สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* spp. และการสะสมของแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน *Chlorella* spp. เป็นอาหาร

The carotenoids content in *Chlorella* spp. and accumulation of carotenoid in *Daphnia* sp. fed with *Chlorella* spp.

T104548

โดย

นางสาวอภิญญา สโมสร

2ภ.
ส 253 ว
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....104548
วัน.เดือน,ปี.....5 มี.ค. 2553

b.12159414
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* spp. และการสะสมของแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน *Chlorella* spp. เป็นอาหาร

The carotenoids content in *Chlorella* spp. and accumulation of carotenoid in *Daphnia* sp. fed with *Chlorella* spp.

โดย

นางสาวอภิญญา สโมสร

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

Department of Fisheries Science Faculty of Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Bangkok 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* spp. และการสะสมของแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน *Chlorella* spp. เป็นอาหาร

The carotenoids content in *Chlorella* spp. and accumulation of carotenoid in *Daphnia* sp. fed with *Chlorella* spp.

ชื่อนักศึกษา นางสาวอภิญญา สโมสร

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย
อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(ผศ.ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ ๒๐ เดือน ก.ค. พ.ศ. ๒๕๕๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* spp. และการสะสมของแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน *Chlorella* spp. เป็นอาหาร

The carotenoids content in *Chlorella* spp. and accumulation of carotenoid in *Daphnia* sp. fed with *Chlorella* spp.

จากการศึกษาถึงปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella parasitica* (K46032) , *Chorella parasitica* (P48061) , *Chlorella vulgaris* และในไรแดงที่กินสาหร่าย *Chlorella* spp ทั้ง 3 ชนิดเป็นอาหาร โดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหารสูตร N-8 โดยสาหร่าย *Chorella parasitica* (P48061) เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 5.8 *Chlorella parasitica* (K46032) เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 7.8 และ *Chlorella vulgaris* เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 6.8 แล้ววิเคราะห์คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และน้ำหนักแห้งทุกๆ 3 วัน แล้วจึงชักนำให้มีการสร้างแคโรทีนอยด์ในวันที่ 14 ของการทดลอง ทำการเลี้ยงสาหร่ายอีก 14 วัน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีค่าสูงสุด คือ 5.3967±0.5074 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 0.9635±0.1128 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับ *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chorella parasitica* (P48061) น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (P48061) มีค่าสูงสุด คือ 9.8350±0.1190 กรัมต่อลิตร โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับ *Chlorella* parasitica (K46032) และ *Chlorella vulgaris* และเมื่อนำสาหร่ายที่เลี้ยงครบ 28 วัน ไปเลี้ยงไรแดง แล้วเก็บไรแดงมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่ 0, 2, 8, 12, 18, 24, 30, 36 ชั่วโมง พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่เลี้ยงด้วยสาหร่าย *Chorella parasitica* (P48061) มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 0.0051±0.0005 มิลลิกรัมต่อกรัม (12 h) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับ *Chlorella* parasitica (K46032) , *Chlorella vulgaris* และชุดควบคุม โดยพบว่าที่ระยะเวลาในการเลี้ยงไรแดงเพิ่มขึ้นปริมาณแคโรทีนอยด์ในไรแดงจะเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำตรวจสอบและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทดลองให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์วีณา ชูโชติ ที่ให้คำปรึกษาและเอื้อเฟื้อหัวเชื้อสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณพี่มอญ พี่โก๋ และพี่ก็บที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์การทดลองช่วยเหลือให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ๆประมงทุกคนที่คอยให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการหาอุปกรณ์การทดลอง

ขอขอบคุณเพื่อนๆประมงทุกคนที่คอยให้กำลังใจ ช่วยเหลือในการทดลอง ขอบคุณมิตรภาพที่ดีที่มีให้มาตั้งแต่เข้ามาเรียน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่ชายของข้าพเจ้าที่เป็นกำลังใจ คอยห่วงใย โดยเฉพาะทุนทรัพย์ในระหว่างการศึกษาตลอด 4 ปีที่ผ่านมา ทำให้การศึกษาและการทำปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวอภิญญา สโมสร

เมษายน 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลองและวิจารณ์	17
สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารสีที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50	8
2	เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน *D.magna* ที่กิน *Chlorella* sp. เป็นอาหาร	9
3	เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน *D. magna* ที่พบในธรรมชาติ	10
4	องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน *Scenedesmus acutus* และใน *Daphnia magna* ที่กิน *S.acutus* เป็นอาหาร	11
5	ปริมาณสารสกัดแอสต้าแซนทินในสาหร่าย *Haematococcus pluvalis* และโรติเฟอร์ที่กินสาหร่าย *H. pluvalis* (เปอร์เซ็นต์)	11
6	เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	18
7	เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	20
8	เปอร์เซ็นที่เพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	21
9	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/l) ในสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	23
10	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	23
11	น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (g/l) *Chlorella* spp. 3 ชนิด	24
12	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดง	24
13	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g) จากการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของสารแคโรทีนอยด์	2
2	ลักษณะของไรแดง (water flea)	4
3	ลักษณะทั่วไปของสาหร่าย *Chlorella* sp.	5
4	อุปกรณ์ในการทำ Pure Cuture	13
5	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	18
6	ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	20
7	น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	21
8	ปริมาณแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กินสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

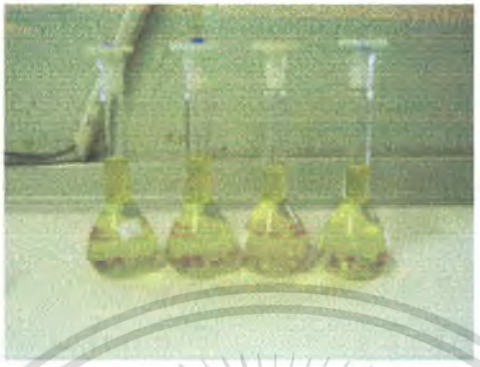
คำนำ

แคโรทีนอยด์ หรือ แคโรทีน เป็นรงควัตถุโดยปกติมีสีเหลืองจนถึงแดง สามารถหาได้จากแหล่งอาหารจำพวกผัก ผลไม้ที่มีสีส้มจนถึงส้มแดง และใน plankton ทั้งใน แพลงค์ตอนพืช ได้แก่กลุ่มสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก เช่น *Chlorella* sp. *Haematococcus* sp. *Dunaliella* sp. เป็นต้น และ zooplankton กลุ่ม *Brachionus* เช่น ไรแดง (water flea) ไรน้ำตาล (artemia) copepod เป็นต้น ซึ่ง zooplanktonเหล่านี้ได้รับคลอโรฟิลล์ เอ บี และสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก ซึ่งสารแคโรทีนอยด์และอนุพันธ์มีความสำคัญต่อสัตว์น้ำเพราะเป็นรงควัตถุพื้นฐานเกี่ยวข้องกับการมองเห็นภาพ การตอบสนองต่อแสง และ การให้สีแก่เนื้อ ผิวกับเนื้อของสัตว์น้ำแต่สัตว์น้ำไม่สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยตัวเอง แต่จะรับจากอาหารที่กินเข้า จึงได้ทำการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Chlorella* sp.และการสะสมของแคโรทีนอยด์ใน zooplankton เพราะพวกนี้เป็นอาหารมีชีวิตเหล่านี้มีคุณค่าทางอาหารสูงทำให้ปลาโตเร็วมีความสมบูรณ์ทางเพศดีเหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งใน zooplankton เรายังสามารถพบสารอนุพันธ์ของแคโรทีนอยด์ (จากการศึกษาทำให้เราทราบว่า เราควรเลือกสาหร่าย และ zooplankton มาเป็นอาหารสัตว์น้ำในระยะที่พบปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุดจึงจะทำให้สัตว์น้ำได้ประโยชน์สูงสุด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

แคโรทีนอยด์



ภาพที่1 ลักษณะของสารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ คือสารสีเหลืองและแดงที่มีอยู่มากในพืชและสัตว์ เป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับแคโรทิน (Carotin) แคโรทีนอยด์ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ.1831 จากสีแดงของหัวแครอท (Carrot) ซึ่งมีแคโรทีนอยด์ผสมอยู่ ตามที่ทราบกันดีว่าในตัวสัตว์แคโรทีนอยด์จะถูกปลี่ยนเป็นวิตามิน A ดังนี้จึงถูกเรียกว่าเป็นตัวทำให้เกิดวิตามินเอ (pro-vitamin A) โดยปกติแคโรทีนอยด์จะไม่ละลายน้ำแต่ละลายในน้ำมัน และเป็นสารที่ไม่มั่นคง คือทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ง่ายและทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เร็วขึ้นเมื่อโดนแสงหรือความร้อน เมื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนแล้วจะซีดลง และทำให้คุณสมบัติในการเร่งสีของปลาหมดไป จึงจำเป็นต้องระวังในเรื่องแสงแดดและอุณหภูมิ ของน้ำแคโรทีนอยด์มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตกว่า100ประเภท จากการค้นคว้าของอาจารย์มหาวิทยาลัยโตโฮโก (Tohoko) ได้พบว่าแฟนซีคาร์พ และปลาเงินปลาทองที่ถูกเลี้ยงอยู่ธรรมดาจะมีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์บนตัวปลา และมีแอสทาแซนธิน (Astaxanthin) (สีแดงเข้ม) 2-ดอราดีแซนธิน(2-Doradexanthin) (สีส้ม) แต่ละชนิดประมาณร้อยละ40-60 ปลาที่มีดอราดีแซนธินมากจะเป็นสีส้ม มีแอสทาแซนธินมากจะเป็นสีแดงเข้มสดดังนั้นการกระตุ้นสีคือเทคนิคการทำให้แอสทาแซนธินเพิ่มมากขึ้นเท่าที่ทำได้นั่นเอง (Choubert and Storebakken1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 4 ประเภทคือ

1. บี-แคโรทีน (ß-Carotene) การดูดซึมจากลำไส้ไม่ดีและส่วนที่ดูดซึมมาส่วนใหญ่จะเปลี่ยนเป็นวิตามินAจึงให้ความหวังไม่ได้ผลทางเร่งสี

2. แอสต้าแซนธิน (Astaxanthin) เมื่อเทียบกับ เบต้า-แคโรทีน แล้วสามารถดูดซึมได้ดีกว่า และยังแผ่ขยายบนผิวหนังของปลาอย่างเต็มที่ในรูปของแอสต้าแซนธิน (สีแดง)จึงมีผลดีในการเร่งสี

3. ลูทีน (Lutein) เมื่อเทียบกันแล้วสามารถดูดซึมได้ดีมาก แต่จะขึ้นบนผิวปลาในรูปของลูทีน (สีเหลือง) หรือ2-ดอราดีแซนธิน (สีส้ม) จะทำให้ปลากลายเป็นสีส้ม และข้อเสียที่ร้ายแรงของลูทีน คือจะขึ้นบนส่วนสีขาวของปลาที่ถึงแม้จะไม่มีเซลล์เลยก็ตามทำให้พื้นขาวกลายเป็นสีเหลืองสกปรก

4. ซีแซนธิน (Zeaxanthin)(สีเหลือง) สามารถดูดซึมและยังเปลี่ยนเป็นอะโดนิแซนธิน (สีส้ม) และเปลี่ยนเป็นแอสต้าแซนธิน (สีแดง) อย่างได้ผลดี ปลาจะถูกเร่งให้มีสีแดงสดขึ้น และหากให้มากๆยังไม่ทำให้ส่วนที่เป็นสีขาวสกปรก หรือเหลืองด้วย (Krinski.1991)

สาเหตุการเกิดของสี

สีแดงและสีเหลืองของแฟนซีคาร์พหรือปลาเงินปลาทองเป็นสีของแคโรทีนอยด์ชนิดแอสต้าแซนธิน (Astaxanthin) แคโรทีนอยด์ในตัวปลา ถ้ามีแอสต้าแซนธินมากเท่าไรปลาก็ย่อมมีสีแดงสดเข้มมากเท่านั้น แต่ปลาเองไม่สามารถสร้างแคโรทีนอยด์ได้เอง แคโรทีนอยด์มีหลายประเภทมีสีเหลืองบ้างส้มบ้าง แดงบ้างและแดงเข้ม เป็นต้น สีของปลาจะขึ้นอยู่กับประเภทและปริมาณของแคโรทีนอยด์ว่าอยู่ลึกหรือตื้นของชั้นผิวหนัง และยิ่งกว่านั้นถ้าแคโรทีนอยด์กับเมลานิน (Melanin) ซ้อนกันจะกลายเป็นสีเขียวก็มี แต่ธรรมชาติในตัวปลาไม่สามารถสร้างแคโรทีนอยด์ขึ้นได้เองจึงจำเป็นต้องให้จากภายนอกในรูปของอาหารเร่งสี (ทิพย์วรรณ, 2541)

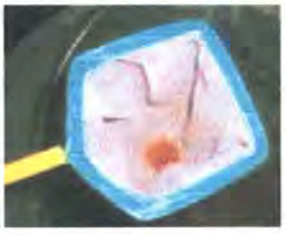
สีดำ เป็นสีจริงของเมลานิน (Melanin) ปลาสามารถสร้างเมลานินนี้ขึ้นได้เองในตัวมัน เมลานินนี้ถูกสร้างจากกรดอะมิโน (Amino) ซึ่งเรียกว่า ทีโรซิน ขึ้นภายในตัวปลามีสีเป็นสีน้ำเงินเข้มและดำ เมลานินตอนอยู่ใต้ผิวหนังลึกจะเห็นเป็นสีน้ำเงินอ่อน ทีโรซินนี้มีอยู่ในสไปรูลิน่าและในโปรตีนของวัตถุดิบทำอาหารปลาประเภทปลาป่น ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องให้อาหารเร่งสีดำเป็นพิเศษ แต่อย่างไรก็ตามถ้าระบบเอนไซม์ (Enzyme) ในตัวปลาที่เปลี่ยนทีโรซินเมลานินผิดปกติถึงแม้ในอาหารที่มีทีโรซินก็ตามจะไม่เปลี่ยนเป็นเมลานินสีปลาจะกลายเป็นสีเขียว

สีขาว เป็นส่วนที่ไม่มีแคโรทีนอยด์และเมลานินปกติอาหารเร่งสีไม่ทำให้พื้นสีขาวเปื้อนเป็นสีเหลือง

เงาวาววามของเกล็ดปลาเกิดจากการสะท้อนแสงของโมเลกุลกับกัวนิง กัวนิงนี้ปลาสามารถสร้างขึ้นได้ภายในตัวมันเองจึงไม่จำเป็นต้องใช้อาหารกระตุ้นให้เกิดเงาวาววามของปลาเพื่อไปช่วยในการสืบพันธุ์ (Hirotsu,1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทั่วไปของไรแดง



ภาพที่ 2 ลักษณะของไรแดง(water flea)

ที่มา www.doae.go.th/pest/fruit/maggo/mared.htm

ไรแดง (ภาพที่1) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจำพวกกุ้งหรือที่เรียกว่า Crustacea มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Moina macrocopa* และมีชื่อสามัญว่า Water flea เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดหนึ่งมีขนาด0.4-1.8 มม. ตัวมีสีแดงเรื่อๆถ้าอยู่รวมกันเป็นจำนวนมากจะมองเห็นไรแดงมีสีแดงเข้ม เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ลำตัวอ้วนเกือบกลมมีขนาดเฉลี่ย 1.3 มม.ส่วนเพศผู้ตัวเล็กและค่อนข้างยาวมีขนาดเฉลี่ย 0.5 มม.ตัวอ่อนที่ออกมาจากถุงไข่ใหม่ๆจะมีขนาด 0.22-0.35 มม.มีสีจางกว่าตัวเต็มวัย ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมไรแดงจะมีประชากรเพศผู้ 5 % เพศเมีย 95 % (วีระ, 2528)

ไรแดงมีการสืบพันธุ์2แบบคือ

1.การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

2.การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

คุณค่าทางโภชนาการของไรแดง

ไรแดงเป็นอาหารธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงดังนั้นการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนด้วยไรแดงจึงทำให้อัตรารอดและอัตราการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อนสูงมากไรแดงน้ำหนักแห้งระกอบด้วยโปรตีน 74.09%,คาร์โบไฮเดรต 12.50%,ไขมัน 10.19% และเถ้า 3.47% ไรแดงเป็นอาหารธรรมชาติที่ดีที่สุดสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนโดยเฉพาะสัตว์น้ำเศรษฐกิจทั้งปลาสวยงามและปลาเศรษฐกิจ เช่นปลาปอมปาดัวร์, ปลากัด, กุ้งก้ามกราม, ปลากะพง, ปลาบึก, ปลาเทพา และปลาดุกอุยเป็นต้น (วีระ และคณะ, 2528.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำไรแดงมาใช้

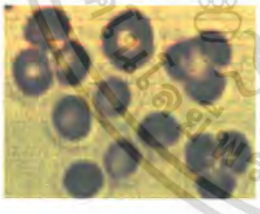
การนำไรแดงมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพไรแดงที่ได้จากบ่อผลิตจะมีเชื้อโรคที่ทำอันตรายกับสัตว์น้ำน้อยกว่าไรแดงที่ได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติแต่เพื่อความมั่นใจจึงควรล้างด้วยสารละลายด่างทับทิม 0.1 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งจะได้สารละลายสีชมพูอ่อนสารละลายนี้จะเพิ่มออกซิเจนให้กับไรแดงและน้ำด้วย เพราะด่างทับทิมเมื่อละลายน้ำจะให้ออกซิเจนในน้ำ สำหรับปริมาณไรแดงที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนให้ใช้ในปริมาณ 500-800 กรัม/ลูกปลาจำนวน 100,000 ตัว/วัน โดยแบ่งอาหารให้ 4-5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 4-6 ชม. ระวังอย่าให้มีลูกไรแดงเหลือลอยอยู่ตลอดเวลา เพราะลูกไรแดงส่วนมากจะตายหมักหมมอยู่บริเวณพื้นบ่อ

การเก็บรักษาไรแดง

1. ใช้วิธีการเก็บโดยการแช่แข็ง วิธีนี้สามารถเก็บไว้ได้นานและยังสดอยู่เสมอ ส่วนมากเป็น ไรแดงที่ตายไรแดงที่เก็บโดยวิธีนี้ไม่สามารถนำไปใช้พันธุ์ในการผลิตต่อไป

2. วิธีการเก็บในอุณหภูมิต่ำประมาณ 10 °C โดยเติมน้ำลงไป 50% จะอยู่ได้นาน 4 วันในภาชนะเปิดประมาณวันที่ 3 จะสังเกตุเห็นไข่สีขาวขุ่นหรือสีชมพู ซึ่งเป็นไข่ไรแดงชนิดที่จะต้องผสมพันธุ์กับเพศผู้ ซึ่งจะสร้างขึ้นเมื่อสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม อุณหภูมิต่ำกว่า 15°C ความเป็นกรดเป็นด่างต่ำกว่า 6 หรือสูงกว่าเป็นต้น (ภาณุ,2532.)

ลักษณะทั่วไปของสาหร่าย *Chlorella* sp.



ภาพที่ 3 ลักษณะทั่วไปของสาหร่าย *Chlorella* sp.
ที่มา www.fisheries.go.th/ci-chan

Chlorella sp. (ภาพที่2) เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียวขนาดเล็ก จัดว่าเป็นแพลงตอนพืช มีขนาด 2.5 -3.5 ไมโครเมตร มีโปรตีน 64.15 % ซึ่งสูงกว่าสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดอื่น จึงนิยมใช้เป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนต่างๆซึ่งรวมถึงไรน้ำนางฟ้าและไรแดง ซึ่งสามารถใช้อนุบาลปลาได้ดี *Chlorella* sp.เป็นแพลงค์ตอนพืชที่มีประโยชน์ในวงการประมงมากทั้งนี้เพราะเราใช้ *Chlorella* sp.เป็นอาหารเพื่อเลี้ยงแพลงค์ตอนสัตว์ชนิดอื่นเช่นไรแดงใช้อนุบาลและเลี้ยงสัตว์น้ำบางชนิดโดยตรงหรือผสมอาหารเม็ดแต่สำหรับลูกปลาวัยอ่อนโดยเฉพาะลูกปลาบึกระบบย่อยอาหารยังไม่สามารถย่อยผนังเซลล์ *Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sp. ได้ การนำ *Chlorella* sp. ไปเพาะขยายพันธุ์ในบ่อซีเมนต์เพื่อเป็นอาหารของไรแดง จากนั้นก็นำไรแดงไปอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกปลาบึก ลูกปลาดุก ลูกปลาสวยงามและสัตว์น้ำวัยอ่อนอื่นๆ เนื่องจาก *Chlorella* sp.สามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายในช่วงระยะเวลาอันสั้นอีกทั้งยังช่วยรักษาระบบนิเวศวิทยาในน้ำได้ดียิ่งขึ้น (ธิดา, 2542.)

ประโยชน์ของสาหร่าย *Chlorella* sp.

1.เป็นแหล่งโปรตีนวิตามินและเกลือแร่

2.อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระเบต้าแคโรทีนบีคอมเพล็กซ์

3.ช่วยในเสริมสร้างการเจริญเติบโตของร่างกายเพราะมี CGF (Chlorella Growth Factor)

4.เสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายต่อต้านไวรัส,มะเร็ง

5.ช่วยล้างสารพิษในร่างกาย

7.มีคลอโรฟิลล์มากกว่าสาหร่ายสไปรูน่าถึง5-10เท่า

8.ช่วยขจัดโลหะหนักออกจากร่างกายเช่นปรอท,ตะกั่ว,ดีดีที,พีซีบี,แคทเมี่ยม

9.ช่วยให้หลอดเลือดและหัวใจแข็งแรง

10.เพิ่มเอนไซม์สำหรับย่อยอาหาร

11.ปรับสมดุลของร่างกาย (กรด-ด่าง) ลดโอกาสเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง

12.ป้องกันเนื้องอกมะเร็งเต้านมเพราะอุดมไปด้วยกลุ่มวิตามินบี (B Complex) ฯลฯ

ความพิเศษของสาหร่าย *Chlorella* sp.

1.มีผนังเซลที่แข็งแรงมากไม่สามารถทำลายได้โดยง่าย(Polysaccharide)

2. *Chlorella* sp. มีCGF(Chlorella Growth Factor) ฮอร์โมนช่วยในการเจริญเติบโต

3. *Chlorella* sp. มีคลอโรฟิลล์สูงกว่าสาหร่ายทั่วไป 5-10 เท่า

4. *Chlorella* sp. อุดมไปด้วยวิตามินเกลือแร่กรดอะมิโนเอซิดที่จำเป็นสำหรับร่างกายและเอนไซม์

การเลือกบริโภคสาหร่าย *Chlorella* sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. มีหลายสายพันธุ์ด้วยกันสายพันธุ์ไพรีนอยด์โดซ่า (Pyrenoidosa) ได้รับการยอมรับว่าเป็นสายพันธุ์ที่ดีที่สุด และมีผนังเซลที่แข็งแรงมากดังนั้นจึงควรเลือก *Chlorella* sp. มีบวนการผลิตที่ทำให้ผนังเซลแตก (BrokenCell)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบริโภคต่อวัน

1.การดูแลสุขภาพทั่วไป 3-5 กรัม/วัน

2.ใช้ในโปรแกรมควบคุมอาหาร 6-10 กรัม/วัน

3.เสริมสร้างภูมิต้านทาน 11-14 กรัม/วัน

4.เพิ่มโปรตีน12-19 กรัม/วัน

6.ขจัดโลหะหนัก 20-30 กรัม/วัน

วิธีบริโภค

ควรบริโภคก่อนอาหารจะช่วยเสริมระบบย่อยอาหารให้มีประสิทธิภาพ (ลัดดา, 2543.)

ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* sp.

Sansawa and Endo (2004) ศึกษาถึงปริมาณสารสีที่ได้จากการสังเคราะห์แสงภายในเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella regularis S*-50 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร IV of Endo et al. เป็นเวลา 15 วัน ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายเริ่มต้นคือ 1.71mg/g และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ามีแคโรทีนอยด์ 5.71mg/g ปริมาณสารคลอโรฟิลล์เริ่มต้นคือ 13mg/g และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ามีคลอโรฟิลล์ 27mg/g (ตารางที่1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่1 สารสีที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *Chlorella regularis S*-50

	เริ่มต้น	สิ้นสุดการทดลอง
	(mg/g dry cell weight)	
Total carotenoid	1.71	5.71
Alpha-carotene	0.05	0.50
Beta-carotene	0.18	0.56
Lutein	0.98	3.04
Violaxanthin	0.30	0.92
Neoxanthin	0.20	0.68
Chlorophyll	13	27
Tocopherols	0.05	0.35
Ubiquinones	0.17	0.50
Phylloquinone	0.003	0.011
Riboflavin	0.047	0.051
Folic acid	0.006	0.012
Total lipid	83	122
Phospholipids	23	44
Glycolipids	17	74
Fatty acids	55	15.5

ที่มา : Sansawa and Endo (2004)

ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดง

Herring. (1967) ศึกษาถึงปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กินสาหร่าย *Chlorella pyrenoidosa* เปรียบเทียบกับไรแดงที่พบในธรรมชาติ พบว่าเมื่อนำสาหร่าย C. *Pyrenoidosa* ที่เลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มล.ด้วยอาหารของ Herring 1967 ที่ความเข้มแสง 20 วัตต์ เป็นเวลา 14 วัน เมื่อครบ 14 วันจึงนำสาหร่ายมา centrifuge ล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วค่อยนำมาให้เป็นอาหารของไรแดง พบปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน C. *Pyrenoidosa* สูงกว่าไรแดงที่พบตามธรรมชาติ (ตารางที่2)(ตารางที่3) และยังพบปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดงเพศผู้สูงกว่าเพศเมียไรแดงที่กิน C. *Pyrenoidosa* จะพบสูงที่สุดในเพศผู้ 14 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในไรแดงที่พบตามธรรมชาติพบสูงที่สุดไรแดงเพศผู้ 7 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าปริมาณสารแอสต้าแซนทินในไรแดงที่พบตามธรรมชาติสูงกว่าในไรแดงที่กิน C. *Pyrenoidosa* แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ Vassilia Partali et

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

al.(1985) ได้ศึกษาถึงปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย *Scenedesmus acutus* และใน *Daphnia magna* ที่กิน S. *acutus* เป็นอาหารโดยทำการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ใน S. *acutus* ทุกๆ 5 วัน เมื่อเลี้ยงครบ 30 วัน จึงนำไปให้ไรแดงกิน ในไรแดงจะเริ่มวิเคราะห์แคโรทีนอยด์หลังจากให้กิน S. *acutus* 1 ชั่วโมง พบปริมาณสารแคโรทีนอยด์ใน S. *acutus* 17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าใน D. *magna* ที่พบเพียง 9% น้ำหนักแห้งของแคโรทีนอยด์ใน S. *acutus* 6.9 mg/g dry wt ใน D. *magna* 0.5 mg/g dry wt ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ Dominguez et al. (2005) ได้ศึกษาถึงปริมาณสารแอสต้าแซนทินในโรติเฟอร์ที่กิน *Haematococcus pluvalis* เป็นอาหารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่กิน H. *pluvalis* เป็นเวลา 0,24,48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณสารแอสต้าแซนทินจะเพิ่มขึ้นหลังจาก 0 ชั่วโมง ซึ่งจะพบแอสต้าแซนทิน คือ 5.63±2.6เปอร์เซ็นต์, 56.85±10.5 เปอร์เซ็นต์ และ 89.27±8.42 เปอร์เซ็นต์ ที่0, 24 และ 48ชั่วโมงตามลำดับ (ตารางที่5)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน D.*magna* ที่กิน *Chlorell* sp. เป็นอาหาร

pigment	Adult female บ่อที่ 1	Adult female บ่อที่2	Adult female บ่อที่3	Adult male บ่อที่4	Adult male บ่อที่5
ß-carotene	8	7	5	8	14
Echinone	16	13	21	27	18
Cantaxanthin	20	47	29	44	10
Ketocarotenoid	32	13	11	0	38
Astaxanthin	12	9	20	18	20
Other					
Lutuein	12	1	3	1	0
Second ketocarotenoid	0	11	11	0	0
Unidentified	0	0	1	2	0

ที่มา : Herring. (1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน D. *magna* ที่พบในธรรมชาติ

pigment	Adult femaleบ่อที่ 1	Adult female บ่อที่2	Adult female บ่อที่3	Adult male บ่อที่4	Adult male บ่อที่5
ß-carotene	6	6	4	7	5
Echinone	10	10	6	11	7
Cantaxanthin	10	25	37	22	17
Ketocarotenoid	44	29	31	33	32
Astaxanthin	7	15	17	20	39
Other					
Lutuein	4	9	Trace	7	Trace
Second					
Ketocarotenoid	11	6	5	Trace	0
Violaxathin					
And/or	4	0	0	0	0
Neoxanthin					

ที่มา : Herring. (1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ใน *Scenedesmus acutus* และใน *Daphnia magna* ที่กิน S.*acutus* เป็นอาหาร

อนุพันธ์ของแคโรทีนอยด์	ปริมาณแคโรทีนอยด์(เปอร์เซ็นต์)	
	S. *acutus*	D. *magna*
ß ,ß carotene(1)	17	9
(6R)- ß ,c-carotene (2)	3	-
Crptoxanthin (3)	Trace	
(3 R,3'R,6'R)-Lutein (4)	52	22
(3R,3'R) zeaxanthin (5)	1	2
(3S,5R,6S.3'S,S'R,6'S)-Violaxanthin (6)	11	4
Loroxanthin (7)	5	3
Neoxanthin (8)	11	3
Echinenone (9)		15
CantaXanthin (10)		11
(2R)-2-Hydroxyechhinone (11)		17
(2R)-2-hydroxycanthaxanthin (12)		8
(3S,3'S)-Astaxanthin (13)		
Ma/g dry wt	6.9	

ที่มา : Vassilia Partali et al. (1985)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารสกัดแอสต้าแซนทินในสาหร่าย *Haematococcus pluvalis* และโรติเฟอร์ที่กินสาหร่าย H. *pluvalis* (เปอร์เซ็นต์)

	0 h	24h	48h
Cell/ml	150000±2.65	296666±25.93	430000±45.96
% germination	0	33.13±4.85	62.86±2.48
% extractable astaxanthin	5.63±2.60	56.85±10.50	89.27±8.42

ที่มา : Dominguez et al. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ขวดน้ำเกลือ ขนาด 1000 มล.
2. สายออกซิเจน
3. Dropper
4. แท่งแก้วคนสาร
5. ปิเปต ขนาด 1 มล., 10 มล.
6. จุกยาง
7. ฟรอยด์
8. สำลี
9. ชุด centrifuge (แก้ว)
10. กรวยแยก ขนาด 250 มล.
11. บีกเกอร์ ขนาด 100 มล.,1000 มล.,5000 มล.
12. คิวเว็ท(แก้ว)
13. กระดาษทิชชู
14. กระบอกตวง ขนาด 100 มล.,1000 มล.
15. หลอดทดลอง(ขนาดกลาง) + ฝา
16 Rack

วิธีการ

แผนการทดลอง

ทดลองแบบ CRDโดยการเลี้ยงสาหร่ายคลอเรลล่า 3 ชนิด ในขวดน้ำเกลือปริมาตร 1000 มล.(การทดลองละ 4 ซ้ำ) เป็นระยะเวลา 28 วัน โดยใช้ปุ๋ยสูตร N-8 และ เป็นเวลา 14 วัน จนได้ปริมาณเซลล์สูงสุด จากนั้นชักนำให้ผลิตแคโรทีนอยด์โดยเพิ่ม NaCl 8 กรัม/ลิตร ,โซเดียมอะซิเตท 2 กรัม/ลิตร , เฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัม/ลิตร ซึ่งจะทำการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ และคลอโรฟิลล์ทุกๆ 3 วัน นับตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง เมื่อเลี้ยงสาหร่ายครบ 28 วัน ก็นำไรแดงมาเลี้ยงในสาหร่ายที่ทำการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างไรแดงมาวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ 0, 2, 8, 12, 18, 24 , 30, 36, 42, และ48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1.ขั้นตอนการทำ Pure Cuture

ภาพที่ 4 อุปกรณ์ในการทำ Pure Cuture

1.1 เตรียม agar ด้วยปุ๋ยสูตร N-8ผสมกับวุ้น 12 กรัมต่อลิตร แล้วเทใส่ plate ทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว แล้วจึงปิดฝา

1.2 streak หัวเชื้อสาหร่ายลงบน agar ที่เตรียมไว้แล้ววางไว้ในที่ที่มีแสงเป็นเวลา 1 สัปดาห์

1.3 เขี่ยสาหร่ายที่ขึ้นจาก plate ลงใน both (อาหารเหลวสูตร N-8)

1.4 วางสาหร่ายไว้ในที่มีแสง ปั่นด้วย vortex mixer จนสาหร่ายโตจึงขยายลงในขวดน้ำเกลือ

2.ขั้นตอนการเลี้ยงสาหร่าย

2.1 เตรียมปุ๋ยสูตร N-8 ในขวดน้ำเกลือ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่ 121°c เวลา 15 นาที

2.2 ต่อหัวเชื้อสาหร่ายลงในปุ๋ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

2.3 นำขวดน้ำเกลือที่ต่อเชื้อสาหร่ายแล้วเติมออกซิเจน อุดสำลีที่ปากขวดแล้วปิดด้วยกระดาษฟรอยด์

2.4 เก็บสาหร่ายมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์ 5 มิลลิลตร ทุกๆ 3 วัน และวิเคราะห์ dry weight 5 มิลลิลิตร ทุกๆ 4 วัน

2.5 เมื่อครบ 14 วันจะเติม NaCl 8 กรัมต่อลิตร, โซเดียมอะซิเตท 2 กรัมต่อลิตร, เฟอรัสซัลเฟต 0.16 กรัมต่อลิตร

2.6 เมื่อเลี้ยงครบ 28 วันจึงนำสาหร่ายที่ได้ไปเลี้ยงไรแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.ขั้นตอนการเลี้ยงไรแดง

3.1 ก่อนที่จะนำไรแดงมาทดลองนำไรแดงมาเลี้ยงด้วยคลอเรลล่าที่เตรียมไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 นำสาหร่ายที่เลี้ยงครบ 28 วันแล้วมา centrifuge แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงในไรแดงในปริมาณ 10 กรัม (น้ำหนักเปียก) เลี้ยงไรแดง 5 กรัม (น้ำหนักเปียก)

3.3 เก็บตัวอย่างไรแดงมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ ที่เวลา 0, 2, 8, 12,18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง

4. ขั้นตอนการทำ dry weight

4.1 นำกระทงฟรอยด์เข้าตู้อบที่ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.2 นำกระทงที่อบเรียบร้อยแล้วทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นครึ่งชั่วโมงแล้วนำกระทงออกมาชั่งน้ำหนัก

4.3 เก็บตัวอย่างสาหร่ายครั้งละ 5 มิลลิลิตรนำไป centrifuge ที่ 3000 รอบต่อนาที 10นาที รินปุ๋ยออกเทสาหร่ายด้านล่างใส่กระทงที่อบเตรียมไว้

4.4 นำสาหร่ายอบที่105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำสาหร่ายออกมาชั่งน้ำหนักหาน้ำหนักแห้งโดย

น้ำหนักแห้ง = (น้ำหนักสาหร่าย+กระทง) - น้ำหนักกระทง

5. ขั้นตอนการสกัดแคโรทีนอยด์และคลอฟิลล์

5.1 นำตัวอย่างสาหร่ายสด 5 มิลลิลิตร นำไป centrifuge ที่ 3000 รอบต่อนาที 10นาที

5.2 รินปุ๋ยออกแล้วเติมน้ำกลั่น (โดยประมาณ) นำกลับไป centrifuge แบบเดิมอีกครั้ง (ล้างน้ำกลั่นทั้งหมด 2 ครั้ง)

5.3 เติม 5%KOH +30%methanol 5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วย vortex mixer จนข้ากัน

5.4 แช่ใน water bath ที่ 70 องศาเซลเซียส 10 นาที

5.5 นำไป centrifuge แบบเดิมอีก 10 นาที แล้วเทสารสีเขียว (คลอโรฟิลล์) ที่อยู่ด้านบนออก

5.6 ใส่เม็ด glass bead ประมาณ10 เม็ดลงในหลอดทดลอง

5.7 เติม acetone 90% ครั้งละ 2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบน vortex mixer ตีให้เซลล์แตกแล้วถ่ายสารสีเหลืองที่ได้ออกมาใส่อีกหลอดทดลอง

5.8 นำสารสีเหลืองที่ได้ไปวัดกับ spectrophotometer ที่ 480 nm ส่วนสารสีเขียววัดที่ 630 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.ขั้นตอนการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากไรแดง

6.1 ชั่งน้ำหนักไรแดง

6.2 นำไรแดงเติม acetone 4 มิลลิลิตร และ methanol 2 มิลลิลิตร

6.3 นำไปเข้าเครื่อง sonicate 1 นาที

6.4 centrifuge ที่ 3000 รอบต่อนาที 10นาที

6.3 เทสารสีเหลืองด้วนบนไปวัดกับ spectrophotometer ที่ 480 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกน้ำหนักของสาหร่ายที่เก็บมาวิเคราะห์ทุก 3 วัน

2. บันทึกปริมาณสาร acetone 90% ที่ใช้ในการวิเคราะแต่ละครั้ง

3. บันทึกค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ระดับความเข้มแสง480 (แคโรทีนอยด์) 630(คลอโรฟิลล์) แล้วนำมาคำนวณหาค่าปริมาณสารคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ โดยคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{carotenoid(mg/ml)} = \frac{\text{absorbance x ปริมาตร acetone x } 10^3}{2500 \text{ x } 100 \text{ x ปริมาตรของสาหร่ายที่เก็บมาวิเคราะห์}}$$

$$\text{Chlorophyll(mg/l)} = \text{absorbance x } 13.9$$

4. บันทึกน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทุกๆ 3 วัน

5.บันทึกน้ำหนัก(เปียก)ของไรแดง แล้วนำมาคำนวณหาค่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดง โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

$$\text{carotenoid(mg/ml)} = \frac{\text{absorbance x ปริมาตร acetone x } 10^3}{2500 \text{ x } 100 \text{ x น้ำหนัก(เปียก)ของไรแดง}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ น้ำหนักแห้งของสาหร่าย และปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดงแต่ละชุดการทดลองแบบ One-Way ANOVA โดยใช้โปรแกรม spss 11.0

สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองที่ห้อง D130 ตึกเจ้าคุณทหารฯ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ระยะเวลาในการทดลอง

ทำการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2550 ถึงวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2551

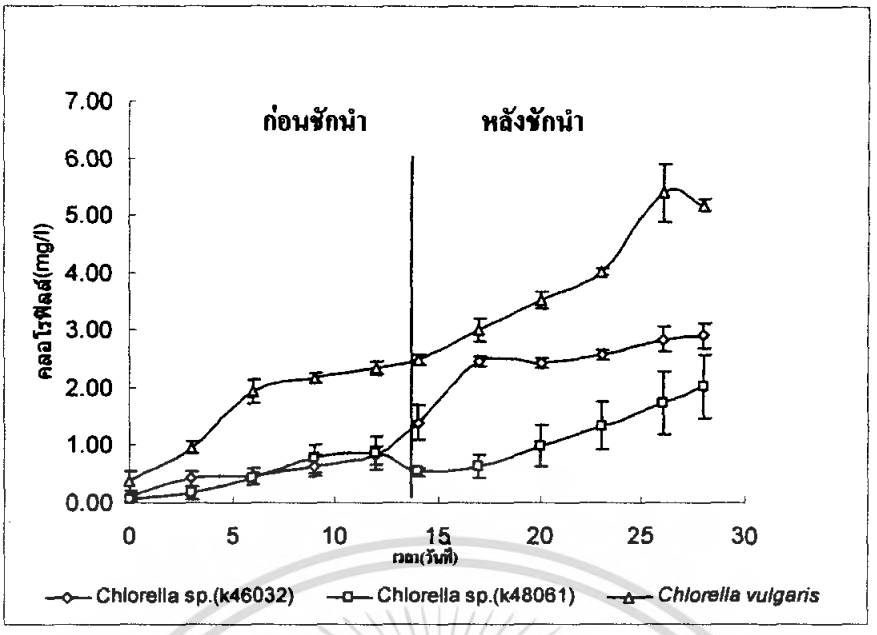
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปริมาณคลอโรฟิลล์ใน *Chlorella* spp.

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร N-8 โดยสาหร่าย *Chlorella parasitica* (P48061) เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 5.8, สาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032) เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 7.8 และสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เลี้ยงในอาหารที่ระดับ pH 6.8 เป็นเวลา 28 วัน และชักนำให้ผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มโซเดียมคลอไรด์ 8 กรัมต่อลิตร, โซเดียมอะซิเตท 2 กรัมต่อลิตร และเฟอรัสซัลเฟส 0.16 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 14 ของการเลี้ยง และเก็บตัวอย่างสาหร่ายมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ และน้ำหนักแห้งทุกๆ 3 วัน (เริ่มตั้งแต่วันที่ 0) แล้วเลี้ยงสาหร่ายอีก 14 วัน พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เริ่มต้นของสาหร่าย *Chlorella parasitica.* (P48061), *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella vulgaris* คือ 0.0521±0.0343 มิลลิกรัมต่อลิตร, 0.1216±0.0120 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.3753±0.1774 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) โดยที่ปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 3 ของการทดลอง (ภาพที่ 5) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (P48061), *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella vulgaris* คือ 2.0294±0.5524 มิลลิกรัมต่อลิตร (วันที่28), 2.9086±0.2235 มิลลิกรัมต่อลิตร (วันที่ 28) และ 5.3967±0.5074 มิลลิกรัมต่อลิตร (วันที่ 26) ตามลำดับ (ตารางที่ 9) โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* สูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับ *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella parasita* (P48061) เปอร์เซ็นที่เพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ก่อนทำการชักนำการสร้างแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* คือ 22.63±5.34 เปอร์เซ็นต์, 5.68±1.32 เปอร์เซ็นต์ และ 35.59±8.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่6) และเมื่อชักนำให้มีการสร้างสารแคโรทีนอยด์ พบว่าเปอร์เซ็นการเพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032) กับ *Chlorella vulgaris* ลดลงอย่างชัดเจน แต่ในสาหร่าย *Chlorella* parasitica (P48061) เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ตารางที่ 6) จากการทดลองของ Sansawa and Endo (2004) ได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50 ด้วยอาหารสูตร IV of Endo et.al. ที่ระดับ pH 6.5 เป็นเวลา 15 วัน โดยใช้ glucose ชักนำการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ระดับ 1.5 g/l(ใส่ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง) เมื่อจบการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50 100 g มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 3.6 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
104548



ภาพที่ 5 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

สาหร่าย	วันที่ 0-14	วันที่ 14-28	วันที่ 0-28
Chlorella parasitica.(k46032)	22.63±5.34 [b]	14.11±6.64 [a]	36.74±3.74 [a]
Chlorella parasitica.(P48061)	5.68±1.32 [a]	13.59±5.78 [a]	19.27±5.78 [a]
Chlorella vulgaris	35.59±8.84 [b]	20.58±2.68 [a]	56.17±21.03 [a]

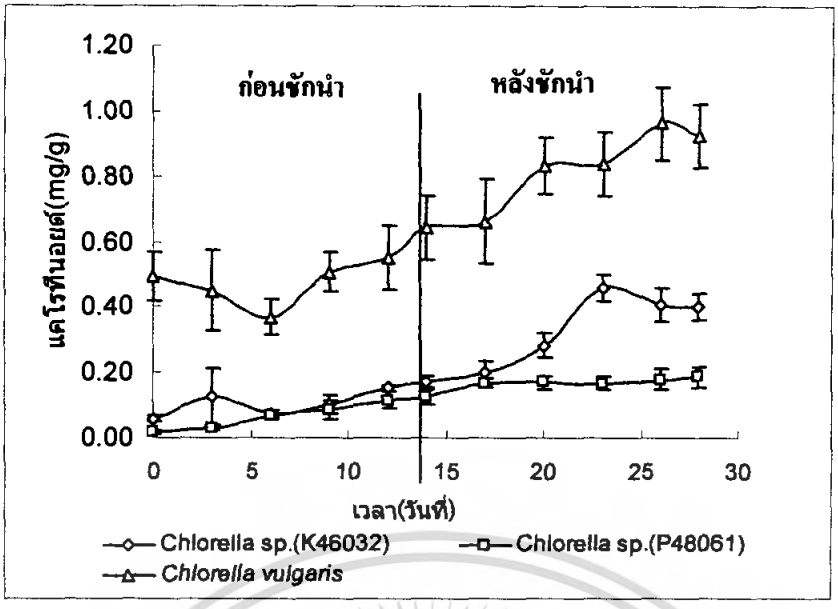
ปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella* spp.

ปริมาณแคโรทีนอยด์เริ่มในสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* คือ 0.0169±0.0049 มิลลิกรัมต่อกรัม, 0.0586±0.0086 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 0.4921±0.0742 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 10) โดยปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 3 ที่ทำการทดลองในสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032) กับ *Chlorella parasitica* (P48061) แต่ในสาหร่าย *Chlorella vulgaris* จะลดลงในวันที่ 3-6 แล้วค่อยเพิ่มขึ้นในวันที่ 9 ของการทดลอง และจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนทำการทดลองครบ 28 วัน ของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด (ภาพที่ 6) ก่อนที่จะชักนำให้ผลิตแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ คือ 11.29±1.71 เปอร์เซ็นต์, 10.98±1.85 เปอร์เซ็นต์ และ 15.16±10.25 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อชักนำให้สร้างแคโรทีนอยด์เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ของ *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella vulgaris* เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนแต่ *Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

parasitica (P48061) กลับลดลง (ตารางที่ 7) เมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดของสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* คือ 0.1882±0.0311มิลลิกรัมต่อกรัม, 0.4024±0.0382มิลลิกรัมต่อกรัม และ 0.9230±0.0964มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่10) และได้แคโรทีนอยด์จากการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* 1 ลิตร คือ 2.8550 มิลลิกรัมต่อลิตร, 1.8509 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 6.7241 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 13) จากการทดลองของ M.R.Fazeli et al. (2006)ในการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Dunaliella tertiolecta* ในอาหารสูตร Artificial seawater ที่ระดับ pH 7.5 โดยใช้ NaCl ชักนำการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ระดับ 0.05 - 3 M แล้วนำสาหร่ายมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ในวันที่ 8 (ระยะ exponential) พบว่าที่ความเข้มข้นของ NaCl 0.1 และ 0.5M ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 2.81±0.22 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 2.45±0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ และ น้ำหนักแห้งแคโรทีนอยด์ที่ความเข้มข้นของ NaCl 0.1 และ 0.5M คือ 0.52±0.004 พิโคกรัมต่อเซลล์ และ0.44±0.04 พิโคกรัมต่อเซลล์ ตามลำดับ Sansawa and Endo (2004) ได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella regularis* S-50 ด้วยอาหารสูตรของ IV of Endo et.al. ที่ระดับ pH 6.5 เป็นเวลา 15 วัน โดยใช้ glucose ชักนำการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ระดับ 1.5 กรัมต่อลิตร (ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง) เมื่อจบการทดลองพบว่า สาหร่าย 100 กรัม มีแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 0.72 กรัม และจากการทดลองของ Rao et al. ในการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Botryococcus braunii* ด้วยอาหารสูตร modified Chu 13 ที่ระดับ pH 8 โดยใช้ NaCl 34 และ 85 mM ชักนำการผลิตสารแคโรทีนอยด์ พบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นจากวันที่เริ่มต้นเร่งอย่างชัดเจนและเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนจบการทดลอง เปอร์เซ็นการเพิ่มขึ้นของสารแคโรทีนอยด์ที่ความเข้มข้นของ NaC l 34 และ 85 mM คือ 25.62±0.96 เปอร์เซนต์ และ 33.76±1.31 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

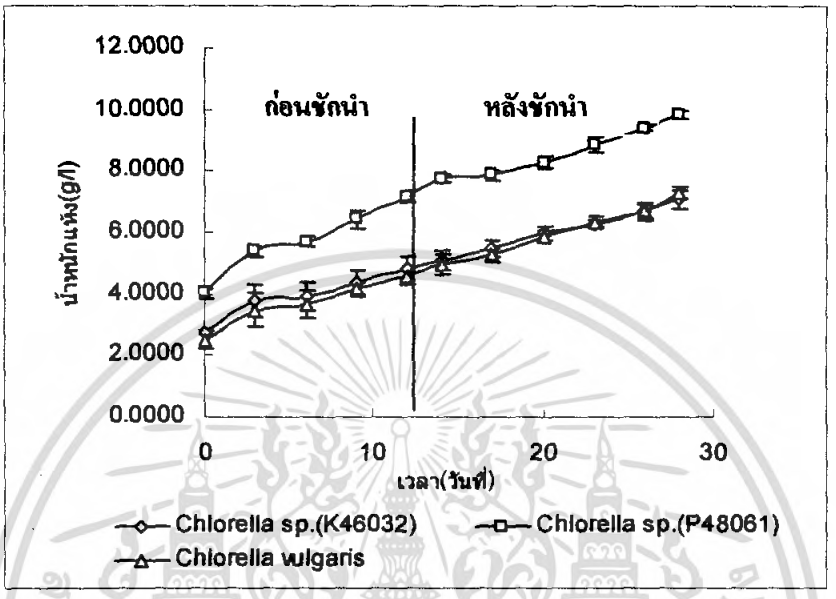
สาหร่าย	วันที่ 0-14	วันที่ 14-28	วันที่ 0-28
Chlorella parasitica (k46032)	11.29±1.71[a]	23.09±5.29[b]	34.38±3.59[a]
Chlorella parasitica (P48061)	10.98±1.85[a]	6.15±1.14[a]	17.13±2.66[a]
Chlorella vulgaris	15.16±10.25[a]	27.94±8.74[b]	43.10±15.30[a]

น้ำหนักแห้ง

น้ำหนักแห้งเริ่มต้นของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 **ชนิด ได้แก่** *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) **และ** *Chlorella vulgaris* **คือ** 4.0200±0.1850 **กรัมต่อลิตร,** 2.7200±0.0686 **กรัมต่อลิตร และ** 2.5000±0.2923 **กรัมต่อลิตร ตามลำดับ** (ตารางที่11) **โดยที่ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในทุกๆวัน และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าน้ำหนักแห้งสูงสุดของสาหร่าย** *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) **และ** *Chlorella vulgaris* **คือ** 9.8350±0.1190 **กรัมต่อลิตร,** 7.0950±0.2810 **กรัมต่อลิตร และ** 7.2850±0.2014 **กรัมต่อลิตร ตามลำดับ** (ตารางที่ 11)(**ภาพที่** 7) **น้ำหนักแห้งของสาหร่ายจะสูงที่สุดในวันที่** 28 **ของการทดลองในสาหร่ายทั้ง** 3 **ชนิด ซึ่งสาหร่าย** *Chlorella parasitica* (P48061) **มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ** ($P<0.05$) **กับ** *Chlorella parasitica* (K46032) **และ** *Chlorella vulgaris* **เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย** *Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

parasitica (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* ก่อนมีการชักนำให้สร้างสารแคโรทีนอยด์ คือ 23.60±3.40 เปอร์เซ็นต์, 37.30±2.28 เปอร์เซ็นต์ และ 24.50±1.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 8) และเมื่อมีการชักนำให้มีการสร้างแคโรทีนอยด์ พบว่าเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดกลับลดลง (ตารางที่ 8)



ภาพที่ 7 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

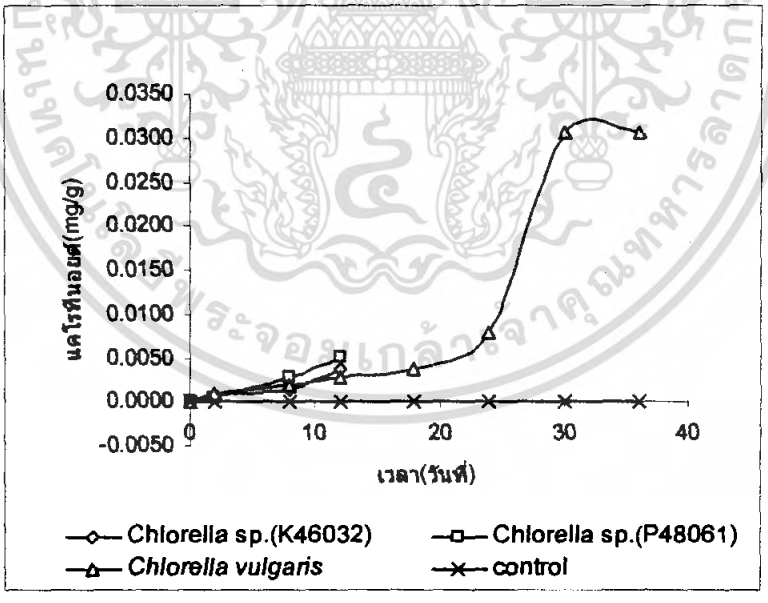
ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นที่เพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

สาหร่าย	วันที่ 0-14	วันที่ 14-28	วันที่ 0-28
Chlorella parasitica (k46032)	23.60±3.40 [a]	20.15±2.43 [a]	43.75±2.35 [a]
Chlorella parasitica (P48061)	37.30±2.28 [b]	20.85±1.82 [a]	58.15±2.31 [b]
Chlorella vulgaris	24.50±1.08 [a]	23.35±2.51 [a]	47.85±2.15 [a]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแคโรทีนอยด์จากไรแดง

เมื่อเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* ครบ 28 วัน ก็จะนำสาหร่าย 10 g(น้ำหนักเปียก) ไปเลี้ยงไรแดง 5g(น้ำหนักเปียก) โดยในชุดควบคุมจะไม่มีการเพิ่มสาหร่ายให้แก่ไรแดง แล้วเก็บตัวอย่างไรแดงมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่ 0, 2, 8, 12, 18, 24, 30 และ36 ชั่วโมง พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์เริ่มต้นในไรแดงที่กินสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* คือ 0.00007±.0001มิลลิกรัมต่อกรัม, 0.00005±0.0000 มิลลิกรัมต่อกรัม และ0.00001±0.0000มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดของไรแดงจะพบในการทดลองที่ใช้เวลาสูงที่สุดในการเลี้ยงของสาหร่ายแต่ละชนิด คือ 0.0004±0.0000 มิลลิกรัมต่อกรัม (12 ชั่วโมง), 0.0005±0.0001 มิลลิกรัมต่อกรัม (12 ชั่วโมง) และ0.0306±0.0151 มิลลิกรัมต่อกรัม (36 ชั่วโมง) ในสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* ตามลำดับ (ภาพที่ 8, ตารางที่12) สอดคล้องกับการทดลองของ Dominguez et al. (2005) ในการทดลองเลี้ยงโรติเฟอร์ด้วยสาหร่าย *Haematococcus pluvialis* แล้วนำมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ที่ 0, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ไรแดงจะเพิ่มสูงขึ้นจาก 0 ชั่วโมงอย่างมาก และที่ 48 ชั่วโมง มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 8 ปริมาณแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กินสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (mg/l) ในสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

สาหร่าย	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20	วันที่ 23	วันที่ 26	วันที่ 28
Chlorella parasitica(k46032)	0.0521±0.0343^{a}	0.1703±0.1176^{a}	0.4205±0.0955^{a}	0.7784±0.2474^{a}	0.8757±0.2870^{a}	0.5421±0.0773^{a}	0.6325±0.1994^{a}	0.9904±0.3601^{a}	1.3414±0.4219^{a}	1.7306±0.5495^{a}	2.0294±0.5524^{a}
Chlorella parasitica(k48061)	0.1216±0.0120^{a,b}	0.4240±0.1275^{a}	0.4587±0.1440^{a}	0.6429±0.1923^{a}	0.8340±0.1546^{a}	1.3970±0.3096^{b}	2.4673±0.0833^{b}	2.4325±0.0965^{b}	2.5715±0.0821^{b}	2.8426±0.2126^{a}	2.9086±0.2235^{a}
Chlorella vulgaris	0.3753±0.1774^{b}	0.9661±0.1016^{b}	1.9356±0.2016^{b}	2.1788±0.0850^{b}	2.3422±0.1237^{b}	2.4846±0.0928^{c}	3.0094±0.2077^{c}	3.5167±0.1440^{c}	4.0171±0.0586^{c}	5.3967±0.5074^{b}	5.1647±0.0987^{b}

ตารางที่ 10 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g) ของสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด

สาหร่าย	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20	วันที่ 23	วันที่ 26	วันที่ 28
Chlorella parasitica(k46032)	0.0586±0.0086^{a}	0.1270±0.0844^{a}	0.0751±0.0107^{a}	0.1031±0.0270^{a}	0.1524±0.0071^{a}	0.1715±0.0169^{a}	0.2031±0.0346^{a}	0.2828±0.0386^{a}	0.4589±0.0399^{a}	0.4074±0.0505^{a}	0.4024±0.0382^{a}
Chlorella parasitica(k48061)	0.0169±0.0049^{a}	0.0310±0.0069^{a}	0.0706±0.0143^{a}	0.0871±0.0268^{a}	0.1157±0.0250^{a}	0.1267±0.0224^{a}	0.1684±0.0137^{a}	0.1708±0.0190^{a}	0.1679±0.0208^{a}	0.1799±0.0317^{a}	0.1882±0.0311^{a}
Chlorella valgaris	0.4921±0.0742^{b}	0.4493±0.1244^{b}	0.3699±0.0542^{b}	0.5063±0.0596^{b}	0.5515±0.0968^{b}	0.6436±0.0959^{b}	0.6621±0.1290^{b}	0.8323±0.0858^{b}	0.8378±0.0995^{b}	0.9635±0.1128^{b}	0.9230±0.0964^{b}

ตารางที่ 11 น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (g/l) *Chlorella* spp. 3 ชนิด

สาหร่าย	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 14	วันที่ 17	วันที่ 20	วันที่ 23	วันที่ 26	วันที่ 28
Chlorella parasitica(k46032)	2.7200±0.0686[a]	3.7600±0.5243[a]	3.9150±0.4824[a]	4.3500±0.4142[a]	4.8150±0.3980[a]	5.0800±0.3460[a]	5.4650±0.2672	5.9700±0.2365[a]	6.2600±0.1482[a]	6.6900±0.2667[a]	7.0950±0.2810[a]
Chlorella parasitica(k48061)	4.0200±0.1850[b]	5.3950±0.1706[b]	5.7050±0.1656[b]	6.4400±0.2914[b]	7.1800±0.2127[b]	7.7500±0.1453[b]	7.8650±0.1406[b]	8.2900±0.1943[b]	8.8700±0.2761[b]	9.4200±0.1020[b]	9.8350±0.1190[b]
Chlorella valgaris	2.5000±0.2923[a]	3.4650±0.5619[a]	3.6700±0.4585[a]	4.1500±0.1915[a]	4.5600±0.2692[a]	4.9500±0.3203[a]	5.2650±0.2348[a]	5.9000±0.1694[a]	6.3550±0.1865[a]	6.6950±0.2277[a]	7.2850±0.2014[a]

ตารางที่ 12 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในไรแดง

สาหร่าย	0 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	18 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	30 ชั่วโมง	36 ชั่วโมง
Chlorella parasitica(k46032)	0.00007±0.0001[a]	0.0001±0.0000[a]	0.0001±0.0000[a]	0.0004±0.0000[a]				
Chlorella parasitica(k48061)	0.00005±0.0000[a]	0.0001±0.0000[a]	0.0003±0.0000[b]	0.0005±0.0001[b]				
Chlorella valgaris	0.00001±0.0000[a]	0.0009±0.0001[a]	0.0018±0.0006[a b]	0.0027±0.0003[a]	0.0038±0.0005[a]	0.0080±0.0009[a]	0.0306±0.0166[a]	0.0306±0.015 1[a]

ตารางที่ 13 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (mg/g) จากการเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 **ชนิด (โดยเทียบจากปริมาณแคโรทีนอยด์สุดท้ายที่ได้จากการทดลองกับน้ำหนักแห้งของสาหร่าย)**

สาหร่าย	แคโรทีนอยด์ในสาหร่าย mg/g	น้ำหนักแห้งของสาหร่าย g/l	น้ำหนักแห้งของแคโรทีนอยด์ mg/l
Chlorella parasitica (K46032)	0.4024	7.0950	2.8550
Chlorella parasitica (P48061)	0.1882	9.8350	1.8509
Chlorella vulgaris	0.9230	7.2850	6.7241

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการทดลองเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* spp. 3 ชนิด ได้แก่ *Chlorella parasitica* (K46032), *Chlorella parasitica* (P48061) และ *Chlorella vulgaris* เพื่อวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ พบว่า *Chlorella vulgaris* มีปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 5.3967±0.5074 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.9230±0.0964มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella parasitica* (P48061) น้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella* parasitica (P48061) มีค่าสูงสุด คือ 9.8350±0.1190 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับสาหร่าย *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella vulgaris* เมื่อชักนำให้มีการสร้างแคโรทีนอยด์ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ใน *Chlorella vulgaris* เพิ่มขึ้นสูงสุดรองลงมา คือ *Chlorella parasitica* (K46032) และ *Chlorella parasitica* (P48061) ตามลำดับ เมื่อนำสาหร่ายที่เลี้ยงครบ 28 วันไปเลี้ยงไรแดงแล้วนำไรแดงมาวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในไรแดงที่กิน *Chlorella vulgaris* มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 0.0027±0.0003 มิลลิกรัมต่อกรัม (12 h) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสาหร่าย *Chlorella* parasitica (K46032) และที่ระยะเวลาที่นานที่สุดที่ทำการทดลอง (36 h) พบว่ามีปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 0.0306±0.0151 มิลลิกรัมต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วรรณ ปริพัฒนานนท์.2541.Effect of astaxanthin on pigmentation of goldfish. รายงานผลงานวิจัยเสนอต่อมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ประจำปี 2541. 16 หน้า.

ธิดารัตน์ เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน.สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. จังหวัดสงขลา. 49 หน้า

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล. 2532.การเพาะเลี้ยงไรแดง.เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 9. สถานีประมงน้ำจืด. จังหวัดปทุมธานี. กรมประมง. 14 หน้า. [online]. Available: http:// www.nicaonline.com/new-68.htm

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 127 หน้า. [online]. Available: http:// www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/phyllo-outdoor/green-page.htm

วีระ วัชรากร. 2528. การเพาะเลี้ยงไรแดง. รายงานประจำปี 2528. สถานีพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลา. จังหวัดปทุมธานี. หน้า 51-69. [online]. Available: http:// www.udomratfarm.com/raidang.html

Choubert, G.and Storebakken, T. 1989. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. Aquaculture, 81:69-77.

Dominguez,A.,M.Ferreira,P.Coutinho,J.fabregas and A.Otero. 2005. delivery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* to the aquaculture food chain. Aquarcuture.250:424-430

Herring,P.J.1967. The carotenoid pigments of *Daphnia magna* straus-I. the pigments of animals fed *Chlorella pyrenoidosa* and pure carotenoids. Biochem.Physiol., vol 24:187-203

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Herring,P.J.1967. The carotenoid pigments of *Daphnia magna* straus-II. Aspects of pigmentary metabolism. Biochem.Physiol., vol 24:205-221

Krinski, N. I. 1991. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. American Journal of Clinical Nutrition, 53:238-246

Paanakker,J.E. and G.M.Hallegraef,.1977. A comparative study on the carotenoid pifmentation of the zooplankton of lake maarsseveen (Neterland) and of Lac Pavin (Auvergne, France) –I Chlomatogragphic characterization of carotenoid pigments. Biochem.Physiol., vol.60B:51-58

Partali,V.,O.Yngvar,F.per, and L.J.Synnove.1985. Carotenoids in food chain studies-I. Zooplankton (*Daphnia magna*) response to a unigal (*Scenedesmus Acutus*) carotenoid diet, to spinach, and to yest diets supplemented with individual carotenoids. Biochem.Physiol., vol.82B:767-772

Rao,A.R.,C.Dayananda,R.sarada,T.R.Shamala and G.A.ravishankar. 2007. Effect of salinity on growth of green alga Botryococus braunii and its constituents.bioresource technology.98:560-564

Sansawa,H and H,Endo. 2004. Production of intracellular phytochemicals in *Chlorella* under heterotrophic condition. Bioscience and bioengineering. vol 98, No.6:437-444

Hirotsu,T.1967. Can fish change colour ?. [online]. Available:
http:// www.thaianimal.ricod.com/fish/fishpage/fishcolour.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้