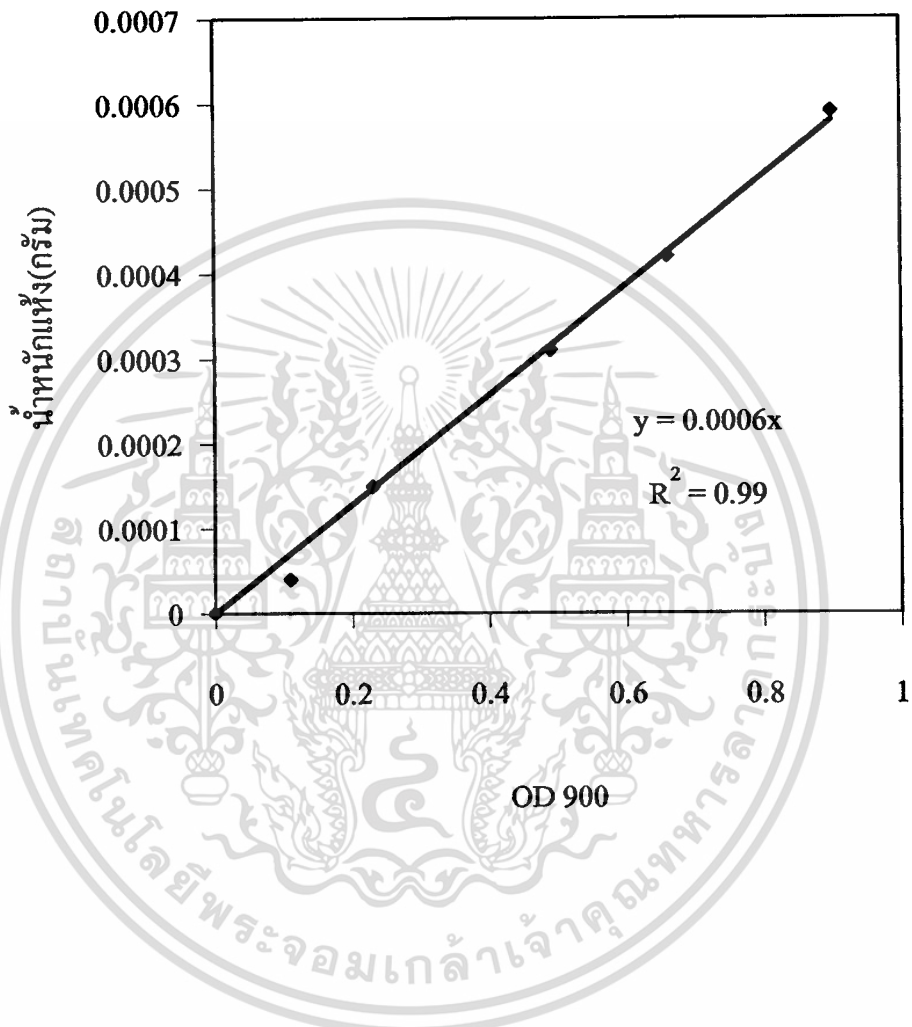
รูปที่ ผ7 กราฟมาตราฐานระหว่างค่า OD_{900} กับน้ำหนักแห้งของ *Chlorella* sp.TISTR8261

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



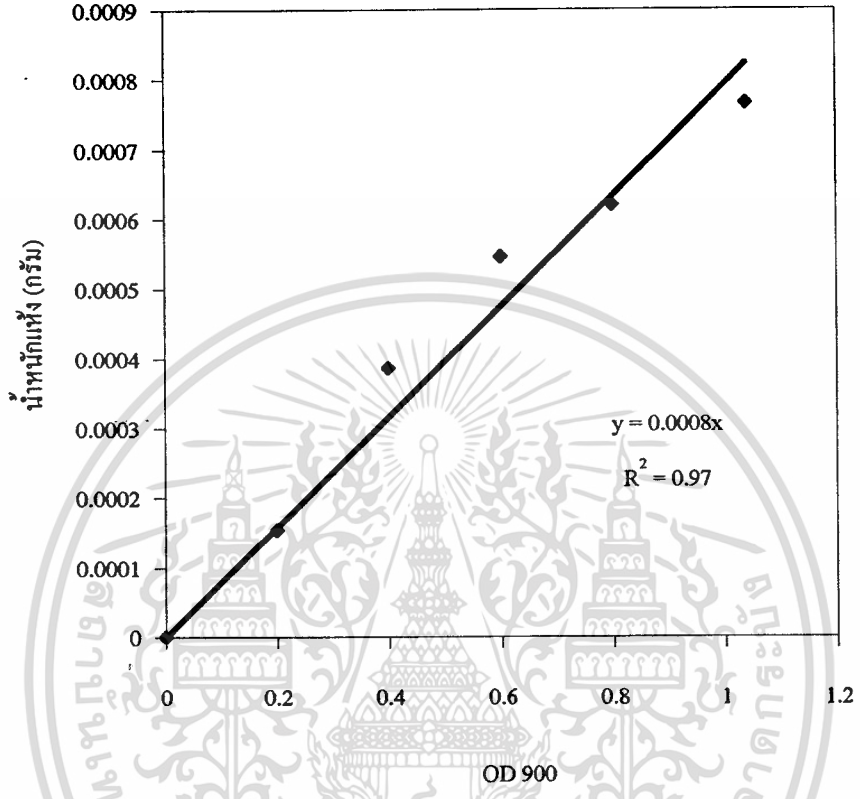
รูปที่ ผ8 กราฟมาตราฐานระหว่างค่า OD_{900} กับน้ำหนักแห้งของ *Chaetoceros* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ผ9 กราฟมาตราฐานระหว่างค่า OD_{900} กับน้ำหนักแห้งของ *Dunaliella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ผ10 กราฟมาตราฐานระหว่างค่า OD_{900} กับน้ำหนักแห้งของ *Scenedesmus* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวประภาศิริ ศรีบุญเรือง เกิดเมื่อวันที่ 29 ธันวาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดพิษณุโลก สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2541

ปัจจุบันเป็นลูกจ้างโครงการในศูนย์เทคโนโลยีปุ๋ยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้